

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 973 355**

51 Int. Cl.:

A61P 5/00 (2006.01)

C07D 281/10 (2006.01)

A61K 31/554 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2020** **PCT/EP2020/084570**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.06.2021** **WO21110886**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2020** **E 20821143 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2024** **EP 4069361**

54 Título: **Compuestos de benzotia(di)azepina y su uso como moduladores del ácido biliar**

30 Prioridad:

04.12.2019 IN 201911049984

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

19.06.2024

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

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

74 Agente/Representante:

MENDIGUTÍA GÓMEZ, María Manuela

Observaciones:

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

ES 2 973 355 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 benzotia(di)azepina y su uso como moduladores del ácido biliar

Campo técnico

La invención se refiere a ciertos derivados de 1,5-benzotiazepina 1,2,5-benzotiadiazepina como se definen en el presente documento. Estos compuestos son moduladores de ácidos biliares que tienen actividad inhibidora del transportador de ácidos biliares dependiente del sodio apical (ASBT) y/o del transporte de ácidos biliares hepáticos (LBAT). La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y a estos compuestos para uso en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, hipercolesterolemia, diabetes, enfermedades gastrointestinales y enfermedades del hígado.

Antecedentes

Los ácidos biliares son detergentes fisiológicos que desempeñan una función importante en la absorción intestinal y el transporte de lípidos, nutrientes y vitaminas. También son moléculas de señalización que activan los receptores nucleares y las rutas de señalización celular que regulan el metabolismo de los lípidos, glucosa y energía. Los ácidos biliares son ácidos esteroides 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 de esta manera los ácidos biliares en el intestino delgado, donde permiten la absorción de vitaminas liposolubles y colesterol. Cuando llegan al íleon, los ácidos biliares se reabsorben del intestino y se secretan en la sangre portal para regresar al hígado a través de la circulación venosa portal. De este modo, más del 90 % de los ácidos biliares se reciclan y se devuelven 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 esta primera pasada, el 75-90 % de los ácidos biliares son absorbidos por los hepatocitos, completando una ronda de circulación enterohepática. La fracción de ácidos biliares que escapa a ser depurada en el hígado entra en la circulación sistémica donde los ácidos biliares libres se filtran por el glomérulo renal, recuperados eficientemente en los túbulos proximales y exportados de nuevo a la circulación sistémica. Curiosamente, la mayoría de los ácidos biliares secretados a través de la membrana canalicular en la bilis se derivan de la reserva de recirculación y menos del 10 % proviene de la 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 de los esteroides. Los ácidos biliares que escapan a la absorción intestinal se excretan posteriormente en las heces.

En general, el sistema de transporte eficiente ayuda a mantener una acumulación 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 del intestino delgado. El sistema también minimiza la pérdida de ácidos biliares fecales y urinarios y protege los compartimentos intestinal y hepatobiliar al eliminar detergentes potencialmente citotóxicos (según lo revisado por Kusters y Karpen (Xenobiotica 2008, vol. 38, p. 1043-1071); por Chiang (J. Lipid Res. 2009, vol. 50, p. 1955-1966); y por Dawson (Handb. Exp. Pharmacol. 2011, vol. 201, p. 169-203)).

Se ha descubierto que la regulación del tamaño de la reserva de ácidos biliares desempeña una función clave en la homeostasis del colesterol mediante la conversión hepática de colesterol en ácido biliar, que representa una ruta importante para la eliminación del colesterol del cuerpo. El hígado desempeña una función esencial en el retiro 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 organismo, manteniendo de esta manera la homeostasis lipídica y de ácidos biliares. (Kusters and Karpen, Xenobiotica 2008, vol. 38, p. 1043-1071).

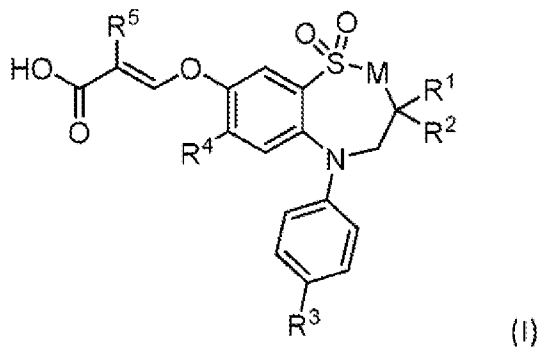
La reabsorción de ácidos biliares en el íleon se puede inhibir por compuestos inhibidores del transportador de ácidos biliares dependientes de sodio apical (ASBT). Se ha informado que la inhibición de la reabsorción de ácidos biliares es útil en el tratamiento de varias enfermedades, que incluyen dislipidemia, diabetes, obesidad, estreñimiento, enfermedades hepáticas colestásicas, esteatohepatitis no alcohólica y otras enfermedades hepáticas. En las últimas décadas se ha divulgado una serie de inhibidores de la ASBT, 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 03/022825, 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, WO 2019/234077, WO 2020/161216, WO 2020/161217, DE 19825804, EP 864582, EP 489423, EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205, EP 1535913 y EP 3210977.

A pesar del número de compuestos inhibidores de ASBT que se han reportado previamente, subsiste la necesidad de compuestos moduladores de ácidos biliares adicionales que tienen un perfil optimizado con respecto a la potencia, selectividad y biodisponibilidad.

Descripción detallada de la invención

Se ha descubierto que ciertos derivados de benzotiazepinas y benzotiadiazepinas Son potentes inhibidores del transportador apical de ácidos biliares dependientes de sodio (ASBT) y/o del transportador de ácidos biliares hepáticos (LBAT), y pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedades en las que es deseable la inhibición de la circulación de ácidos biliares.

Por lo tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I),



en la que M, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son como se indica en la Tabla 1 a continuación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Tabla 1

M	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	F
CH ₂	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₂	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	F

M	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	Cl	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	Cl	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	Cl	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	F

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

Ácido (Z)-3-((3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

5 Ácido (Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (S)-(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

10 Ácido (R)-(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (S)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (R)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

5 Ácido (S)-(E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (R)-(E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (E)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

10 Ácido (Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,5-tiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (S)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (R)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

15 Ácido (E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (S)-(E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico;

20 Ácido (R)-(E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (E)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico; y

Ácido (Z)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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

30 Como se utiliza en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a un valor o parámetro en el presente documento que incluye (y describe) realizaciones que se dirigen 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 están dentro del error experimental del valor indicado (por ejemplo, dentro del intervalo de confianza del 95 % para la media) o dentro del 10 por ciento del valor indicado, lo que sea mayor.

35 Los compuestos 1,5-benzotiazepina y 1,2,5-benzotiadiazepinas de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, 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 ambos transportadores de ácidos biliares dependientes de sodio apicales y de ácidos biliares hepáticos (inhibidores de ASBT/LBAT duales). 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 las enfermedades cardiovasculares, trastornos del metabolismo de los ácidos grasos y utilización de la glucosa, enfermedades gastrointestinales y enfermedades hepáticas.

45 Las enfermedades cardiovasculares y trastornos del metabolismo de los ácidos grasos y la utilización de la glucosa incluyen, pero no se limitan a, la hipercolesterolemia; trastornos del metabolismo de los ácidos grasos; diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2; complicaciones de la diabetes, que incluyen cataratas, enfermedades micro y macrovasculares, retinopatía, neuropatía, nefropatía y retraso en la cicatrización de heridas, isquemia del tejido, pie diabético, arteriosclerosis, infarto de miocardio, síndrome coronario agudo, angina de pecho inestable, angina de pecho estable, apoplejía, 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, que incluye hipertrigliceridemia, síndrome metabólico (síndrome X), aterosclerosis e hipertensión; y para aumentar los niveles de lipoproteínas de alta densidad.

Las enfermedades y trastornos gastrointestinales incluyen estreñimiento (que incluyen estreñimiento crónico, estreñimiento funcional, estreñimiento idiopático crónico (CIC), estreñimiento intermitente/espórádico, estreñimiento secundario a diabetes mellitus, estreñimiento secundario a apoplejía, 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 medicamentos, síndrome del intestino irritable con estreñimiento (IBS-C), síndrome del intestino irritable mixto (IBS-M), estreñimiento funcional pediátrico y estreñimiento inducido por opioides); enfermedad de Crohn; malabsorción primaria de ácidos biliares; síndrome del intestino irritable (IBS); enfermedad inflamatoria intestinal (IBD); inflamación ileal; y la enfermedad por reflujo y complicaciones de los mismos, tales como el esófago de Barrett, esofagitis por reflujo biliar y gastritis por reflujo biliar.

Una enfermedad hepática, como se define en el presente documento, es cualquier enfermedad en el hígado y en los órganos relacionados con él, tales como el páncreas, vena porta, parénquima hepático, árbol biliar intrahepático, árbol biliar extrahepático y 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 los conductos biliares; atresia biliar; atresia biliar posterior a Kasai; atresia biliar posterior a 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 derivación biliar y PFIC posterior al trasplante hepático; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC) que incluye BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificado, BRIC posterior a derivación biliar y BRIC posterior a trasplante hepático; hepatitis autoinmunitaria; cirrosis biliar primaria (PBC); fibrosis hepática; enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (NASH); 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 fosfolípidos bajos; síndrome de colestasis por linfedema 1 (LCS1); 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; neoplasia maligna de las rutas biliares; neoplasia maligna que causa obstrucción del árbol biliar; estenosis biliar; Colangiopatía por SIDA; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmunitaria 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 (defecto BAS tipo 1); lesión hepática inducida por fármacos (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCH); colangitis esclerosante por ictiosis neonatal (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática en la edad adulta (IAD); hepatitis idiopática neonatal (INH); escasez no sindrómica de conductos biliares interlobulillares (NS PILBD); cirrosis infantil de los indios norteamericanos (NAIC); sarcoidosis hepática; amiloidosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por ácidos biliares séricos, que incluyen alteraciones del ritmo cardíaco (por ejemplo, fibrilación auricular) en el contexto de un perfil anormal de ácidos biliares séricos, miocardiopatía asociada con cirrosis hepática ("colecardia") y desgaste del músculo esquelético asociado con enfermedad hepática colestásica; enfermedad hepática poliquística; hepatitis virales (que incluyen hepatitis A, hepatitis B, hepatitis C, hepatitis D y hepatitis E); carcinoma hepatocelular (hepatoma); colangiocarcinoma; cánceres gastrointestinales relacionados con los ácidos biliares; y colestasis causada por tumores y neoplasias del hígado, del tracto biliar y del páncreas. Los compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también son útiles en la mejora de la terapia con corticosteroides en la enfermedad hepática.

Otras enfermedades que se pueden tratar o prevenir por los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, incluyen los síndromes de hiperabsorción (que incluyen abetalipoproteinemia, hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL), enfermedad de retención de quilomicrones (CRD) y sitosterolemia); hipervitaminosis y osteopetrosis; hipertensión; hiperfiltración glomerular; enfermedad renal poliquística (PKD), que incluye la enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD) y la enfermedad renal poliquística autosómica recesiva (ARPKD); y prurito de insuficiencia renal. Los compuestos también son útiles en la protección contra la lesión renal asociada a enfermedades hepáticas o metabólicas.

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⁺-taurocolato (NTCP, también llamado transportador de ácidos biliares hepáticos (LBAT); símbolo genético *SLC10A1*), que se expresa en la membrana sinusoidal de los hepatocitos, y por el transportador apical de ácidos biliares dependientes de sodio (ASBT, también llamado transportador de ácidos biliares ileal (IBAT), ISBT, ABAT o NTCP2; símbolo genético *SLC10A2*), que se expresa en la membrana apical de enterocitos ileales, células del túbulo renal proximal, epitelio biliar, colangiocitos grandes y células epiteliales de la vesícula biliar. En el hígado, los ácidos biliares se extraen eficientemente de la sangre portal por el transportador de ácidos biliares hepáticos (LBAT) y se vuelven a secretar a través de la membrana canalicular por la bomba de exportación de sales biliares (BSEP; símbolo genético *ABCB11*). La reabsorción de ácidos biliares en el íleon es manejada por el transportador de ácidos biliares dependiente de sodio apical (ASBT), donde comúnmente se conoce como transportador de ácidos biliares ileales (IBAT). Tanto LBAT como

ASBT funcionan como cotransportadores electrogénicos de sodio-soluto que mueven dos o más iones Na^+ por molécula de soluto.

Los xenobióticos y los endobióticos, que incluyen los ácidos biliares, se absorben por el hígado desde la sangre portal y se secretan en la bilis por distintas proteínas transportadoras 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 transportadoras de la membrana para entrar o salir del hepatocito (Kosters and Karpen, *Xenobiotica* 2008, vol. 38, p. 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 dihidroxi que por las sales biliares trihidroxi. Todavía no se han identificado sustratos no biliares para el ASBT, sin embargo, también se encontró que LBAT transporta una variedad de sulfatos esteroides, hormonas y xenobióticos.

El LBAT no está tan caracterizado como el ASBT en términos de requisitos de inhibición de fármacos. Dong et al. han identificado fármacos aprobados por la FDA que inhiben el LBAT humano y han comparado los requisitos de inhibición de LBAT y ASBT. Se realizaron una serie de estudios de inhibición de LBAT utilizando los fármacos aprobados por la FDA, junto con el desarrollo de modelos computacionales iterativos. En los estudios de cribado se identificaron 27 fármacos como nuevos inhibidores de LBAT, que incluyen irbesartán ($K_i = 11.9 \mu\text{M}$) y ezetimiba ($K_i = 25.0 \mu\text{M}$). El farmacóforo de características comunes indicó que dos hidrófobos y un aceptor de enlaces de hidrógeno eran importantes para la inhibición de LBAT. De los 72 fármacos cribados in vitro, un total de 31 fármacos inhibieron el LBAT, mientras que 51 fármacos (es decir, más de la mitad) inhibieron el ASBT. Por lo tanto, si bien hubo superposición de inhibidores, el ASBT inesperadamente fue más permisivo a la inhibición de fármacos que el LBAT, y esto puede estar relacionado con que los LBAT poseen menos características farmacométricas (Dong et al., *Mol. Pharm.* 2013, vol. 10, p. 1008-1019).

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 en el hígado, pero también indica que los transportadores auxiliares son capaces de mantener el ciclo enterohepático en su ausencia (Vaz et al., *Hepatology* 2015, vol. 61, p. 260-267). Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la inhibición de LBAT es un mecanismo de acción seguro, ya que los hepatocitos aún tienen la posibilidad de absorber la cantidad necesaria de ácidos biliares.

Liu et al. describen la identificación de un nuevo tipo de hipercolelasmia que se asocia con la homocigosis 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 Han y Dai chinos, respectivamente) y en Vietnam (11 %). Se consideraba que esta hipercolelasmia "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 de los niveles séricos de BA conjugados y no conjugados en los individuos homocigotos. Liu et al. sugieren que lo más probable es que este hallazgo se deba a la reducción del transporte de BA desde la circulación portal a los hepatocitos. Esto apoya la hipótesis de que la función fisiológica de la circulación enterohepática no es solo reciclar los ácidos biliares, sino también depurar los ácidos biliares de la circulación para lograr la homeostasis (Karpen and Dawson, *Hepatology* 2015, vol. 61, p. 24-27). Alternativamente, el hígado puede sintetizar niveles elevados de ácidos biliares para compensar la reducción de la recirculación enterohepática en los portadores homocigotos. Dado que 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).

Se ha encontrado que el LBAT se regula a la baja en varias formas de lesión hepática colestásica y colestasis, mientras que se ha encontrado que el ASBT se regula a la baja en una variedad de trastornos gastrointestinales tales como la enfermedad de Crohn, malabsorción primaria de ácidos biliares, enfermedad inflamatoria intestinal e inflamación ileal, pero se regula al alza en la colestasis. El 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 (VHD), que a su vez es la principal causa de enfermedad hepática y carcinoma hepatocelular.

La inhibición del ASBT se ha investigado para disminuir los niveles plasmáticos de colesterol y mejorar la resistencia a la insulina, así como para aliviar la carga hepática de ácidos biliares en la enfermedad hepática heléctica. Además, se ha encontrado que la inhibición de ASBT restaura los niveles de insulina y normoglicemia, 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.

Dado que el ASBT se expresa predominantemente en el íleon (donde a menudo se denomina como IBAT), no es necesario que los inhibidores del ASBT estén disponibles sistémicamente. Por otro lado, el ASBT también se expresa en las células del túbulo 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 considera que esto conduciría a un aumento de los niveles de ácidos biliares en la orina y a 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.

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

La atresia biliar es una enfermedad hepática pediátrica poco frecuente que implica una obstrucción parcial o total (o incluso ausencia) de los conductos biliares grandes. Esta obstrucción o ausencia provoca colestasis que conduce a la acumulación de ácidos biliares que dañan el hígado. En algunas realizaciones, la acumulación de ácidos biliares se produce en el árbol biliar extrahepático. En algunas realizaciones, la acumulación de ácidos biliares se produce en el árbol biliar intrahepático. El estándar de atención actual es el procedimiento Kasai, que es una cirugía que extirpa los conductos biliares bloqueados y conecta directamente una parte del intestino delgado con el hígado. Actualmente no existen terapias con fármacos aprobadas para este trastorno.

En este documento se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de la atresia biliar. En algunas realizaciones, el sujeto se ha sometido al procedimiento Kasai antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, al sujeto se le administra un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, antes de someterse al procedimiento Kasai. En algunas realizaciones, el tratamiento de la atresia biliar disminuye el nivel de ácidos biliares séricos en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos 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. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, en 10 % a 40 %, 20 % a 50 %, 30 % a 60 %, 40 % a 70 %, 50 % a 80 %, o en más de 90 % del nivel de ácidos biliares séricos antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el tratamiento de la atresia biliar incluye el tratamiento del prurito.

La PFIC es un trastorno genético poco frecuente 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.

Una manifestación de la PFIC es el prurito, que a menudo resulta en una disminución severa de la calidad de vida. En algunos casos, la PFIC provoca 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.

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 conoce como “enfermedad de Byler”, es causada por una secreción biliar alterada 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 de 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 suelen desarrollar colestasis en los primeros meses de vida y, en ausencia de tratamiento quirúrgico, progresan a cirrosis y enfermedad hepática en estadio terminal antes del final de la primera década de vida.

- La PFIC, tipo 2, que a veces se conoce como “síndrome de Byler”, es causada por una alteración de la secreción de sales biliares debido a mutaciones en el gen ABCB11, que codifica una proteína, conocida como bomba de exportación de sales biliares, que mueve los ácidos biliares fuera del hígado. Los sujetos con PFIC, tipo 2, a menudo desarrollan insuficiencia hepática dentro de los primeros años de vida y tienen un mayor riesgo de desarrollar un tipo de cáncer de hígado conocido como carcinoma hepatocelular.

- La PFIC, tipo 3, que normalmente 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 los fosfolípidos a través de las membranas celulares.

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

En las Tablas 2 y 3 se enumeran mutaciones de ejemplo del gen ATP8B1 o de la proteína resultante, con una numeración basada en la proteína ATP8B1 de tipo silvestre humano (por ejemplo, SEQ ID NO: 1) o en el gen (por ejemplo, SEQ ID NO: 2). En las Tablas 4 y 5 se enumeran las mutaciones de ejemplo del gen ABCB11 o de la proteína resultante, con numeración basada en la proteína ABCB11 de tipo silvestre humano (por ejemplo, SEQ ID NO: 3) o gen (por ejemplo, SEQ ID NO: 4).

Como pueden apreciar aquellos expertos en la técnica, una posición de aminoácido en una secuencia de proteínas de referencia que corresponde a una posición específica de aminoácido en la SEQ ID NO: 1 o 3 se puede determinar al alinear la secuencia de proteínas de referencia con la SEQ ID NO: 1 o 3 (por ejemplo, utilizando un programa de software, tal como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en el presente documento como “mutaciones”) pueden incluir sustituciones de aminoácidos únicos o múltiples, inserciones dentro o flanqueando las

5 secuencias, y supresiones dentro o flanqueando las secuencias. Como pueden apreciar aquellos expertos en la técnica, la posición de un nucleótido en una secuencia de genes de referencia que corresponde a una posición específica de nucleótidos en la SEQ ID NO: 2 o 4 se puede determinar al alinear la secuencia de genes de referencia con la SEQ ID NO: 2 o 4 (por ejemplo, utilizando un programa de software, tal como ClustalW2). Los cambios en estos residuos (denominados en el presente documento "mutaciones") pueden incluir sustituciones de nucleótidos únicos o múltiples, inserciones dentro o flanqueando las secuencias, y supresiones dentro o flanqueando las secuencias. Véase también Kooistra, et al., "KLIFS: A structural kinase-ligand interaction database", Nucleic Acids Res. 2016, vol. 44, no. D1, pp. D365-D371.

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

10

```

MSTERDSETT  FEEDSQPNDE  VVPYSDDETE  DELDDQGS AV  EPEQNRVNRE  AEENREFFRK
ECTWQVKAND  RKYHEQPHFM  NTKFLCIKES  KYANNAIKTY  KYNAFTFIPM  NLFEQFKRAA
NLYFLALLIL  QAVPQISTLA  WYTTLVPLLV  VLGVTAIKDL  VDDVARHKMD  KEINNRTCEV
IKDGRFKVAK  WKEIQVG DVI  RLKKND FVPA  DILLSSSEP  NSLCYVETAE  LDGETNLKFK
MSLEITDQYL  QREDTLATFD  GFIECEE PNN  RLDKFTGTLF  WRNTSFPLDA  DKILLRGCVI
RNTDFCHGLV  IFAGADTKIM  KNSGKTREKR  TKIDYLMNYM  VYTIFVVLIL  LSAGLAIGHA
YWEAQVGNSS  WYLYDGEDDT  PSYRGFLIFW  GYIIVLNTMV  PISLYVSVEV  IRLGQSHFIN
WDLQMYA EK  DTPAKARTTT  LNEQLGQIHY  IFSDKTGTLT  QNIMTFKKCC  INGQIYGDHR
DASQHNHNKI  EQVDFSWNTY  ADGKLAFYDH  YLIEQIQSGK  EPEVRQFFFL  LAVCHTVMVD
RTDQQLNYQA  ASPDEGALVN  AARNFGFAFL  ARTQNTITIS  ELGTERTYNV  LAILD FN SDR
KRMSIIVRTP  EGNIKLYCKG  ADTVIYERLH  RMNPTKQETQ  DALDIFANET  LRTLCLCYKE
IEEKEFTAWN  KKFMAASVAS  TNRDEALDKV  YEEIEKDLIL  LGATAIEDKL  QDGV PETISK
LAKADIKI WV  LTGDKKETAE  NIGFACELLT  EDTTICYGED  INSL LHARME  NQRNRGGVYA
KFAPPVQESF  FPPGGNRALI  ITGSWLNEIL  LEKKTKRNKI  LKLKFPRT EE  ERRMRTQSKR
RLEAKKEQRQ  KNFVDLACEC  SAVICCRVTP  KQKAMVVDLV  KRYKKAITLA  IGDGANDVNM
IKTAHIGVGI  SGQEGMQAVM  SSDYSFAQFR  YLQRLLLVHG  RWSYIRMCKF  LRYFFYKNFA
FTLVHFWYSF  FNGYSAQTAY  EDWEITLYNV  LYTSLPVLLM  GLLDQDVSDK  LSLRFPGLYI
VGQRDLLFNY  KRFFVSLLHG  VLTSMLFFI  PLGAYLQTVG  QDGEAPSDYQ  SFAVTIASAL
VITVNFQIGL  DTSYWTFVNA  FSIFGSIALY  FGIMFDFHSA  GIHVLFPSAF  QFTGTASNAL
RQPYIWL TII  LAVAVCLLPV  VAIRFLSMTI  WPSESDKI QK  HRKRLKAEEQ  WQRRQQVFRR
GVSTRRSAYA  FSHQRGYADL  ISSGRSIRKK  RSPLDAIVAD  GTAEYRRTGD  S

```

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

ES 2 973 355 T3

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

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

ES 2 973 355 T3

Tabla 2. Mutaciones de ejemplo de ATPSB1

Posición de aminoácido 3 (por ejemplo, T3K) ²⁷
Posición de aminoácido 23 (por ejemplo, P23L) ⁵
Posición de aminoácido 45 (por ejemplo, N45T) ^{5,8,9}
Posición de aminoácido 46 (por ejemplo, R46X) ^{A,25}
Posición de aminoácido 62 (por ejemplo, C62R) ²⁸
Posición de aminoácido 63 (por ejemplo, T63T) ⁴¹
Posición de aminoácido 70 (por ejemplo, D70N) ^{1,6}
Posición de aminoácido 71 (por ejemplo, R71H) ⁴³
Posición de aminoácido 78 (por ejemplo, H78Q) ¹⁹
Posición de aminoácido 82 (por ejemplo, T82T) ⁴¹
Posición de aminoácido 92 (por ejemplo, Y92Y) ⁴¹
Posición de aminoácido 93 (por ejemplo, A93A) ⁶
Posición de aminoácido 96 (por ejemplo, A96G) ²⁷
Posición de aminoácido 114 (por ejemplo, E114Q) ⁸
Posición de aminoácido 127 (por ejemplo, L127P ⁶ , L127V ³⁶)
Posición de aminoácido 177 (por ejemplo, T177T) ⁶
Posición de aminoácido 179 (por ejemplo, E179X) ²⁹
Δ Posiciones de aminoácido 185-282 ⁴⁴
Posición de aminoácido 197 (por ejemplo, G197Lfs*10) ²²
Posición de aminoácido 201 (por ejemplo, R201S ²⁷ , R201H ³⁵)
Posición de aminoácido 203 (por ejemplo, K203E ^{5,8} , K203R ⁹ , K203fs ²⁵)
Posición de aminoácido 205 (por ejemplo, N205fs ⁶ , N205Kfs*2 ³⁵)
Posición de aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) ⁴
Posición de aminoácido 217 (por ejemplo, S217N) ⁴³
Posición de aminoácido 232 (por ejemplo, D232D) ³⁰
Posición de aminoácido 233 (por ejemplo, G233R) ³⁸
Posición de aminoácido 243 (por ejemplo, L243fs*28) ³³
Posición de aminoácido 265 (por ejemplo, C265R) ²⁵
Posición de aminoácido 271 (por ejemplo, R271X ¹³ , R271R ³⁰)
Posición de aminoácido 288 (por ejemplo, L288S) ⁶
Posición de aminoácido 294 (por ejemplo, L294S) ⁴³
Posición de aminoácido 296 (por ejemplo, R296C) ¹¹
Posición de aminoácido 305 (por ejemplo, F305I) ²⁸
Posición de aminoácido 306 (por ejemplo, C306R) ²³

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 307 (por ejemplo, H307L) ³⁵
Posición de aminoácido 308 (por ejemplo, G308V ¹ , G308D ⁶ , G308S ³⁵)
Posición de aminoácido 314 (por ejemplo, G314S) ¹³
Posición de aminoácido 320 (por ejemplo, M320Vfs*13) ¹¹
Posición de aminoácido 337 (por ejemplo, M337R) ¹⁸
Posición de aminoácido 338 (por ejemplo, N338K) ¹⁸
Posición de aminoácido 340 (por ejemplo, M340V) ¹⁸
Posición de aminoácido 344 (por ejemplo, I344F) ^{6,20}
Posición de aminoácido 349 (por ejemplo, I349T) ⁴¹
Posición de aminoácido 358 (por ejemplo, G358R) ²⁸
Posición de aminoácido 367 (por ejemplo, G367G) ⁴¹
Posición de aminoácido 368 (por ejemplo, N368D) ⁴¹
Posición de aminoácido 393 (por ejemplo, I393V) ²⁷
Posición de aminoácido 403 (por ejemplo, S403Y) ⁶
Posición de aminoácido 407 (por ejemplo, S407N) ⁴⁰
Posición de aminoácido 412 (por ejemplo, R412P) ⁶
Posición de aminoácido 415 (por ejemplo, Q415R) ²⁷
Posición de aminoácido 422 (por ejemplo, D422H) ³⁵
Posición de aminoácido 429 (por ejemplo, E429A) ⁶
Posición de aminoácido 446 (por ejemplo, G446R) ^{4,11}
Posición de aminoácido 453 (por ejemplo, S453Y) ⁶
Posición de aminoácido 454 (por ejemplo, D454G) ⁶
Posición de aminoácido 455 (por ejemplo, K455N) ⁴³
Posición de aminoácido 456 (por ejemplo, T456M ^{3,6} , T456K ³⁵)
Posición de aminoácido 457 (por ejemplo, G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
Posición de aminoácido 469 (por ejemplo, C469G) ⁴¹
Posición de aminoácido 478 (por ejemplo, H478H) ⁴¹
Posición de aminoácido 500 (por ejemplo, Y500H) ⁶
Posición de aminoácido 525 (por ejemplo, R525X) ⁴
Δ Posición de aminoácido 529 ⁶
Posición de aminoácido 535 (por ejemplo, H535L ⁶ , H535N ⁴¹)
Posición de aminoácido 553 (por ejemplo, P553P) ⁴³
Posición de aminoácido 554 (por ejemplo, D554N ^{1,6} , D554A ³⁵)
Δ Posiciones de aminoácido 556-628 ⁴⁴
Δ Posiciones de aminoácido 559-563 ³⁵

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 570 (por ejemplo, L570L) ⁴¹
Posición de aminoácido 577 (por ejemplo, I577V) ¹⁹
Posición de aminoácido 581 (por ejemplo, E581K) ³⁵
Posiciones de aminoácido 554 y 581 (por ejemplo, D554A+E581K) ³⁵
Posición de aminoácido 585 (por ejemplo, E585X) ²¹
Posición de aminoácido 600 (por ejemplo, R600W ^{2,4} , R600Q ⁶)
Posición de aminoácido 602 (por ejemplo, R602X) ^{3,6}
Posición de aminoácido 628 (por ejemplo, R628W) ⁶
Posición de aminoácido 631 (por ejemplo, R631Q) ²⁸
Δ Posiciones de aminoácido 645-699 ⁴
Posición de aminoácido 661 (por ejemplo, I661T) ^{1,4,6}
Posición de aminoácido 665 (por ejemplo, E665X) ^{4,6}
Posición de aminoácido 672 (por ejemplo, K672fs ⁶ , K672Vfs*1 ³⁵)
Posición de aminoácido 674 (por ejemplo, M674T) ¹⁹
Posiciones de aminoácido 78 y 674 (por ejemplo, H78Q/M674T) ¹⁹
Posición de aminoácido 684 (por ejemplo, D684D) ⁴¹
Posición de aminoácido 688 (por ejemplo, D688G) ⁶
Posición de aminoácido 694 (por ejemplo, I694T ⁶ , I694N ¹⁷)
Posición de aminoácido 695 (por ejemplo, E695K) ²⁷
Posición de aminoácido 709 (por ejemplo, K709fs ⁶ , K709Qfs*41 ¹³)
Posición de aminoácido 717 (por ejemplo, T717N) ⁴
Posición de aminoácido 733 (por ejemplo, G733R) ⁶
Posición de aminoácido 757 (por ejemplo, Y757X) ⁴
Posición de aminoácido 749 (por ejemplo, L749P) ²¹
Δ Posición de aminoácido 792 (por ejemplo, P792fs) ⁶
Posición de aminoácido 795-797 ⁶
Posición de aminoácido 809 (por ejemplo, I809L) ²⁷
Posición de aminoácido 814 (por ejemplo, K814N) ²⁸
Posición de aminoácido 833 (por ejemplo, R833Q ²⁷ , R833W ⁴¹)
Posición de aminoácido 835 (por ejemplo, K835Rfs*36) ³⁵
Posición de aminoácido 845 (por ejemplo, K845fs) ²⁵
Posición de aminoácido 849 (por ejemplo, R849Q) ²⁴
Posición de aminoácido 853 (por ejemplo, F853S, F853fs) ⁶
Posición de aminoácido 867 (por ejemplo, R867C ¹ , R867fs ⁶ , R867H ²³)
Posición de aminoácido 885 (por ejemplo, K885T) ⁴¹

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 888 (por ejemplo, T888T) ⁴¹
Posición de aminoácido 892 (por ejemplo, G892R) ⁶
Posición de aminoácido 912 (por ejemplo, G912R) ³⁵
Posición de aminoácido 921 (por ejemplo, S921S) ⁴¹
Posición de aminoácido 924 (por ejemplo, Y924C) ²⁸
Posición de aminoácido 930 (por ejemplo, R930X ⁶ , R930Q ²⁸)
Posición de aminoácido 941 (por ejemplo, R941X) ³⁵
Posición de aminoácido 946 (por ejemplo, R946T) ⁴¹
Posición de aminoácido 952 (por ejemplo, R952Q ^{5,9,15} , R952X ⁶)
Posición de aminoácido 958 (por ejemplo, N958fs) ⁶
Posición de aminoácido 960 (por ejemplo, A960A) ⁴¹
Δ Posición de aminoácido 971 ⁴³
Posición de aminoácido 976 (por ejemplo, A976E ⁴¹ , A976A ⁴³)
Posición de aminoácido 981 (por ejemplo, E981K) ²⁰
Posición de aminoácido 994 (por ejemplo, S994R) ⁴
Posición de aminoácido 1011 (por ejemplo, L1011fs*18) ³³
Posición de aminoácido 1012 (por ejemplo, S1012I) ¹⁰
Posición de aminoácido 1014 (por ejemplo, R ¹ 014X) ^{6,11}
Posición de aminoácido 1015 (por ejemplo, F1015L) ²⁷
Posición de aminoácido 1023 (por ejemplo, Q1023fs) ⁶
Posición de aminoácido 1040 (por ejemplo, G1040R) ^{1,6}
Posición de aminoácido 1044 (por ejemplo, S0144L) ³⁴
Posición de aminoácido 1047 (por ejemplo, L1047fs) ⁶
Posición de aminoácido 1050 (por ejemplo, I1050K) ³¹
Posición de aminoácido 1052 (por ejemplo, L1052R) ²⁸
Posición de aminoácido 1095 (por ejemplo, W1095X) ¹¹
Posición de aminoácido 1098 (por ejemplo, V1098X) ³⁵
Posición de aminoácido 1131 (por ejemplo, Q1131X) ⁴⁴
Posición de aminoácido 1142 (por ejemplo, A1142Tfs*35) ⁴³
Posición de aminoácido 1144 (por ejemplo, Y1144Y) ⁴³
Posición de aminoácido 1150 (por ejemplo, I1150T) ⁴¹
Posición de aminoácido 1152 (por ejemplo, A1152T) ³⁰
Posición de aminoácido 1159 (por ejemplo, P1159P) ^{25,43}
Posición de aminoácido 1164 (por ejemplo, R1164X) ⁶
Posición de aminoácido 1193 (por ejemplo, R1193fs*39) ³³

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 1197 (por ejemplo, V1197L) ⁴¹
Posición de aminoácido 1208 (por ejemplo, A1208fs) ⁶
Posición de aminoácido 1209 (por ejemplo, Y1209Lfs*28) ⁴
Posición de aminoácido 1211 (por ejemplo, F1211L) ²⁷
Posición de aminoácido 1219 (por ejemplo, D1219H ⁵ , D1219G ²⁷)
Posición de aminoácido 1223 (por ejemplo, S1223S) ⁴¹
Posición de aminoácido 1233 (por ejemplo, P1233P) ⁴¹
Posición de aminoácido 1241 (por ejemplo, G1241fs) ⁶
Posición de aminoácido 1248 (por ejemplo, T1248T) ⁴³
Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G ⁶
IVS6+5T>G ^{17,25}
Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T ⁶
IVS9-G>A ²⁶
IVS12+1G>A ²⁵
Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS20-4CT>AA
Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS23-3C>A ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS26+2T>A ⁶
g.24774-42062del ⁴
c.-4C>G ⁴¹
c.145C>T ¹²
c.181-72G>A ⁹
c.182-5T>A ⁴¹
c.182-72G>A ⁴¹
c.246A>G ⁹
c.239G>A ³⁹
c.279+1_279+3delGTG ⁴⁶
c.280-2A>G ⁴⁶
c.625_62715delinsACAGTAAT ⁴⁶
c.554+122C>T ⁹
c.555-3T>C ²⁷
c.625+5 G>T ⁴

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) y c.625+5 G>T ⁴
c.628-30G>A ⁴¹
c.628-31C>T ⁴¹
c.698+1G>T ⁴⁶
c.698+20C>T ⁴¹
c.782-1G>A ⁴⁶
c.782-34G>A ⁴¹
Δ795-797 ¹⁴
c.782 -1G>A ⁴
c.852A>C ²⁷
c.941-1G>A ⁴⁶
c.1014C>T ⁹
c.1029+35G>A ⁹
c.1221-8C.G ⁴¹
1226delA ¹⁶
c.1429+1G>A ⁴⁶
c.1429+2T>G ¹³
c.1429+49G>A ⁴¹
c.1430-42A>G ⁴¹
c.1493T>C ¹²
c.1587_1589delCTT ⁴⁶
c.1630+2T>G ²⁷
c.1631-10T>A ⁴¹)
c.1637-37T>C ⁴¹
1660 G>A ¹⁴
1798 C>T ¹⁴
1799 G>A ¹⁴
c.1819-39_41delAA ⁹
c.1819+1G>A ³¹
c.1820-27G>A ⁴¹
c.1918+8C>T ²⁷
c.1933-1G>AK ⁴⁶
c.2097+2T>C ³²
c.2097+60T>G ⁴¹
c.2097+89T>C ⁴¹

ES 2 973 355 T3

c.2097+97T>G ⁴¹
c.2210-114T>C ⁹
2210delA ¹⁶
c.2210-45_50dupATAAAA ⁹
c.2285+29C.T ⁴¹
c.2285+32A>G ⁴¹
c.2286-4_2286-3delinsAA ⁴⁶
c.2418+5G>A ⁴⁶
c.2707+3G>C ²⁷
c.2707+9T>G ⁴¹
c.2707+43A>G ⁴¹
c.2709-59T>C ⁴¹
c.2931+9A>G ⁴¹
c.2931+59T>A ⁴¹
c.2932-3C>A ⁴⁶
c.2932+59T>A ⁹
c.2937A>C ²⁷
c.3016-9C>A ³¹
c.3033-3034del ¹⁹
3122delTCCTA/
insACATCGATGTTGATGTTAGG ⁴⁵
3318 G>A ¹⁴
c.3400+2T>A ⁴⁶
c.3401-175C>T ⁹
c.3401-167C>T ⁹
c.3401-108C>T ⁹
c.3531+8G>T ^{9,15}
c.3532-15C>T ⁹
Δ Phe ex 15 ⁴
Ex1_Ex13del ⁶
Ex2_Ex6del ³³
Ex12_Ex14del ²⁷
Exón omitido 24 ⁴⁵
del5'UTR-ex18 ¹¹
c.*11C>T ⁴¹

c.*1101 + 366G > A ⁷
g.92918del565 ³¹
GC exón precedente 16 (por ejemplo, que resulta en una supresión 4 bp) ⁴²
Cambio de marco desde el extremo 5' del exón 16 ⁴²
5' supresión de 1.4 kb ⁴⁶

Tabla 3. Mutaciones ATP8B1 seleccionadas asociadas con PFIC-1

Posición de aminoácido 23 (por ejemplo, P23L) ⁵
Posición de aminoácido 78 (por ejemplo, H78Q) ¹⁹
Posición de aminoácido 93 (por ejemplo, A93A) ⁶
Posición de aminoácido 96 (por ejemplo, A96G) ²⁷
Posición de aminoácido 127 (por ejemplo, L127P) ⁶
Posición de aminoácido 197 (por ejemplo, G197Lfs*10) ²²
Posición de aminoácido 205 (por ejemplo, N205fs) ⁶
Posición de aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) ⁴
Posición de aminoácido 233 (por ejemplo, G233R) ³⁸
Posición de aminoácido 243 (por ejemplo, L243fs*28) ³³
Posición de aminoácido 288 (por ejemplo, L288S) ⁶
Posición de aminoácido 296 (por ejemplo, R296C) ¹¹
Posición de aminoácido 308 (por ejemplo, G308V ^{1,6})
Posición de aminoácido 320 (por ejemplo, M320Vfs*13) ¹¹
Posición de aminoácido 403 (por ejemplo, S403Y) ⁶
Posición de aminoácido 407 (por ejemplo, S407N) ⁴⁰
Posición de aminoácido 412 (por ejemplo, R412P) ⁶
Posición de aminoácido 415 (por ejemplo, Q415R) ²⁷
Posición de aminoácido 429 (por ejemplo, E429A) ⁶
Posición de aminoácido 446 (por ejemplo, G446R) ⁴
Posición de aminoácido 456 (por ejemplo, T456M) ^{3,6}
Posición de aminoácido 457 (por ejemplo, G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
Posición de aminoácido 500 (por ejemplo, Y500H) ⁶
Posición de aminoácido 525 (por ejemplo, R525X) ⁴
Δ Posición de aminoácido 529 ⁶
Posición de aminoácido 535 (por ejemplo, H535L) ⁶
Posición de aminoácido 554 (por ejemplo, D554N) ^{1,6}
Posición de aminoácido 577 (por ejemplo, I577V) ¹⁹

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 585 (por ejemplo, E585X) ²¹
Posición de aminoácido 600 (por ejemplo, R600W) ⁴
Posición de aminoácido 602 (por ejemplo, R602X) ^{3,6}
Posición de aminoácido 661 (por ejemplo, I661T) ^{4,6}
Posición de aminoácido 665 (por ejemplo, E665X) ^{4,6}
Δ Posiciones de aminoácido 645-699 ⁴
Posición de aminoácido 672 (por ejemplo, K672fs) ⁶
Posición de aminoácido 674 (por ejemplo, M674T) ¹⁹
Posiciones de aminoácido 78 y 674 (por ejemplo, H78Q/M674T) ¹⁹
Posición de aminoácido 688 (por ejemplo, D688G) ⁶
Posición de aminoácido 694 (por ejemplo, I694N) ¹⁷
Posición de aminoácido 695 (por ejemplo, E695K) ²⁷
Posición de aminoácido 709 (por ejemplo, K709fs) ⁶
Posición de aminoácido 717 (por ejemplo, T717N) ⁴
Posición de aminoácido 733 (por ejemplo, G733R) ⁶
Posición de aminoácido 749 (por ejemplo, L749P) ²¹
Posición de aminoácido 757 (por ejemplo, Y757X) ⁴
Posición de aminoácido 792 (por ejemplo, P792fs) ⁶
Posición de aminoácido 809 (por ejemplo, I809L) ²⁷
Posición de aminoácido 853 (por ejemplo, F853S, F853fs) ⁶
Posición de aminoácido 867 (por ejemplo, R867fs) ⁶
Posición de aminoácido 892 (por ejemplo, G892R) ⁶
Posición de aminoácido 930 (por ejemplo, R930X ⁶ , R952Q ¹⁵)
Posición de aminoácido 952 (por ejemplo, R952X) ⁶
Posición de aminoácido 958 (por ejemplo, N958fs) ⁶
Posición de aminoácido 981 (por ejemplo, E981K) ²⁰
Posición de aminoácido 994 (por ejemplo, S994R) ⁴
Posición de aminoácido 1014 (por ejemplo, R1014X) ^{6,11}
Posición de aminoácido 1015 (por ejemplo, F1015L) ²⁷
Posición de aminoácido 1023 (por ejemplo, Q1023fs) ⁶
Posición de aminoácido 1040 (por ejemplo, G1040R) ^{1,6}
Posición de aminoácido 1047 (por ejemplo, L1047fs) ⁶
Posición de aminoácido 1095 (por ejemplo, W1095X) ¹¹
Posición de aminoácido 1208 (por ejemplo, A1208fs) ⁶
Posición de aminoácido 1209 (por ejemplo, Y1209Lfs*28) ⁴

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 1211 (por ejemplo, F1211L) ²⁷
Posición de aminoácido 1219 (por ejemplo, D1219H ⁵ , D1219G ²⁷)
Mutación del sitio de empalme IVS3+1_+3delGTG ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS3-2A>G ⁶
IVS6+5T>G ¹⁷
Mutación del sitio de empalme IVS8+1G>T ⁶
IVS9-G>A ²⁶
Mutación del sitio de empalme IVS17-1G>A ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS18+2T>C ⁶
Mutación del sitio de empalme IVS21+5G>A ⁶
g.24774-42062del ⁴
c.145C>T ¹²
c.239G>A ³⁹
c.625+5 G>T ⁴
Posición de aminoácido 209 (por ejemplo, P209T) y c.625+5 G>T ⁴
c.782 -1G>A ⁴
c.1493T>C ¹²
c.1630+2T>G ²⁷
1660 G>A ¹⁴
c.2707+3G>C ²⁷
c.2097+2T>C ³²
c.3033-3034del ¹⁹
3318 G>A ¹⁴
c.3158+8G>T ¹⁵
Δ Phe ex 15 ⁴
Ex1_Ex13del ⁶
Ex2_Ex6del ³³
Ex12_Ex14del ²⁷
del5'UTR-ex18 ¹¹
c.*1101 + 366G > A ⁷
GC exón precedente 16 (por ejemplo, que resulta en una supresión 4 bp) ⁴²
Cambio de marco desde el extremo 5' del exón 16 ⁴²
^A Una mutación a 'X' denota un codón de parada temprano

Referencias para las Tablas 2 y 3

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

- ² Hsu et al., *Hepatol Res.* 2009, vol. 39(6), p. 625-631.
- ³ Alvarez et al., *Hum Mol Genet.* 2004, vol. 13(20), p. 2451-2460.
- ⁴ Davit-Spraul et al., *Hepatology* 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.
- ⁵ Vitale et al., *J Gastroenterol.* 2018, vol. 53(8), p. 945-958.
- 5 ⁶ Klomp et al., *Hepatology* 2004, vol. 40(1), p. 27-38.
- ⁷ Zarenezhad et al., *Hepatitis Monthly*: 2017, vol. 17(2); e43500.
- ⁸ Dixon et al., *Scientific Reports* 2017, vol. 7, 11823.
- ⁹ Painter et al., *Eur J Hum Genet.* 2005, vol. 13(4), p. 435-439.
- ¹⁰ Deng et al., *World J Gastroenterol.* 2012, vol. 18(44), p. 6504-6509.
- 10 ¹¹ Giovannoni et al., *PLoS One.* 2015, vol. 10(12): e0145021.
- ¹² Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, No. 1, Supp. Supplement 1, pp. S180. Abstract Number: OP284.
- ¹³ Togawa et al., *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2018, vol. 67, Supp. Supplement 1, pp. S363. Abstract Number: 615.
- ¹⁴ Miloh et al., *Gastroenterology* 2006, vol. 130, No. 4, Suppl. 2, pp. A759-A760. Meeting Info.: Digestive Disease Week Meeting/107th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association. Los Angeles, CA, USA. May 19.
- 15 ¹⁵ Dröge et al., *Zeitschrift für Gastroenterologie* 2015, vol. 53, No. 12. Abstract Number: A3-27.
Meeting Info: 32. Jahrestagung der Deutschen Arbeitsgemeinschaft zum Studium der Leber. Dusseldorf, Germany.
22 Jan 2016-23 Jan 2016
- ¹⁶ Mizuochi et al., *Clin Chim Acta.* 2012, vol. 413(15-16), p. 1301-1304.
- 20 ¹⁷ Liu et al., *Hepatology International* 2009, vol. 3, No. 1, p. 184-185. Abstract Number: PE405. Meeting Info: 19th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Hong Kong, China. 13 Feb 2009-16 Feb 2009
- ¹⁸ McKay et al., *Version 2. F1000Res.* 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- ¹⁹ Hasegawa et al., *Orphanet J Rare Dis.* 2014, vol. 9:89.
- ²⁰ Stone et al., *J Biol Chem.* 2012, vol. 287(49), p. 41139-51.
- 25 ²¹ Kang et al., *J Pathol Transl Med.* 2019 May 16. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03. [Epub ahead of print]
- ²² Sharma et al., *BMC Gastroenterol.* 2018, vol. 18(1), p. 107.
- ²³ Uegaki et al., *Intern Med.* 2008, vol. 47(7), p. 599-602.
- ²⁴ Goldschmidt et al., *Hepatol Res.* 2016, vol. 46(4), p. 306-311.
- ²⁵ Liu et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010, vol. 50(2), p. 179-183.
- 30 ²⁶ Jung et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007, vol. 44(4), p. 453-458.
- ²⁷ Bounford. University of Birmingham. Dissertation Abstracts International, (2016) Vol. 75, No. 1C. Order No.: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- ²⁸ Stolz et al., *Aliment Pharmacol Ther.* 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- ²⁹ Ivashkin et al., *Hepatology International* 2016, vol. 10, No. 1, Supp. SUPPL. 1, pp. S461. Abstract Number: LBO-38. Meeting Info: 25th Annual Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, APASL 2016. Tokyo, Japan. 20 Feb 2016-24 Feb 2016
- 35 ³⁰ Blackmore et al., *J Clin Exp Hepatol.* 2013, vol. 3(2), p. 159-161.
- ³¹ Matte et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010, vol. 51(4), p. 488-493.
- ³² Squires et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017, vol. 64(3), p. 425-430.

- ³³ Hayshi et al., EBioMedicine. 2018, vol. 27, p. 187-199.
- ³⁴ Nagasaka et al., J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2007, vol. 45(1), p. 96-105.
- ³⁵ Wang et al., PLoS One. 2016; vol. 11(4): e0153114.
- ³⁶ Narchi et al., Saudi J Gastroenterol. 2017, vol. 23(5), p. 303-305.
- 5 ³⁷ Alashkar et al., Blood 2015, vol. 126, No. 23. Meeting Info.: 57th Annual Meeting of the American-Society-of-Hematology. Orlando, FL, USA. December 05 -08, 2015. Amer Soc Hematol.
- ³⁸ Ferreira et al., Pediatric Transplantation 2013, vol. 17, Suppl. SUPPL. 1, pp. 99. Abstract Number: 239. Meeting Info: IPTA 7th Congress on Pediatric Transplantation. Warsaw, Poland. 13 Jul 2013-16 Jul 2013.
- ³⁹ Pauli-Magnus et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.
- 10 ⁴⁰ Jericho et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2015, vol. 60(3), p. 368-374.
- ⁴¹ van der Woerd et al., PLoS One. 2013, vol. 8(11): e80553.
- ⁴² Copeland et al., J Gastroenterol Hepatol. 2013, vol. 28(3), p. 560-564.
- ⁴³ Dröge et al., J Hepatol. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.
- ⁴⁴ Chen et al., Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), p. 119-124.
- 15 ⁴⁵ Jirsa et al., Hepatol Res. 2004, vol. 30(1), p. 1-3.
- ⁴⁶ van der Woerd et al., Hepatology 2015, vol. 61(4), p. 1382-1391.

En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, y G1040R.

Secuencia de Proteínas Canónica de ABCB11 (SEQ ID NO: 3) - Uniprot ID O95342

MSDSVILRSI KKFGEENDGF ESDKSYNNNDK KSRLQDEKKG DGVRVGFFQL FRFSSSTDIW
 LMFVGSGLCAF LHGIAQPGVL LIFGTMTDVF IDYDVELQEL QIPGKACVNN TIVWTNSSLN
 QNMTNGTRCG LLNIESEMIK FASYAGIAV AVLITGYIQI CFWVIAAARQ IQKMRKFYFR
 RIMRMEIGWF DCNSVGELNT RFSDDINKIN DAIADQMALF IQRMTSTICG FLLGFFRGWK
 LTLVIIISVSP LIGIGAATIG LSVSKFTDYE LKAYAKAGVV ADEVISSMRT VAAFGGKEKE
 VERYEKNLVF AQRWGIRKGI VMGFFTGFVW CLIFLCYALA FWYGSTLVLD EGEYTPGTLV
 QIFLSVIVGA LNLGNASPCLEAFATGRAAA TSIFETIDRK PIIDCMSEDG YKLDRIKGEI
 EFHNVTFHYP SRPEVKILND LNMVIKPGEM TALVGPSGAG KSTALQLIQR FYDPCGMVT
 VDGHDIRSLN IQWLRDQIGI VEQEPVLFST TIAENIRYGR EDATMEDIVQ AAKEANAYNF
 IMDLPQQFDT LVGEGGGQMS GGQKQORVAIA RALIRNPKIL LLDMATSALD NESEAMVQEV
 LSKIQHGHTI ISVAHRLSTV RAADTIIGFE HGTAVERGTH EELLERKGVY FTLVTLQSQG
 NQALNEEDIK DATEDDMLAR TFSRGSYQDS LRASIRQRSK SQLSYLVHEP PLAVVDHKST
 YEEDRKDKDI PVQEEVEPAP VRRILKFSAP EWPYMLVGSV GAAVNGTVTP LYAFLFSQIL
 GTFSIPDKEE QRSQINGVCL LFFVAMGCVSL FTQFLQGYAF AKSGELLTKR LRKFGFRAML
 GQDIAWFDDL RNSPGALTTR LATDASQVQG AAGSQIGMIV NSFTNVTVM IIAFSFSWKL
 SLVILCFFPF LALSGATQTR MLTGFASRDK QALEMVGQIT NEALSNIRTV AGIGKERRFI
 EALETELEKP FKTAIQKANI YGFCFAFAQC IMFIANSASY RYGGYLISNE GLHFSYVFRV
 ISAVVLSATA LGRAFSYTPS YAKAKISAAR FFQLLDROPP ISVYNTAGEK WDNFQGGKIDF
 VDCKFTYPSR PDSQVLNGLS VSISPGQTLA FVGSSGCGKS TSIQLLERFY DPDQGKVMID
 GHDSKKVNVQ FLRSNIGIVS QEPVLFACSI MDNIKYGDNT KEIPMERVIA AAKQAQLHDF
 VMSLPEKYET NVGSQGSQSL RGEKQRIATA RAIVRDPKIL LLDEATSALD TESEKTVQVA
 20 LDKAREGRTC IVIAHRLSTI QNADIIAVMA QGVVIEKGTH EELMAQKGAY YKLVTGSPIS

Secuencia de ADN Canónica de ABCB11 (SEQ ID NO: 4)

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

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

Tabla 4. Mutaciones de ejemplo de ABCB11

Posición de aminoácido 1 (por ejemplo, M1V) ⁹
Posición de aminoácido 4 (por ejemplo, S4X) ^{A,64}
Posición de aminoácido 8 (por ejemplo, R8X) ⁸⁸
Posición de aminoácido 19 (por ejemplo, G19R) ⁵⁶
Posición de aminoácido 24 (por ejemplo, K24X) ³⁵
Posición de aminoácido 25 (por ejemplo, S25X) ^{5,14}
Posición de aminoácido 26 (por ejemplo, Y26Ifs*7) ³⁸
Posición de aminoácido 36 (por ejemplo, D36D) ²⁷
Posición de aminoácido 38 (por ejemplo, K38Rfs*24) ⁷³
Posición de aminoácido 43 (por ejemplo, V43I) ⁵⁷
Posición de aminoácido 49 (por ejemplo, Q49X) ⁷³
Posición de aminoácido 50 (por ejemplo, L50S, L50W) ⁵⁷
Posición de aminoácido 52 (por ejemplo, R52W ²⁶ , R52R ²⁸)

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 56 (por ejemplo, S56L) ⁵⁸
Posición de aminoácido 58 (por ejemplo, D58N) ⁶²
Posición de aminoácido 62 (por ejemplo, M62K) ⁹
Posición de aminoácido 66 (por ejemplo, S66N) ¹⁷
Posición de aminoácido 68 (por ejemplo, C68Y) ⁴¹
Posición de aminoácido 50 (por ejemplo, L50S) ^{5,7}
Posición de aminoácido 71 (por ejemplo, L71H) ⁷³
Posición de aminoácido 74 (por ejemplo, I74R) ⁷¹
Posición de aminoácido 77 (por ejemplo, P77A) ⁷³
Posición de aminoácido 87 (por ejemplo, T87R) ⁶⁷
Posición de aminoácido 90 (por ejemplo, F90F) ^{7,27}
Posición de aminoácido 93 (por ejemplo, Y93S ¹³ , Y93X ⁸⁸)
Posición de aminoácido 96 (por ejemplo, E96X) ⁸⁸
Posición de aminoácido 97 (por ejemplo, L97X) ³⁹
Posición de aminoácido 101 (por ejemplo, Q101Dfs*8) ⁹
Posición de aminoácido 107 (por ejemplo, C107R) ³⁶
Posición de aminoácido 112 (por ejemplo, I112T) ⁹
Posición de aminoácido 114 (por ejemplo, W114R) ^{2,9}
Posición de aminoácido 123 (por ejemplo M123T) ⁶⁷
Posición de aminoácido 127 (por ejemplo, T127Hfs*6) ⁵
Posición de aminoácido 129 (por ejemplo, C129Y) ²⁵
Posición de aminoácido 130 (por ejemplo, G130G) ⁷⁷
Posición de aminoácido 134 (por ejemplo, I134I) ²⁸
Posición de aminoácido 135 (por ejemplo, E135K ^{7,13} , E135L ¹⁷)
Posición de aminoácido 137 (por ejemplo, E137K) ⁷
Posición de aminoácido 157 (por ejemplo, Y157C) ⁵
Posición de aminoácido 161 (por ejemplo, C161X) ³⁹
Posición de aminoácido 164 (por ejemplo, V164Gfs*7 ³⁰ , V164I ⁸⁵)
Posición de aminoácido 167 (por ejemplo, A167S ⁴ , A167V ⁷ , A167T ^{9,17})
Posición de aminoácido 181 (por ejemplo, R181I) ³⁵
Posición de aminoácido 182 (por ejemplo, I182K) ⁹
Posición de aminoácido 183 (por ejemplo, M183V ⁸ , M183T ⁹)
Posición de aminoácido 185 (por ejemplo, M185I) ⁷³
Posición de aminoácido 186 (por ejemplo, E186G) ^{2,7,22}
Posición de aminoácido 188 (por ejemplo, G188W) ⁷³

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 194 (por ejemplo, S194P) ⁷
Posición de aminoácido 198 (por ejemplo, L198P) ⁷
Posición de aminoácido 199 (por ejemplo, N199Ifs*15X) ⁸⁸
Posición de aminoácido 206 (por ejemplo, I206V) ²⁸
Posición de aminoácido 212 (por ejemplo, A212T) ⁷³
Posición de aminoácido 217 (por ejemplo, M217R) ⁸⁸
Posición de aminoácido 225 (por ejemplo, T225P) ⁵⁷
Posición de aminoácido 226 (por ejemplo, S226L) ⁹
Posición de aminoácido 232 (por ejemplo, L232Cfs*9) ⁹
Posición de aminoácido 233 (por ejemplo, L233S) ⁸⁶
Posición de aminoácido 238 (por ejemplo, G238V) ^{2,7}
Posición de aminoácido 242 (por ejemplo, T242I) ^{5,7}
Posición de aminoácido 245 (por ejemplo, I245Tfs*26) ⁵⁷
Posición de aminoácido 256 (por ejemplo, A256G) ⁹
Posición de aminoácido 260 (por ejemplo, G260D) ⁷
Posición de aminoácido 269 (por ejemplo, Y269Y) ²⁷
Posición de aminoácido 277 (por ejemplo, A277E) ⁷⁷
Posición de aminoácido 283 (por ejemplo, E283D) ⁷³
Posiciones de aminoácido 212 y 283 (por ejemplo, A212T+E283D) ⁷³
Posición de aminoácido 284 (por ejemplo, V284L ^{7,39} , V284A ⁷ , V284D ²³)
Posición de aminoácido 297 (por ejemplo, E297G ^{1,2,5,7} , E297K ⁷)
Posición de aminoácido 299 (por ejemplo, R299K) ²⁸
Posición de aminoácido 303 (por ejemplo, R303K ⁸ , R303M ⁶³ R303fsX321 ⁸³)
Posición de aminoácido 304 (por ejemplo, Y304X) ²⁶
Posición de aminoácido 312 (por ejemplo, Q312H) ⁷
Posición de aminoácido 313 (por ejemplo, R313S) ^{5,7}
Posición de aminoácido 314 (por ejemplo, W314X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 318 (por ejemplo, K318Rfs*26) ²⁹
Posición de aminoácido 319 (por ejemplo, G319G) ⁷
Posición de aminoácido 327 (por ejemplo, G327E) ^{5,7}
Posición de aminoácido 330 (por ejemplo, W330X) ²⁴
Posición de aminoácido 336 (por ejemplo, C336S) ^{2,7}
Posición de aminoácido 337 (por ejemplo, Y337H) ^{21,27}
Posición de aminoácido 342 (por ejemplo, W342G) ⁵⁰
Posición de aminoácido 354 (por ejemplo, R354X) ⁹

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 361 (por ejemplo, Q361X ⁵⁷ , Q361R ⁷⁴)
Posición de aminoácido 366 (por ejemplo, V366V ²⁸ , V366D ⁵⁷)
Posición de aminoácido 368 (por ejemplo, V368Rfs*27) ⁵
Posición de aminoácido 374 (por ejemplo, G374S) ³
Posición de aminoácido 380 (por ejemplo, L380Wfs*18) ⁵
Posición de aminoácido 382 (por ejemplo, A382G) ⁸⁸
Δ Posiciones de aminoácido 382-388 ⁵
Δ Posiciones de aminoácido 383-389 ⁵⁷
Posición de aminoácido 387 (por ejemplo, R387H) ⁹
Posición de aminoácido 390 (por ejemplo, A390P) ^{5,7}
Posición de aminoácido 395 (por ejemplo, E395E) ²⁸
Posición de aminoácido 404 (por ejemplo, D404G) ⁹
Posición de aminoácido 410 (por ejemplo, G410D) ^{5,7}
Posición de aminoácido 413 (por ejemplo, L413W) ^{5,7}
Posición de aminoácido 415 (por ejemplo, R415X) ⁴²
Posición de aminoácido 416 (por ejemplo, I416I) ²⁷
Posición de aminoácido 420 (por ejemplo, I420T) ⁹
Posición de aminoácido 423 (por ejemplo, H423R) ¹³
Posición de aminoácido 432 (por ejemplo, R432T) ^{1,2,7}
Posición de aminoácido 436 (por ejemplo, K436N) ⁴⁰
Posición de aminoácido 440 (por ejemplo, D440E) ⁸⁸
Posición de aminoácido 444 (por ejemplo, V444A) ²
Posición de aminoácido 454 (por ejemplo, V454X) ⁴⁹
Posición de aminoácido 455 (por ejemplo, G455E) ⁹
Posición de aminoácido 457 (por ejemplo, S457Vfs*23) ⁸⁸
Posición de aminoácido 461 (por ejemplo, K461E) ^{2,7}
Posición de aminoácido 462 (por ejemplo, S462R) ⁸⁸
Posición de aminoácido 463 (por ejemplo, T463I) ^{5,7}
Posición de aminoácido 466 (por ejemplo, Q466K) ^{5,7}
Posición de aminoácido 470 (por ejemplo, R470Q ^{5,7} , R470X ⁹)
Posición de aminoácido 471 (por ejemplo, Y472X) ⁵
Posición de aminoácido 472 (por ejemplo, Y472C ^{5,27} , Y472X ¹⁴)
Posición de aminoácido 473 (por ejemplo, D473Q ³⁵ , D473V ⁸⁸)
Posición de aminoácido 475 (por ejemplo, C475X) ²⁹
Posición de aminoácido 481 (por ejemplo, V481E) ^{5,7}

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 482 (por ejemplo, D482G) ^{2,5,7}
Posición de aminoácido 484 (por ejemplo, H484Rfs*5) ⁹
Posición de aminoácido 487 (por ejemplo, R487H ² , R487P ⁵)
Posición de aminoácido 490 (por ejemplo, N490D) ^{5,7}
Posición de aminoácido 493 (por ejemplo, W493X) ⁸
Posición de aminoácido 496 (por ejemplo, D496V) ⁸⁸
Posición de aminoácido 498 (por ejemplo, I498T) ^{2,7}
Posición de aminoácido 499 (por ejemplo, G499E) ⁷³
Posición de aminoácido 501 (por ejemplo, V501G) ⁶⁸
Posición de aminoácido 504 (por ejemplo, E504K) ⁷⁹
Posición de aminoácido 510 (por ejemplo, T510T) ⁷
Posición de aminoácido 512 (por ejemplo, I512T) ^{5,7}
Posición de aminoácido 515 (por ejemplo, N515T ^{5,7} , N515D ⁶⁴)
Posición de aminoácido 516 (por ejemplo, I516M) ¹⁷
Posición de aminoácido 517 (por ejemplo, R517H) ^{5,7}
Posición de aminoácido 520 (por ejemplo, R520X) ⁵
Posición de aminoácido 523 (por ejemplo, A523G) ¹³
Posición de aminoácido 528 (por ejemplo, I528Sfs*21 ⁵ , I528X ⁹ , I528T ⁷³)
Posición de aminoácido 535 (por ejemplo, A535A ⁷ , A535X ⁸⁹)
Posición de aminoácido 540 (por ejemplo, F540L) ⁴⁶
Posición de aminoácido 541 (por ejemplo, I541L ^{5,7} , I541T ^{5,17})
Posición de aminoácido 546 (por ejemplo, Q546K ³⁹ , Q546H ⁷³)
Posición de aminoácido 548 (por ejemplo, F548Y) ^{5,7}
Posición de aminoácido 549 (por ejemplo, D549V) ⁹
Posición de aminoácido 554 (por ejemplo, E554K) ²¹
Posición de aminoácido 556 (por ejemplo, G556R) ⁶⁷
Posición de aminoácido 558 (por ejemplo, Q558H) ²³
Posición de aminoácido 559 (por ejemplo, M559T) ⁵⁷
Posición de aminoácido 562 (por ejemplo, G562D ^{5,7} , G562S ⁷³)
Posición de aminoácido 570 (por ejemplo, A570T ^{2,5,7} , A570V ²⁶)
Posición de aminoácido 575 (por ejemplo, R575X ^{2,5} , R575Q ²¹)
Posición de aminoácido 580 (por ejemplo, L580P) ⁵⁷
Posición de aminoácido 586 (por ejemplo, T586I) ⁷
Posición de aminoácido 587 (por ejemplo, S587X) ⁷³
Posición de aminoácido 588 (por ejemplo, A588V ^{5,7} , A588P ⁷³)

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 591 (por ejemplo, N591S) ^{2,7}
Posición de aminoácido 593 (por ejemplo, S593R) ^{2,7}
Posición de aminoácido 597 (por ejemplo, V597V ⁹ , V597L ¹³)
Posición de aminoácido 603 (por ejemplo, K603K) ⁵⁵
Posición de aminoácido 609 (por ejemplo, H609Hfs*46) ²⁶
Posición de aminoácido 610 (por ejemplo, I610Gfs*45 ⁹ , I610T57) ⁹
Posición de aminoácido 615 (por ejemplo, H615R) ²⁶
Posición de aminoácido 616 (por ejemplo, R616G ²⁸ , R616H ⁷³)
Posición de aminoácido 619 (por ejemplo, T619A) ²⁸
Posición de aminoácido 623 (por ejemplo, A623A) ²⁸
Posición de aminoácido 625 (por ejemplo, T625Nfs*5) ²⁶
Posición de aminoácido 627 (por ejemplo, I627T) ⁷
Posición de aminoácido 628 (por ejemplo, G628Wfs*3) ⁷⁰
Posición de aminoácido 636 (por ejemplo, E636G) ²
Posición de aminoácido 648 (por ejemplo, G648Vfs*6 ⁵ , G648V ⁵⁰)
Posición de aminoácido 655 (por ejemplo, T655I) ⁷
Posición de aminoácido 669 (por ejemplo, I669V) ²⁶
Posición de aminoácido 676 (por ejemplo, D676Y) ¹¹
Posición de aminoácido 677 (por ejemplo, M677V) ^{7,13}
Posición de aminoácido 679 (por ejemplo, A679V) ⁵⁸
Posición de aminoácido 685 (por ejemplo, G685W) ⁶⁰
Posición de aminoácido 696 (por ejemplo, R696W ²⁷ , R696Q ⁵⁸)
Posición de aminoácido 698 (por ejemplo, R698H ^{7,9} , R698K ⁶¹ , R698C ⁸⁸)
Posición de aminoácido 699 (por ejemplo, S699P) ⁹
Posición de aminoácido 701 (por ejemplo, S701P) ⁵⁸
Posición de aminoácido 702 (por ejemplo, Q702X) ⁸⁹
Posición de aminoácido 709 (por ejemplo, E709K) ⁷
Posición de aminoácido 710 (por ejemplo, P710P) ⁷
Posición de aminoácido 712 (por ejemplo, L712L) ²⁸
Posición de aminoácido 721 (por ejemplo, Y721C) ⁸⁸
Posición de aminoácido 729 (por ejemplo, D724N) ³⁹
Posición de aminoácido 731 (por ejemplo, P731S) ²³
Posición de aminoácido 740 (por ejemplo, P740Qfs*6) ⁷³
Posición de aminoácido 758 (por ejemplo, G758R) ⁵
Posición de aminoácido 766 (por ejemplo, G766R) ^{5,24}

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 772 (por ejemplo, Y772X) ⁵
Posición de aminoácido 804 (por ejemplo, A804A) ⁷
Posición de aminoácido 806 (por ejemplo, G806D ⁴⁴ , G806G ⁵⁵)
Posición de aminoácido 809 (por ejemplo, S809F) ⁸¹
Posición de aminoácido 817 (por ejemplo, G817G) ⁸⁸
Posición de aminoácido 818 (por ejemplo, Y818F) ⁷
Posición de aminoácido 824 (por ejemplo, G824E) ⁴²
Posición de aminoácido 825 (por ejemplo, G825G) ⁷³
Posición de aminoácido 830 (por ejemplo, R830Gfs*28) ⁷³
Posición de aminoácido 832 (por ejemplo, R832C ^{7,26} , R832H ⁴¹)
Posición de aminoácido 842 (por ejemplo, D842G) ²
Posición de aminoácido 848 (por ejemplo, D848N) ⁷³
Posición de aminoácido 855 (por ejemplo, G855R) ¹¹
Posición de aminoácido 859 (por ejemplo, T859R) ^{5,7}
Posición de aminoácido 865 (por ejemplo, A865V) ²⁷
Posición de aminoácido 866 (por ejemplo, S866A) ⁵⁷
Posición de aminoácido 868 (por ejemplo, V868D) ⁷³
Posición de aminoácido 869 (por ejemplo, Q869P) ⁷³
Posición de aminoácido 875 (por ejemplo, Q875X) ⁷³
Posición de aminoácido 877 (por ejemplo, G877R) ⁵⁶
Posición de aminoácido 879 (por ejemplo, I879R) ⁸⁸
Posición de aminoácido 893 (por ejemplo, A893V) ⁵⁷
Posición de aminoácido 901 (por ejemplo, S901R ¹⁷ , S901I ⁷³)
Posición de aminoácido 903 (por ejemplo, V903G) ⁵⁷
Δ Posición de aminoácido 919 ¹²
Posición de aminoácido 923 (por ejemplo, T923P) ^{2,7}
Posición de aminoácido 926 (por ejemplo, A926P) ^{2,7}
Posición de aminoácido 928 (por ejemplo, R928X ¹⁵ , R928Q ⁴⁰)
Posición de aminoácido 930 (por ejemplo, K930X ⁵ , K930Efs*79 ^{5,10} , K930Efs*49 ²⁶)
Posición de aminoácido 931 (por ejemplo, Q931P) ²⁷
Posición de aminoácido 945 (por ejemplo, S945N) ⁵⁷
Posición de aminoácido 948 (por ejemplo, R948C) ^{5,7,26}
Posición de aminoácido 958 (por ejemplo, R958Q) ²⁸
Posición de aminoácido 969 (por ejemplo, K969K) ⁸⁸
Δ Posiciones de aminoácido 969-972 ⁵

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 973 (por ejemplo, T973I) ⁵⁷
Posición de aminoácido 976 (por ejemplo, Q976R ⁵⁸ , Q976X ⁸⁸)
Posición de aminoácido 979 (por ejemplo, N979D) ^{5,7}
Posición de aminoácido 981 (por ejemplo, Y981Y) ²⁸
Posición de aminoácido 982 (por ejemplo, G982R) ^{2,5,7}
Posiciones de aminoácido 444 y 982 (por ejemplo, V444A+G982R) ³⁸
Posición de aminoácido 995 (por ejemplo, A995A) ²⁸
Posición de aminoácido 1001 (por ejemplo, R1001R) ⁹
Posición de aminoácido 1003 (por ejemplo, G1003R) ²⁴
Posición de aminoácido 1004 (por ejemplo, G1004D) ^{2,7}
Posición de aminoácido 1027 (por ejemplo, S1027R) ²⁶
Posición de aminoácido 1028 (por ejemplo, A1028A ^{7,10,88} , A1028E ⁸⁸)
Posición de aminoácido 1029 (por ejemplo, T1029K) ⁵
Posición de aminoácido 1032 (por ejemplo, G1032R) ¹²
Posición de aminoácido 1041 (por ejemplo, Y1041X) ⁹
Posición de aminoácido 1044 (por ejemplo, A1044P) ⁸⁸
Posición de aminoácido 1050 (por ejemplo, R1050C) ^{2,7,57}
Posición de aminoácido 1053 (por ejemplo, Q1053X) ⁵¹
Posición de aminoácido 1055 (por ejemplo, L1055P) ³⁶
Posición de aminoácido 1057 (por ejemplo, R1057X ² , R1057Q ⁵⁸)
Posición de aminoácido 1058 (por ejemplo, Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷ , Q1058X ⁷³)
Posición de aminoácido 1061 (por ejemplo, I1061Vfs*34) ⁹
Posición de aminoácido 1083 (por ejemplo, C1083Y) ⁴⁷
Posición de aminoácido 1086 (por ejemplo, T1086T) ²⁸
Posición de aminoácido 1090 (por ejemplo, R1090X) ^{2,5}
Posición de aminoácido 1099 (por ejemplo, L1099Lfs*38) ²⁶
Posición de aminoácido 1100 (por ejemplo, S1100Qfs*38) ¹³
Posición de aminoácido 1110 (por ejemplo, A1110E) ^{5,7}
Posición de aminoácido 1112 (por ejemplo, V1112F) ⁷⁰
Posición de aminoácido 1116 (por ejemplo, G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
Posición de aminoácido 1120 (por ejemplo, S1120N) ⁸⁸
Posición de aminoácido 1128 (por ejemplo, R1128H ^{2,7} , R1128C ^{5,7,13})
Posición de aminoácido 1131 (por ejemplo, D1131V) ²⁷
Posición de aminoácido 1144 (por ejemplo, S1144R) ⁷
Posición de aminoácido 1147 (por ejemplo, V1147X) ⁵

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 1153 (por ejemplo, R1153C ^{2,5,7} , R1153H ⁵)
Posición de aminoácido 1154 (por ejemplo, S1154P) ^{5,7}
Posición de aminoácido 1162 (por ejemplo, E1162X) ³⁹
Δ Posición de aminoácido 1165 ⁸⁸
Posición de aminoácido 1164 (por ejemplo, V1164Gfs*7)
Posición de aminoácido 1173 (por ejemplo, N1173D) ⁵⁷
Posición de aminoácido 1175 (por ejemplo, K1175T) ⁵⁸
Posición de aminoácido 1186 (por ejemplo, E1186K) ⁷
Posición de aminoácido 1192 (por ejemplo, A1192Efs*50) ⁹
Posición de aminoácido 1196 (por ejemplo, Q1196X) ⁸⁸
Posición de aminoácido 1197 (por ejemplo, L1197G) ⁷
Posición de aminoácido 1198 (por ejemplo, H1198R) ²⁷
Posición de aminoácido 1204 (por ejemplo, L1204P) ⁸⁸
Posición de aminoácido 1208 (por ejemplo Y1208C) ⁷³
Posición de aminoácido 1210 (por ejemplo, T1210P ^{5,7} , T1210F ⁵⁷)
Posición de aminoácido 1211 (por ejemplo, N1211D) ⁷
Posición de aminoácido 1212 (por ejemplo, V1212F) ³⁶
Posición de aminoácido 1215 (por ejemplo, Q1215X) ⁵
Posición de aminoácido 1221 (por ejemplo, R1221K) ⁵³
Posición de aminoácido 1223 (por ejemplo, E1223D) ⁷
Posición de aminoácido 1226 (por ejemplo, R1226P) ⁷³
Posición de aminoácido 1228 (por ejemplo, A1228V) ⁷
Posición de aminoácido 1231 (por ejemplo, R1231W ^{5,7} , R1231Q ^{5,7})
Posición de aminoácido 1232 (por ejemplo, A1232D) ¹⁷
Posición de aminoácido 1235 (por ejemplo, R1235X) ^{5,12}
Posición de aminoácido 1242 (por ejemplo, L1242I) ^{5,7}
Posición de aminoácido 1243 (por ejemplo, D1243G) ⁶⁷
Posición de aminoácido 1249 (por ejemplo, L1249X) ⁷³
Posición de aminoácido 1256 (por ejemplo, T1256fs*1296) ⁸³
Posición de aminoácido 1268 (por ejemplo, R1268Q) ^{2,7}
Posición de aminoácido 1276 (por ejemplo, R1276H) ³⁰
Posición de aminoácido 1283 (por ejemplo, A1283A ²⁸ , A1283V ⁸⁸)
Posición de aminoácido 1292 (por ejemplo, G1292V) ⁷³
Posición de aminoácido 1298 (por ejemplo, G1298R) ⁵
Posición de aminoácido 1302 (por ejemplo, E1302X) ⁵

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 1311 (por ejemplo, Y1311X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 1316 (por ejemplo, T1316Lfs*64) ¹⁵
Posición de aminoácido 1321 (por ejemplo, S1321N) ⁵⁷
Intrón 4 ((+3)A>C) ¹
IVS4-74A>T ⁸⁹
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 5 c.3901G>A ⁵
Mutación del sitio de empalme 5; Intrón 7 c.6111G>A ⁵
Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A ¹⁴
IVS7+5G>A ⁴⁰
IVS8+1G>C ⁷⁶
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081delG ⁵
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>T ⁵
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 9 c.9081G>A ⁵
Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T ¹⁴
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 13 c.143513_1435-8del ⁵
Mutación del sitio de empalme IVS13del-13^8 ¹⁴
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 16 c.20128T>G ⁵
Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G ¹⁴
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>T ⁵
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>A ⁵
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 18 c.21781G>C ⁵
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 18 c.21792A>G ⁵
Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A ¹⁴
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+1G>T ⁵
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 19 c.2343+2T>C ⁵
Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C ¹⁴
Mutación del sitio de empalme IVS19+1G>A ²²
Mutación del sitio de empalme 3' Intrón 21 c.26112A>T ⁵
IVS22+3A>G ⁸⁹
IVS 23-8 G-A ³⁶
IVS24+5G>A ⁵¹
Mutación del sitio de empalme 5' Intrón 24 c.32131delG ⁵
IVS35-6C>G ⁸⁹
Mutación de empalme putativa 1198-1G>C ¹⁷
Mutación de empalme putativa 1810-3C>G ¹⁷

Mutación de empalme putativa 2178+1G>A ¹⁷
Mutación de empalme putativa 2344-1G>T ¹⁷
Mutación de empalme putativa c.2611-2A>T ³⁹
Mutación de empalme putativa 3213+1_3213+2delinsA ¹⁷
c.-24C>A ^{44,78}
c.76 13 G>T ⁹
c.77-19T>A ⁵²
c.90_93delGAAA ¹⁸
c.124G>A ⁶⁹
c.150 +3 A>C ¹⁰
174C>T ⁵⁴
c.245T>C ⁸⁷
c.249_250insT ¹⁸
270T>C ⁵⁴
402C>T ⁵⁴
585G>C ⁵⁴
c.611+1G>A ⁷⁰
c.611+4A>G ³⁶
c.612-15_-6del10bp ⁵⁵
c.625A>C ³¹
c.627+5G>T ³¹
c.625A>C/ c.627+5G>T ³¹
696G>T ⁵⁴
c.784+1G>C ⁴⁹
807T>C ⁵⁴
c.886C>T ³¹
c.890A>G ⁵⁹
c.908+1G>A ⁵⁷
c.908+5G>A ⁵⁵
c.908delG ⁵⁹
c.909-15A>G ⁶⁶
957A>G ⁵⁴
c.1084-2A>G ⁵⁷
Supresión 1bp 1145 ⁹⁰
1281C>T ^{54,57}

ES 2 973 355 T3

c.1309-165C > T ¹⁹
c.1434 + 174G > A ¹⁹
c.1434 + 70C > T ¹⁹
c.1S30C>A ⁵⁷
c.1587-1589delCTT ³¹
c.1621A>C ^{33,59}
c.1638+32T>C ⁶⁶
c.1638+80C>T ⁶⁶
1671C>T ⁵⁴
1791G>T ⁵⁴
1939delA ¹⁴
c.2075+3A>G ⁵³
c.2081T>A ³¹
c.2093G>A ⁶⁵
2098delA ¹⁶
c.2138-8T>G ⁶⁷
2142A>G ⁵⁴
c.2178+1G>T ^{36,39}
c.2179-17C>A ⁶⁶
c.2344-157T>G ⁶⁶
c.2344-17T>C ⁶⁶
c.2417G>A ⁷⁸
c.2541delG ⁸⁷
c.2620C>T ^{32,33}
c.2815-8A>G ⁵⁵
c.3003A>G ³⁷
c.3084A>G ^{48,54}
c.3213 +4 A>G ^{9,37}
c.3213 +5 G>A ⁹
c.3268C>T ⁷⁵
3285A>G ⁵⁴
c.3382C>T ⁷⁵
3435A>G ⁵⁴
c.3491delT ⁷²
c.3589C>T ⁵⁷

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

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

Posición de aminoácido 1 (por ejemplo, M1V) ⁹
Posición de aminoácido 4 (por ejemplo, S4X) ⁶⁴
Posición de aminoácido 19 (por ejemplo, G19R) ⁵⁶
Posición de aminoácido 25 (por ejemplo, S25X) ¹⁴
Posición de aminoácido 26 (por ejemplo, Y26Ifs*7) ³⁸
Posición de aminoácido 50 (por ejemplo, L50S) ^{7,57}
Posición de aminoácido 52 (por ejemplo, R52W) ²⁶
Posición de aminoácido 58 (por ejemplo, D58N) ⁶²
Posición de aminoácido 62 (por ejemplo, M62K) ⁹
Posición de aminoácido 66 (por ejemplo, S66N) ¹⁷
Posición de aminoácido 68 (por ejemplo, C68Y) ⁴¹
Posición de aminoácido 93 (por ejemplo, Y93S) ¹³
Posición de aminoácido 101 (por ejemplo, Q101Dfs*8) ⁹
Posición de aminoácido 107 (por ejemplo, C107R) ³⁶
Posición de aminoácido 112 (por ejemplo, I112T) ⁹
Posición de aminoácido 114 (por ejemplo, W114R) ^{2,9}
Posición de aminoácido 129 (por ejemplo, C129Y) ²⁵
Posición de aminoácido 135 (por ejemplo, E135K ¹³ , E135L ¹⁷)
Posición de aminoácido 167 (por ejemplo, A167V ⁷ , A167T ^{9,17})
Posición de aminoácido 182 (por ejemplo, I182K) ⁹
Posición de aminoácido 183 (por ejemplo, M183V ⁸ , M183T ⁹)
Posición de aminoácido 225 (por ejemplo, T225P) ⁵⁷
Posición de aminoácido 226 (por ejemplo, S226L) ⁹

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 232 (por ejemplo, L232Cfs*9) ⁹
Posición de aminoácido 233 (por ejemplo, L233S) ⁸⁶
Posición de aminoácido 238 (por ejemplo, G238V) ^{2,7}
Posición de aminoácido 242 (por ejemplo, T242I) ⁷
Posición de aminoácido 245 (por ejemplo, I245Tfs*26) ⁵⁷
Posición de aminoácido 256 (por ejemplo, A256G) ⁹
Posición de aminoácido 260 (por ejemplo, G260D) ⁵⁷
Posición de aminoácido 284 (por ejemplo, V284L) ⁷
Posición de aminoácido 297 (por ejemplo, E297G) ^{2,7}
Posición de aminoácido 303 (por ejemplo, R303K ⁸ , R303M ⁶³ , R303fsX321 ⁸³)
Posición de aminoácido 304 (por ejemplo, Y304X) ²⁶
Posición de aminoácido 312 (por ejemplo, Q312H) ⁷
Posición de aminoácido 313 (por ejemplo, R313S) ⁷
Posición de aminoácido 314 (por ejemplo, W314X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 318 (por ejemplo, K318Rfs*26) ²⁹
Posición de aminoácido 327 (por ejemplo, G327E) ⁷
Posición de aminoácido 330 (por ejemplo, V330X) ²⁴
Posición de aminoácido 336 (por ejemplo, C336S) ^{2,7}
Posición de aminoácido 337 (por ejemplo, Y337H) ²¹
Posición de aminoácido 342 (por ejemplo, W342G) ⁵⁰
Posición de aminoácido 354 (por ejemplo, R354X) ⁹
Posición de aminoácido 361 (por ejemplo, Q361X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 366 (por ejemplo, V366D) ⁵⁷
Posición de aminoácido 386 (por ejemplo, G386X) ³⁴
Δ Posiciones de aminoácido 383-389 ⁵⁷
Posición de aminoácido 387 (por ejemplo, R387H) ⁹
Posición de aminoácido 390 (por ejemplo, A390P) ⁹
Posición de aminoácido 410 (por ejemplo, G410D) ⁷
Posición de aminoácido 413 (por ejemplo, L413W) ⁷
Posición de aminoácido 415 (por ejemplo, R415X) ⁴²
Posición de aminoácido 420 (por ejemplo, I420T) ⁹
Posición de aminoácido 454 (por ejemplo, V454X) ⁴⁹
Posición de aminoácido 455 (por ejemplo, G455E) ⁹
Posición de aminoácido 461 (por ejemplo, K461E) ^{2,7}
Posición de aminoácido 463 (por ejemplo, T463I) ⁷

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 466 (por ejemplo, Q466K) ⁷
Posición de aminoácido 470 (por ejemplo, R470Q ⁷ , R470X ⁹)
Posición de aminoácido 472 (por ejemplo, Y472X ¹⁴ , Y472C ²⁷)
Posición de aminoácido 475 (por ejemplo, C475X) ²⁹
Posición de aminoácido 481 (por ejemplo, V481E) ⁷
Posición de aminoácido 482 (por ejemplo, D482G) ^{2,7}
Posición de aminoácido 484 (por ejemplo, H484Rfs*5) ⁹
Posición de aminoácido 487 (por ejemplo, R487H ² , R487P ⁸⁴)
Posición de aminoácido 490 (por ejemplo, N490D) ⁷
Posición de aminoácido 493 (por ejemplo, W493X) ⁸
Posición de aminoácido 498 (por ejemplo, I498T) ⁷
Posición de aminoácido 501 (por ejemplo, V501G) ⁶⁸
Posición de aminoácido 512 (por ejemplo, I512T) ⁷
Posición de aminoácido 515 (por ejemplo, N515T ⁷ , N515D ⁶⁴)
Posición de aminoácido 516 (por ejemplo, I516M) ¹⁷
Posición de aminoácido 517 (por ejemplo, R517H) ⁷
Posición de aminoácido 520 (por ejemplo, R520X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 523 (por ejemplo, A523G) ¹³
Posición de aminoácido 528 (por ejemplo, I528X) ⁹
Posición de aminoácido 540 (por ejemplo, F540L) ⁴⁶
Posición de aminoácido 541 (por ejemplo, I541L ⁷ , I541T ¹⁷)
Posición de aminoácido 548 (por ejemplo, F548Y) ⁷
Posición de aminoácido 549 (por ejemplo, D549V) ⁹
Posición de aminoácido 554 (por ejemplo, E554K) ²¹
Posición de aminoácido 559 (por ejemplo, M559T) ⁵⁷
Posición de aminoácido 562 (por ejemplo, G562D) ⁷
Posición de aminoácido 570 (por ejemplo, A570T ⁷ , A570V ²⁶)
Posición de aminoácido 575 (por ejemplo, R575X ² , R575Q ²¹)
Posición de aminoácido 588 (por ejemplo, A588V) ⁷
Posición de aminoácido 591 (por ejemplo, N591S) ^{9,17}
Posición de aminoácido 593 (por ejemplo, S593R) ^{2,7}
Posición de aminoácido 597 (por ejemplo, V597V ⁹ , V597L ¹³)
Posiciones de aminoácido 591 y 597 (por ejemplo, N591S+V597V) ⁹
Posición de aminoácido 603 (por ejemplo, K603K) ⁵⁵
Posición de aminoácido 609 (por ejemplo, H609Hfs*46) ²⁶

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 610 (por ejemplo, I610Gfs*45) ⁹
Posición de aminoácido 615 (por ejemplo, H615R) ²⁶
Posición de aminoácido 625 (por ejemplo, T625Nfs*5) ²⁶
Posición de aminoácido 627 (por ejemplo, I627T) ⁷
Posición de aminoácido 636 (por ejemplo, E636G) ²
Posición de aminoácido 669 (por ejemplo, I669V) ²⁶
Posición de aminoácido 698 (por ejemplo, R609H) ⁹
Posiciones de aminoácido 112 y 698 (por ejemplo, I112T+R698H) ⁹
Posición de aminoácido 699 (por ejemplo, S699P) ⁹
Posición de aminoácido 766 (por ejemplo, G766R) ²⁴
Posición de aminoácido 806 (por ejemplo, G806G) ⁵⁵
Posición de aminoácido 824 (por ejemplo, G824E) ⁴²
Posición de aminoácido 832 (por ejemplo, R832C ^{7,26} , R832H ⁴¹)
Posición de aminoácido 842 (por ejemplo, D842G) ²
Posición de aminoácido 859 (por ejemplo, T859R) ¹
Posición de aminoácido 865 (por ejemplo, A865V) ⁴⁵
Posición de aminoácido 877 (por ejemplo, G877R) ⁵⁶
Posición de aminoácido 893 (por ejemplo, A893V) ⁵⁷
Posición de aminoácido 901 (por ejemplo, S901R) ¹⁷
Posición de aminoácido 903 (por ejemplo, V903G) ⁵⁷
Δ Posición de aminoácido 919 ¹²
Posición de aminoácido 928 (por ejemplo, R928X) ^{15,21}
Posición de aminoácido 930 (por ejemplo, K930Efs*79 ¹⁰ , K930Efs*49 ²⁶)
Posición de aminoácido 948 (por ejemplo, R948C) ^{7,26}
Posición de aminoácido 979 (por ejemplo, N979D) ⁷
Posición de aminoácido 982 (por ejemplo, G982R) ^{2,7}
Posiciones de aminoácido 444 y 982 (por ejemplo, V444A+G982R) ³⁸
Posición de aminoácido 1001 (por ejemplo, R1001R) ⁹
Posición de aminoácido 1003 (por ejemplo, G1003R) ²⁴
Posición de aminoácido 1004 (por ejemplo, G1004D) ^{2,7}
Posición de aminoácido 1027 (por ejemplo, S1027R) ²⁶
Posición de aminoácido 1028 (por ejemplo, A1028A) ¹⁰
Posición de aminoácido 1032 (por ejemplo, G1032R) ¹²
Posición de aminoácido 1041 (por ejemplo, Y1041X) ⁹
Posición de aminoácido 1050 (por ejemplo, R1050C) ⁵⁷

ES 2 973 355 T3

Posición de aminoácido 1053 (por ejemplo, Q1053X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 1055 (por ejemplo, L1055P) ³⁶
Posición de aminoácido 1057 (por ejemplo, R1057X) ²
Posición de aminoácido 1058 (por ejemplo, Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷)
Posición de aminoácido 1061 (por ejemplo, I1061Vfs*34) ⁹
Posición de aminoácido 1083 (por ejemplo, C1083Y) ⁴⁷
Posición de aminoácido 1090 (por ejemplo, R1090X) ²
Posición de aminoácido 1099 (por ejemplo, L1099Lfs*38) ²⁶
Posición de aminoácido 1100 (por ejemplo, S1100Qfs*38) ¹³
Posición de aminoácido 1110 (por ejemplo, A1110E) ⁷
Posición de aminoácido 1116 (por ejemplo, G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
Posición de aminoácido 1128 (por ejemplo, R1128C) ^{7,13}
Posición de aminoácido 1131 (por ejemplo, D1131V) ²⁷
Posición de aminoácido 1144 (por ejemplo, S1144R) ⁷
Posición de aminoácido 1153 (por ejemplo, R1153C ^{2,7} , R1153H ^{7,26})
Posición de aminoácido 1154 (por ejemplo, S1154P) ⁷
Posición de aminoácido 1173 (por ejemplo, N1173D) ⁵⁷
Posición de aminoácido 1192 (por ejemplo, A1192Efs*50) ⁹
Posición de aminoácido 1198 (por ejemplo, H1198R) ²⁷
Posición de aminoácido 1210 (por ejemplo, T1210P ⁷ , T1210F ⁵⁷)
Posición de aminoácido 1211 (por ejemplo, N1211D) ⁷
Posición de aminoácido 1212 (por ejemplo, V1212F) ³⁶
Posición de aminoácido 1231 (por ejemplo, R1231W ⁷ , R1223Q ⁷)
Posición de aminoácido 1232 (por ejemplo, A1232D) ¹⁷
Posición de aminoácido 1235 (por ejemplo, R1235X) ¹²
Posición de aminoácido 1242 (por ejemplo, L1242I) ⁷
Posición de aminoácido 1256 (por ejemplo, T1256fs*1296) ⁸³
Posición de aminoácido 1268 (por ejemplo, R1268Q) ^{2,7}
Posición de aminoácido 1302 (por ejemplo E1302X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 1311 (por ejemplo, Y1311X) ⁵⁷
Posición de aminoácido 1316 (por ejemplo, T1316Lfs*64) ¹⁵
Intrón 4 ((+3)A>C) ¹
Mutación del sitio de empalme IVS7+1G>A ¹⁴
IVS8+1G>C ⁷⁶
Mutación del sitio de empalme IVS9+1G>T ¹⁴

Mutación del sitio de empalme IVS13del-13^8 ¹⁴
Mutación del sitio de empalme IVS16-8T>G ¹⁴
Mutación del sitio de empalme IVS18+1G>A ¹⁴
Mutación del sitio de empalme IVS19+2T>C ¹⁴
IVS 23-8 G-A ³⁶
IVS24+5G>A ⁵¹
Mutación de empalme putativa 1198-1G>C ¹⁷
Mutación de empalme putativa 1810-3C>G ¹⁷
Mutación de empalme putativa 2178+1G>A ¹⁷
Mutación de empalme putativa 2344-1G>T ¹⁷
Mutación de empalme putativa 3213+1_3213+2delinsA17
c.-24C>A ⁷⁸
c.76 13 G>T ⁹
c.77-19T>A ⁵²
c.90_93delGAAA ¹⁸
c.124G>A ⁶⁹
c.150 +3 A>C ¹⁰
c.249_250insT ¹⁸
c.611+1G>A ⁸⁴
c.611+4A>G ³⁶
c.612-15_-6del10bp ⁵⁵
c.625A>C ³¹
c.627+5G>T ³¹
c.625A>C/ c.627+5G>T ³¹
c.886C>T ³¹
c.890A>G ⁵⁹
c.908+1G>A ⁵⁷
c.908+5G>A ⁵⁵
c.908delG ⁵⁹
Supresión 1bp 1273 ⁹¹
c.1084-2A>G ⁵⁷
c.1445A>G ⁵⁹
c.1587-1589delCTT ³¹
c.1621A>C ⁵⁹
1939delA ¹⁴

c.2081T>A ³¹
2098delA ¹⁶
c.2343+1 G>T ⁸⁰
c.2178+1G>T ³⁶
c.2417G>A ⁷⁸
c.2620C>T ³²
c.2815-8A>G ⁶⁵
c.3003A>G ³⁷
c.3213 +4 A>G ^{9,37}
c.3213 +5 G>A ⁹
c.3268C>T ⁷⁵
c.3382C>T ⁷⁵
c.3765(+1 +5)del5 ⁴²
c.3767-3768insC ⁶
1145delC ⁸
Ex13_Ex17del ⁸²
^A Una mutación para 'X' denota un codón de parada temprano

Referencias para las Tablas 4 y 5

- ¹ Noe et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(3), p. 536-543.
- ² Lam et al., Am J Physiol Cell Physiol. 2007, vol. 293(5), p. C1709-16.
- 5 ³ Stindt et al., Liver Int. 2013, vol. 33(10), p. 1527-1735.
- ⁴ Gao et al., Shandong Yiyao 2012, vol. 52(10), p. 14-16.
- ⁵ Strautnieks et al., Gastroenterology. 2008, vol. 134(4), p. 1203-1214.
- ⁶ Kagawa et al., Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2008, vol. 294(1), p. G58-67.
- ⁷ Byrne et al., Hepatology. 2009, vol. 49(2), p. 553-567.
- 10 ⁸ Chen et al., J Pediatr. 2008, vol. 153(6), p. 825-832.
- ⁹ Davit-Spraul et al., Hepatology 2010, vol. 51(5), p. 1645-1655.
- ¹⁰ Dröge et al., Sci Rep. 2016, vol. 6: 24827.
- ¹¹ Lang et al., Pharmacogenet Genomics. 2007, vol. 17(1), p. 47-60.
- ¹² Ellinger et al., World J Gastroenterol. 2017, vol. 23(29), p. :5295-5303.
- 15 ¹³ Vitale et al., J Gastroenterol. 2018, vol. 53(8), p. 945-958.
- ¹⁴ Knisely et al., Hepatology. 2006, vol. 44(2), p. 478-86.
- ¹⁵ Ellis et al., Hepatology. 2018, vol. 67(4), p. 1531-1545.
- ¹⁶ Lam et al., J Hepatol. 2006, vol. 44(1), p. 240-242.
- ¹⁷ Varma et al., Hepatology 2015, vol. 62(1), p. 198-206.

- ¹⁸ Treepongkaruna et al., *World J Gastroenterol.* 2009, vol. 15(34), p. 4339-4342.
- ¹⁹ Zarenezhad et al., *Hepatitis Monthly*: 2017, vol. 17(2); e43500.
- ²⁰ Hayashi et al., *Hepatol Res.* 2016, vol. 46(2), p. 192-200.
- ²¹ Guorui et al., *Linchuang Erke Zazhi* 2013, vol. 31(10), 905-909.
- 5 ²² van Mil et al., *Gastroenterology*. 2004, vol. 127(2), p. 379-384.
- ²³ Anzivino et al., *Dig Liver Dis.* 2013, vol. 45(3), p. 226-232.
- ²⁴ Park et al., *World J Gastroenterol.* 2016, vol. 22(20), p. 4901-4907.
- ²⁵ Imagawa et al., *J Hum Genet.* 2018, vol. 63(5), p. 569-577.
- ²⁶ Giovannoni et al., *PLoS One.* 2015, vol. 10(12): e0145021.
- 10 ²⁷ Hu et al., *Mol Med Rep.* 2014, vol. 10(3), p. 1264-1274.
- ²⁸ Lang et al., *Drug Metab Dispos.* 2006, vol. 34(9), p. 1582-1599.
- ²⁹ Masahata et al., *Transplant Proc.* 2016, vol. 48(9), p. 3156-3162.
- ³⁰ Holz et al., *Hepatol Commun.* 2018, vol. 2(2), p. 152-154.
- ³¹ Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, No. 1, Supp. Supplement 1, pp. S180. Abstract Number: OP284.
- 15 ³² Francalanci et al., *Laboratory Investigation* 2011, vol. 91, Supp. SUPPL. 1, pp. 360A. Abstract Number: 1526.
- ³³ Francalanci et al., *Digestive and Liver Disease* 2010, vol. 42, Supp. SUPPL. 1, pp. S16. Abstract Number: T.N.5.
- ³⁴ Shah et al., *J Pediatr Genet.* 2017, vol. 6(2), p. 126-127.
- ³⁵ Gao et al., *Hepatitis Monthly* 2017, vol. 17(10), e55087/1-e55087/6.
- ³⁶ Evason et al., *Am J Surg Pathol.* 2011, vol. 35(5), p. 687-696.
- 20 ³⁷ Davit-Spraul et al., *Mol Genet Metab.* 2014, vol. 113(3), p. 225-229.
- ³⁸ Maggiore et al., *J Hepatol.* 2010, vol. 53(5), p. 981-6.
- ³⁹ McKay et al., *Version 2. F1000Res.* 2013; 2: 32. DOI: 10.12688/f1000research.2-32.v2
- ⁴⁰ Liu et al., *Pediatr Int.* 2013, vol. 55(2), p. 138-144.
- ⁴¹ Waisbourd-Zinman et al., *Ann Hepatol.* 2017, vol. 16(3), p. 465-468.
- 25 ⁴² Griffin, et al., *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2016, vol. 2016. Abstract Number: A200. Meeting Info: 2016 Canadian Digestive Diseases Week, CDDW 2016. Montreal, QC, United States. 26 Feb 2016-29 Feb 2016
- ⁴³ Qiu et al., *Hepatology* 2017, vol. 65(5), p. 1655-1669.
- ⁴⁴ Imagawa et al., *Sci Rep.* 2017, 7:41806.
- 30 ⁴⁵ Kang et al., *J Pathol Transl Med.* 2019 May 16. doi: 10.4132/jptm.2019.05.03. [Epub ahead of print]
- ⁴⁶ Takahashi et al., *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2007, vol. 19(11), p. 942-6.
- ⁴⁷ Shimizu et al., *Am J Transplant.* 2011, vol. 11(2), p. 394-398.
- ⁴⁸ Krawczyk et al., *Ann Hepatol.* 2012, vol. 11(5), p. 710-744.
- ⁴⁹ Sharma et al., *BMC Gastroenterol.* 2018, vol. 18(1), p. 107.
- 35 ⁵⁰ Sattler et al., *Journal of Hepatology* 2017, vol. 66, No. 1, Suppl. S, pp. S177. Meeting Info.: International Liver Congress / 52nd Annual Meeting of the European-Association-for-the-Study-of-the-Liver. Amsterdam, NETHERLANDS. April 19 -23, 2017. European Assoc Study Liver.
- ⁵¹ Jung et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007, vol. 44(4), p. 453-458.

- ⁵² Sciveres. Digestive and Liver Disease 2010, vol. 42, Suppl. SUPPL. 5, pp. S329. Abstract Number: CO18. Meeting Info: 17th National Congress SIGENP. Pescara, Italy. 07 Oct 2010-09 Oct 2010
- ⁵³ Sohn et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2019, vol. 22(2), p. 201-206.
- ⁵⁴ Ho et al., *Pharmacogenet Genomics*. 2010, vol. 20(1), p. 45-57.
- 5 ⁵⁵ Wang et al., *Hepatol Res*. 2018, vol. 48(7), p. 574-584.
- ⁵⁶ Shaprio et al., *J Hum Genet*. 2010, vol. 55(5), p. 308-313.
- ⁵⁷ Bounford. University of Birmingham. Dissertation Abstracts International, (2016) Vol. 75, No. 1C. Order No.: AAI10588329. ProQuest Dissertations & Theses.
- ⁵⁸ Stolz et al., *Aliment Pharmacol Ther*. 2019, vol. 49(9), p. 1195-1204.
- 10 ⁵⁹ Jankowska et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2014, vol. 58(1), p. 92-95.
- ⁶⁰ Kim. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016, vol. 62, Suppl. SUPPL. 1, pp. 620. Abstract Number: H-P-045. Meeting Info: 49th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN 2016. Athens, Greece. 25 May 2016-28 May 2016.
- 15 ⁶¹ Pauli-Magnus et al., *Hepatology* 2003, vol. 38, No. 4 Suppl. 1, pp. 518A. print. Meeting Info.: 54th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, MA, USA. October 24-28, 2003. American Association for the Study of Liver Diseases.
- ⁶² Li et al., *Hepatology International* 2017, vol. 11, No. 1, Suppl. Supplement 1, pp. S362. Abstract Number: PP0347. Meeting Info: 26th Annual Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver, APASL 2017. Shanghai, China. 15 Feb 2017-19 Feb 2017.
- 20 ⁶³ Rumbo et al., *Transplantation* 2018, vol. 102, No. 7, Suppl. Supplement 1, pp. S848. Abstract Number: P.752. Meeting Info: 27th International Congress of The Transplantation Society, TTS 2018. Madrid, Spain. 30 Jun 2018-05 Jul 2018.
- ⁶⁴ Lee et al., *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2017, vol. 20(2), p. 114-123.
- ⁶⁵ Sherrif et al., *Liver international: official journal of the International Association for the Study of the Liver* 2013, vol. 33, No. 8, pp. 1266-1270.
- 25 ⁶⁶ Blackmore et al., *J Clin Exp Hepatol*. 2013, vol. 3(2), p. 159-161.
- ⁶⁷ Matte et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010, vol. 51(4), p. 488-493.
- ⁶⁸ Lin et al., *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2018, vol. 20(9), p. 758-764.
- ⁶⁹ Harmanci et al., *Experimental and Clinical Transplantation* 2015, vol. 13, Suppl. SUPPL. 2, pp. 76. Abstract Number: P62. Meeting Info: 1st Congress of the Turkic World Transplantation Society. Astana, Kazakhstan. 20 May 30 2015-22 May 2015.
- ⁷⁰ Herbst et al., *Mol Cell Probes*. 2015, vol. 29(5), p. 291-298.
- ⁷¹ Moghadamrad et al., *Hepatology*. 2013, vol. 57(6), p. 2539-2541.
- 35 ⁷² Holz et al., *Zeitschrift fur Gastroenterologie* 2016, vol. 54, No. 8. Abstract Number: KV275. Meeting Info: Viszeralmedizin 2016, 71. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft fur Gastroenterologie, Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten mit Sektion Endoskopie - 10. Herbsttagung der Deutschen Gesellschaft fur Allgemein- und Viszeralchirurgie. Hamburg, Germany. 21 Sep 2016-24 Sep 2016.
- ⁷³ Wang et al., *PLoS One*. 2016; vol. 11(4): e0153114.
- ⁷⁴ Hao et al., *International Journal of Clinical and Experimental Pathology* 2017, vol. 10(3), p. 3480-3487.
- ⁷⁵ Arnell et al., *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2010, vol. 51(4), p. 494-499.
- 40 ⁷⁶ Sharma et al., *Indian Journal of Gastroenterology* 2017, vol. 36, No. 1, Suppl. Supplement 1, pp. A99. Abstract Number: M-20. Meeting Info: 58th Annual Conference of the Indian Society of Gastroenterology, ISGCON 2017. Bhubaneswar, India. 14 Dec 2017-17 Dec 2017.
- ⁷⁷ Beauséjour et al., *Can J Gastroenterol*. 2011, vol. 25(6), p. 311-314.

⁷⁸ Imagawa et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2016, vol. 63, Supp. Supplement 2, pp. S51. Abstract Number: 166. Meeting Info: World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition 2016. Montreal, QC, Canada. 05 Oct 2016-08 Oct 2016.

⁷⁹ Peng et al., Zhonghua er ke za zhi (Chinese journal of pediatrics) 2018, vol. 56, No. 6, pp. 440-444.

5 ⁸⁰ Tibesar et al., Case Rep Pediatr. 2014, vol. 2014: 185923.

⁸¹ Ng et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 2018, vol. 66, Supp. Supplement 2, pp. 860. Abstract Number: H-P-127. Meeting Info: 51st Annual Meeting European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN 2018. Geneva, Switzerland. 09 May 2018-12 May 2018.

⁸² Wong et al., Clin Chem. 2008, vol. 54(7), p. 1141-1148.

10 ⁸³ Pauli-Magnus et al., J Hepatol. 2005, vol. 43(2), p. 342-357.

⁸⁴ Jericho et al., Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 60, vol. 3, p. 368-374.

⁸⁵ Scheimann et al., Gastroenterology 2007, vol. 132, No. 4, Suppl. 2, pp. A452. Meeting Info.:

Digestive Disease Week Meeting/108th Annual Meeting of the American-Gastroenterological-Association. Washington, DC, USA. May 19 -24, 2007. Amer Gastroenterol Assoc; Amer Assoc Study Liver Dis; Amer Soc Gastroin-

15 testinal Endoscopy; Soc Surg Alimentary Tract.

⁸⁶ Jaquotot-Haerranz et al., Rev Esp Enferm Dig. 2013, vol. 105(1), p. 52-54.

⁸⁷ Khosla et al., American Journal of Gastroenterology 2015, vol. 110, No. Suppl. 1, pp. S397. Meeting Info.: 80th Annual Scientific Meeting of the American-College-of-Gastroenterology. Honolulu, HI, USA. October 16 -21, 2015.

⁸⁸ Dröge et al., J Hepatol. 2017, vol. 67(6), p. 1253-1264.

20 ⁸⁹ Liu et al., Liver International 2010, vol. 30(6), p. 809-815.

⁹⁰ Chen et al., Journal of Pediatrics 2002, vol. 140(1), p. 119-124.

⁹¹ Patente EE.UU. No. 9,295,677

En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

25 En el presente documento se divulgan los métodos de tratamiento de PFIC (por ejemplo, PFIC-1 y PFIC-2) en un sujeto que incluyen la realización de un ensayo en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC (por ejemplo, una mutación ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 o Myo5b) y la administración (por ejemplo, administrar específica o selectivamente) 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 realizaciones, la mutación es una mutación ATP8B1 o ABCB11. Por ejemplo, una mutación como la que se indica en cualquiera de las Tablas 1-4. En algunas realizaciones, la mutación en ATP8B1 se selecciona de L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X y G1040R. En algunas realizaciones, la mutación en ABCB11 se selecciona de A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C y R1268Q.

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

45 En algunas realizaciones, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto a través del uso de cualquier prueba reconocida por la técnica, que incluye la secuenciación de nueva generación (NGS). En algunas realizaciones, se determina que el sujeto tiene una mutación asociada con PFIC utilizando 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 al realizar cualquiera de los ejemplos no limitantes de ensayos descritos en este documento. Se describen métodos adicionales para diagnosticar la PFIC en Gunaydin, M. et al., *Hepat Med.* 2018, vol. 10, p. 95-104.

En algunas realizaciones, el tratamiento de PFIC (por ejemplo, PFIC-1 o PFIC-2) disminuye el nivel de ácidos biliares séricos en el sujeto. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos 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. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, en un 10 % a 40 %, en un 20 % a un 50 %, en un 30 % a un 60 %, en un 40 % a un 70 %, en un 50 % a un 80 %, o en más del 90 % del nivel de ácidos biliares séricos antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el tratamiento de PFIC incluye el tratamiento del prurito.

Dado que LBAT se expresa en hepatocitos, LBAT y las sustancias inhibidoras duales de ASBT/LBAT deben tener al menos cierta biodisponibilidad y fracción libre en la 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 de esta manera el riesgo potencial de cualesquier efectos secundarios 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 a veces se observa con los inhibidores de ASBT.

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

La 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 NASH, la acumulación de grasa en el hígado, conocida como enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) o esteatosis, y otros factores tal como el colesterol LDL alto y la resistencia a la insulina inducen inflamación crónica en el hígado y pueden conducir a la cicatrización progresiva del tejido, conocida como fibrosis, y cirrosis, seguida finalmente por insuficiencia hepática y muerte. Se ha encontrado que los pacientes con NASH tienen concentraciones séricas totales de ácidos biliares significativamente más altas que los sujetos sanos bajo condiciones de ayuno (aumento de 2.2 a 2.4 veces en la NASH) y en todos los puntos de tiempo postprandiales (aumento de 1.7 a 2.2 veces en la NASH). Estos son impulsados por el aumento de los ácidos biliares primarios y secundarios conjugados con taurina y glicina. Los pacientes con NASH mostraron una mayor variabilidad en su perfil de ácidos biliares en ayunas y postprandial. Estos resultados indican que los pacientes con NASH tienen una mayor exposición en ayunas y postprandial a los ácidos biliares, que incluyen las especies secundarias más hidrofóbicas y citotóxicas. El aumento de la exposición a los ácidos biliares se puede implicar en la lesión hepática y en la patogénesis de la NAFLD y la 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 la NASH.

La NAFLD se caracteriza por esteatosis hepática sin causas secundarias de esteatosis hepática, que incluye el consumo excesivo de alcohol, otras enfermedades del hígado conocidas o el uso a largo plazo de un medicamento esteatogénico (Chalasani et al., *Hepatology* 2018, vol. 67(1), p. 328-357). La NAFLD se puede clasificar en hígado graso no alcohólico (NAFLD) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH). De acuerdo con Chalasani et al., la NAFL se define como la presencia de esteatosis hepática $\geq 5\%$ sin evidencia de lesión hepatocelular en forma de abombamiento de hepatocitos. La NASH se define como la presencia de esteatosis hepática $\geq 5\%$ e inflamación con lesión hepatocitaria (por ejemplo, abombamiento), con o sin fibrosis hepática. La NASH también se asocia comúnmente con inflamación hepática y fibrosis hepática, que puede progresar a cirrosis, enfermedad hepática en último estadio y carcinoma hepatocelular. Si bien la fibrosis hepática no siempre está presente en la NASH, la gravedad de la fibrosis, cuando está presente, puede estar relacionada con resultados a largo plazo.

Hay muchos enfoques que se utilizan para evaluar si un sujeto tiene NAFLD y, de ser así, la gravedad de la enfermedad, que incluye diferenciar si la NAFLD es NAFLD o NASH. En algunas realizaciones, la gravedad de la NAFLD se puede evaluar utilizando el NAS. En algunas realizaciones, el tratamiento de la NAFLD se puede evaluar utilizando el NAS. En algunas realizaciones, el NAS se puede determinar como se describe en Kleiner et al., *Hepatology* 2005, 41(6):1313-1321. Véase, por ejemplo, la Tabla 6 para un esquema de NAS simplificado adaptado de Kleiner.

Tabla 6. Ejemplo de la puntuación de actividad de la NAFLD (NAS) con el estadio de fibrosis

Característica	Grado	Puntuación
Esteatosis	<5 %	0
	5-33 %	1

	>33-66 %	2
	>66 %	3
Inflamación lobular	Sin focos	0
	<2 focos/200x	1
	2-4 focos/200x	2
	>4 focos/200x	3
Degeneración con abombamiento	Ninguna	0
	Escasa	1
	Muchas células/Abombamiento prominente	2
Fibrosis	Ninguna	0
	Perisinoidal o periportal	1
	Perisinusoidal y portal/periportal	2
	Puente fibrosis	3
	Cirrosis	4

En algunas realizaciones, la NAS se determina de forma no invasiva, por ejemplo, como se describe en la Publicación de Solicitud de EE.UU. No. 2018/0140219. En algunas realizaciones, la 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 realizaciones, la NAS se determina durante el periodo de tiempo o después del periodo de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, una puntuación NAS más baja durante el periodo de tiempo o después del periodo 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 la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo indica tratamiento de NAFLD (por ejemplo, NASH). Por ejemplo, una reducción en la NAS en 1, en 2, en 3, en 4, en 5, en 6, o en 7 indica tratamiento de NAFLD (por ejemplo, NASH). En algunas realizaciones, la NAS después de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 7 o menos. En algunas realizaciones, la NAS durante el periodo 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 realizaciones, la NAS durante el periodo de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 7 o menos. En algunas realizaciones, la NAS durante el periodo 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 realizaciones, la NAS después del periodo de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es 7 o menos. En algunas realizaciones, la NAS después del periodo 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.

Enfoques adicionales para evaluar y evaluar la NASH en un sujeto incluyen determinar una o más esteatosis hepáticas (por ejemplo, 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 (por ejemplo, marcadores séricos y paneles). Ejemplos adicionales de indicadores fisiológicos de NASH pueden incluir la morfología del hígado, la rigidez del hígado y el tamaño o peso del hígado del sujeto.

En algunas realizaciones, la 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 elevación de la ferritina sérica y los títulos bajos de autoanticuerpos séricos pueden ser características comunes de la NASH.

En algunas realizaciones, los métodos para evaluar la NASH incluyen formación de imágenes por resonancia magnética, ya sea por espectroscopia o por fracción de grasa densificada de protón (RM-PDFF) para cuantificar la esteatosis, elastografía transitoria (FIBROSCAN®), gradiente de presión venosa hepática (HPVG), medición de la rigidez hepática con MRE para el diagnóstico de fibrosis y/o cirrosis hepática significativa, y evaluar las características histológicas de la biopsia hepática. En algunas realizaciones, la formación de imágenes de resonancia magnética se

utiliza para detectar una o más de esteatohepatitis (NASH-MRI), fibrosis hepática (Fibro-MRI) y esteatosis. Véase, por ejemplo, las Publicaciones de Solicitudes de los EE.UU. No. 2016/146715 y 2005/0215882.

En algunas realizaciones, el tratamiento de la NASH puede incluir una disminución de uno o más síntomas asociados con la NASH; reducción de la cantidad de esteatosis hepática; una disminución del NAS; 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 cirrosis, una falta de progresión adicional de la fibrosis y/o cirrosis, o una ralentización de la progresión de la fibrosis y/o cirrosis en el sujeto después de la administración de una o más dosis de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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

En algunas realizaciones, el tratamiento de la NASH se puede evaluar al medir la esteatosis hepática. En algunas realizaciones, el tratamiento de la 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 realizaciones, la esteatosis hepática se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en ultrasonografía, tomografía computarizada (CT), formación de imágenes por resonancia magnética, espectroscopia de resonancia magnética (MRS), elastografía por resonancia magnética (MRE), elastografía transitoria (TE) (por ejemplo, FIBROSCAN®), medición del tamaño o peso del hígado, o por biopsia hepática (véase, por ejemplo, Di Lascio et al., *Ultrasound Med Biol.* 2018, vol. 44(8), p. 1585-1596; Lv et al., *J Clin Transl Hepatol.* 2018, vol. 6(2), p. 217-221; Reeder et al., *J Magn Reson Imaging.* 2011, vol. 34(4), spcone; y de Lédinghen V, et al., *J Gastroenterol Hepatol.* 2016, vol. 31(4), p. 848-855). Un sujeto diagnosticado con NASH puede tener más de aproximadamente 5 % de esteatosis hepática, por ejemplo, mayor de aproximadamente 5 % a aproximadamente 25 %, aproximadamente 25 % a aproximadamente 45 %, aproximadamente 45 % a aproximadamente 65 %, o mayor de aproximadamente 65 % de esteatosis hepática. En algunas realizaciones, un sujeto con más de aproximadamente 5 % a aproximadamente 33 % de esteatosis hepática tiene estadio 1 de esteatosis hepática, un sujeto con aproximadamente 33 % a aproximadamente 66 % de esteatosis hepática tiene estadio 2 de esteatosis hepática, y un sujeto con más de aproximadamente 66 % de esteatosis hepática tiene estadio 3 de esteatosis hepática.

En algunas realizaciones, la cantidad de esteatosis hepática se determina antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la cantidad de esteatosis hepática se determina durante el periodo de tiempo o después del periodo de tiempo de administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática durante el periodo de tiempo o después del periodo de tiempo de administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, indica tratamiento de NASH. Por ejemplo, una reducción en la cantidad de esteatosis hepática en aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 %, aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 %, o aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % indica tratamiento de NASH. En algunas realizaciones, 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.

En algunas realizaciones, la presencia de inflamación hepática se determina por uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en biomarcadores indicativos de inflamación hepática y una(s) muestra(s) de biopsia de hígado del sujeto. En algunas realizaciones, la severidad de la inflamación hepática se determina a partir de una(s) muestra(s) de biopsia de hígado del sujeto. Por ejemplo, la inflamación hepática en una muestra de biopsia de hígado se puede evaluar como se describe en Kleiner et al., *Hepatology* 2005, vol. 41(6), p. 1313-1321 y Brunt et al., *Am J Gastroenterol* 1999, vol. 94, p. 2467-2474. En algunas realizaciones, la severidad de la inflamación hepática se determina antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la severidad de la inflamación hepática se determina durante el periodo de tiempo o después del periodo de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, una reducción en la severidad de la inflamación hepática durante el periodo de tiempo o después del periodo 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 la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, indica tratamiento de NASH. Por ejemplo, una reducción en la severidad de

la inflamación hepática en aproximadamente 1 % a aproximadamente 50 %, aproximadamente 25 % a aproximadamente 75 %, o aproximadamente 50 % a aproximadamente 100 % indica tratamiento de NASH. En algunas realizaciones, una reducción en la severidad de la inflamación 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.

En algunas realizaciones, el tratamiento de la NASH comprende el tratamiento de la fibrosis y/o cirrosis, por ejemplo, una disminución en la gravedad de la fibrosis, una falta de progresión adicional de la fibrosis y/o cirrosis, o una disminución de la progresión de la fibrosis y/o cirrosis. En algunas realizaciones, la presencia de fibrosis y/o cirrosis se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en elastografía transitoria (por ejemplo, FIBROSCAN®), marcadores no invasivos de fibrosis hepática y características histológicas de una biopsia hepática. En algunas realizaciones, la gravedad (por ejemplo, estadio) de la fibrosis se determina mediante uno o más métodos seleccionados del grupo que consiste en elastografía transitoria (por ejemplo, FIBROSCAN®), un sistema de puntuación de fibrosis, biomarcadores de fibrosis hepática (por ejemplo, biomarcadores no invasivos) y gradiente de presión venosa hepática (HVPG). Ejemplos no limitantes de sistemas de puntuación de fibrosis incluyen el sistema de puntuación de fibrosis de la 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, p. 2467-2474, el sistema de puntuación de la fibrosis en Kleiner et al., *Hepatology* 2005, vol. 41(6), p. 1313-1321, y el sistema de puntuación de la fibrosis ISHAK (véase Ishak et al., *J. Hepatol.* 1995, vol. 22, p. 696-699).

En algunas realizaciones, la gravedad de fibrosis se determina antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la gravedad de fibrosis se determina durante el periodo de tiempo o después del periodo de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, una reducción en la gravedad de fibrosis durante el periodo de tiempo o después del periodo 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 la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, indica tratamiento de NASH. En algunas realizaciones, una reducción en la gravedad de fibrosis, la falta de una mayor progresión de la fibrosis y/o cirrosis, o una ralentización de la progresión de la fibrosis y/o cirrosis indica tratamiento de NASH. En algunas realizaciones, la gravedad de fibrosis se determina utilizando un sistema de puntuación tal como cualquiera de los sistemas de puntuación de fibrosis descritos en el presente documento, por ejemplo, la puntuación puede indicar el estadio de fibrosis, por ejemplo, estadio 0 (sin fibrosis), estadio 1, estadio 2, estadio 3, y estadio 4 (cirrosis) (véase, por ejemplo, Kleiner et al.). En algunas realizaciones, una reducción en el estadio de la fibrosis es una reducción en la gravedad de la fibrosis. Por ejemplo, una reducción en 1, 2, 3, o 4 estadios es una reducción en la gravedad de la fibrosis. En algunas realizaciones, una reducción en el estadio, por ejemplo, desde el estadio 4 hasta el estadio 3, desde el estadio 4 hasta el estadio 2, desde el estadio 4 hasta el estadio 1, desde el estadio 4 hasta el estadio 0, desde el estadio 3 hasta el estadio 2, desde el estadio 3 hasta el estadio 1, desde el estadio 3 hasta el estadio 0, desde el estadio 2 hasta el estadio 1, desde el estadio 2 hasta el estadio 0, o desde el estadio 1 hasta el estadio 0 indica tratamiento de NASH. En algunas realizaciones, el estadio de fibrosis disminuye desde el estadio 4 hasta el estadio 3, desde el estadio 4 hasta el estadio 2, desde el estadio 4 hasta el estadio 1, desde el estadio 4 hasta el estadio 0, desde el estadio 3 hasta el estadio 2, desde el estadio 3 hasta el estadio 1, desde el estadio 3 hasta el estadio 0, desde el estadio 2 hasta el estadio 1, desde el estadio 2 hasta el estadio 0, o desde el estadio 1 hasta el estadio 0 después de la administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en comparación con antes de la administración del compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el estadio de fibrosis disminuye desde el estadio 4 hasta el estadio 3, desde el estadio 4 hasta el estadio 2, desde el estadio 4 hasta el estadio 1, desde el estadio 4 hasta el estadio 0, desde el estadio 3 hasta el estadio 2, desde el estadio 3 hasta el estadio 1, desde el estadio 3 hasta el estadio 0, desde el estadio 2 hasta el estadio 1, desde el estadio 2 hasta el estadio 0, o desde el estadio 1 hasta el estadio 0 durante el periodo 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 la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, el estadio de fibrosis disminuye desde el estadio 4 hasta el estadio 3, desde el estadio 4 hasta el estadio 2, desde el estadio 4 hasta el estadio 1, desde el estadio 4 hasta el estadio 0, desde el estadio 3 hasta el estadio 2, desde el estadio 3 hasta el estadio 1, desde el estadio 3 hasta el estadio 0, desde el estadio 2 hasta el estadio 1, desde el estadio 2 hasta el estadio 0, o desde el estadio 1 hasta el estadio 0 después del periodo 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 la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, la presencia de NASH se determina 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 realizaciones, la gravedad de la NASH se determina 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, al medir, cuantificar y monitorizar el nivel de expresión del gen o ARNm que codifica el biomarcador y/o el péptido o proteína del biomarcador. Ejemplos no limitantes 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 relación de aspartato aminotransferasa (AST) a plaquetas (APRI); la relación 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 (véase, por ejemplo, McPherson et al., Gut 2010, vol. 59(9), p. 1265-9); ácido hialurónico; citocinas proinflamatorias; un panel de biomarcadores que consiste en α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinados con la edad y el género de un sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (por ejemplo, FIBROTEST®, FIBROSURE®), un panel de biomarcadores que consiste en bilirrubina, gamma-glutamilttransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinados con la edad y el sexo del sujeto (por ejemplo, HEPAScore®; véase, por ejemplo, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), y un panel de biomarcadores que consiste en un inhibidor de tejidos de la metaloproteínasa-1, el ácido hialurónico y la α 2-macroglobulina (por ejemplo, FIBROSPECT®); un panel de biomarcadores compuesto por el inhibidor de tejidos de las metaloproteinasas 1 (TIMP-1), el péptido de terminal amino del procolágeno tipo III (PIIINP) y el ácido hialurónico (HA) (por ejemplo, la Puntuación de Fibrosis Hepática Mejorada (ELF), véase, por ejemplo, Lichtigthagen R, et al., J Hepatol. 2013 Aug;59(2):236-42). En algunas realizaciones, la presencia de fibrosis se determina por una o más de las puntuaciones FIB-4, un panel de biomarcadores que consiste en α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinados con la edad y el género de un sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (por ejemplo, FIBROTEST®, FIBROSURE®), un panel de biomarcadores que consiste en bilirrubina, gamma-glutamilttransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinada con la edad y el sexo del sujeto (por ejemplo, HEPAScore®; véase, por ejemplo, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), y un panel de biomarcadores que consiste en inhibidor de tejidos de la metaloproteínasa-1, ácido hialurónico y α 2-macroglobulina (por ejemplo, FIBROSPECT®); y un panel de biomarcadores compuesto por el inhibidor de tejidos de las metaloproteinasas 1 (TIMP-1), el péptido de terminal amino del procolágeno tipo III (PIIINP) y el ácido hialurónico (AH) (por ejemplo, la Puntuación de Fibrosis Hepática Mejorada (ELF)).

En algunas realizaciones, no aumenta el nivel de aspartato aminotransferasa (AST). En algunas realizaciones, disminuye el nivel de aspartato aminotransferasa (AST). En algunas realizaciones, no aumenta el nivel de alanina aminotransferasa (ALT). En algunas realizaciones, disminuye el nivel de alanina aminotransferasa (ALT). En algunas realizaciones, 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.

En algunas realizaciones, la gravedad de la fibrosis se determina por una o más de las puntuaciones FIB-4, un panel de biomarcadores que consiste en α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinados con la edad y el género de un sujeto para generar una medida de fibrosis y actividad necroinflamatoria en el hígado (por ejemplo, FIBROTEST®, FIBROSURE®), un panel de biomarcadores que consiste en bilirrubina, gamma-glutamilttransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinada con la edad y el sexo del sujeto (por ejemplo, HEPAScore®; véase, por ejemplo, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), y un panel de biomarcadores que consiste en inhibidor de tejidos de la metaloproteínasa-1, ácido hialurónico y α 2-macroglobulina (por ejemplo, FIBROSPECT®); y un panel de biomarcadores compuesto por el inhibidor de tejidos de las metaloproteinasas 1 (TIMP-1), el péptido de terminal amino del procolágeno tipo III (PIIINP) y el ácido hialurónico (AH) (por ejemplo, la Puntuación de Fibrosis Hepática Mejorada (ELF)).

En algunas realizaciones, la inflamación hepática se determina por el nivel de biomarcadores de inflamación hepática, por ejemplo, citocinas proinflamatorias. Ejemplos no limitantes de biomarcadores indicativos de inflamación hepática incluyen interleucina-(IL) 6, interleucina-(IL) 1 β , factor de necrosis tumoral (TNF)- α , factor de crecimiento transformante (TGF)- β , proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1, proteína C reactiva (CRP), PAI-1 e isoformas de colágeno tal como Col1a1, Col1a2 y Col4a1 (véase, por ejemplo, Neuman, et al., Can. J. Gastroenterol. Hepatol. 2014, vol. 28(11), p. 607-618 y Patente de EE. UU. No. 9,872,844). La inflamación hepática también se puede evaluar mediante el cambio de la infiltración de macrófagos, por ejemplo, al medir un cambio en el nivel de expresión de CD68. En algunas realizaciones, la inflamación hepática se puede determinar al medir o monitorizar los niveles séricos o circulantes de uno o más de los niveles de interleucina-(IL) 6, interleucina-(IL) 1 β , factor de necrosis tumoral (TNF)- α , factor de crecimiento transformante (TGF)- β , proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1 y proteína C reactiva (CRP).

En algunas realizaciones, el nivel de uno o más biomarcadores indicativos de uno o más de daño hepático, inflamación, fibrosis hepática, y/o 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 realizaciones, 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 periodo de tiempo o después del periodo de tiempo de administración de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, una reducción 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 periodo de tiempo o después del periodo 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 la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, indica tratamiento de NASH. Por ejemplo, una reducción 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 aproximadamente 5 %, al menos aproximadamente 10 %, al menos aproximadamente 15 %, al menos aproximadamente 20 %, al menos aproximadamente 25 %, al menos

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

En algunas realizaciones, el tratamiento de la NASH disminuye el nivel de ácidos biliares séricos en el sujeto. En
35 algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos 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. En algunas realizaciones, el nivel de ácidos biliares séricos puede disminuir, por ejemplo, en un
10 % a 40 %, en un 20 % a un 50 %, en un 30 % a un 60 %, en un 40 % a un 70 %, en un 50 % a un 80 %, o en más
40 del 90 % del nivel de ácidos biliares séricos antes de la administración de un compuesto de fórmula (I), o de una sal
farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunas realizaciones, la NASH es NASH con colestasis concomitante.
En la colestasis, se bloquea la liberación de bilis, que incluye los ácidos biliares, del hígado. Los ácidos biliares pueden
causar daño a los hepatocitos (véase, por ejemplo, Pérez MJ, Briz O. World J. Gastroenterol. 2009, vol. 15(14), p.
1677-1689), lo que probablemente conduzca o aumente la progresión de la fibrosis (por ejemplo, cirrosis) y aumente
el riesgo de carcinoma hepatocelular (véase, por ejemplo, Sorrentino P et al., Dig. Dis. Sci. 2005, vol. 50(6), pág. 1130-
45 1135 y Satapathy SK y Sanyal AJ. Semin. Liver Dis. 2015, vol. 35(3), p. 221-235). En algunas realizaciones, el
tratamiento de la NASH incluye el tratamiento del prurito. En algunas realizaciones, el tratamiento de la NASH con
colestasis concomitante incluye el tratamiento del prurito. En algunas realizaciones, un sujeto con NASH con colestasis
concomitante tiene prurito.

En la Tabla 7 se proporcionan biomarcadores de ejemplo para la NASH.

50 Tabla 7. Biomarcadores de NASH de ejemplo

Biomarcadores de fibrosis hepática

Índice de relación de aspartato aminotransferasa (AST) a plaquetas (APRI)

Relación de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) (AAR)

Puntuación FIB-4¹

55 Ácido hialurónico

Citocinas proinflamatorias

Un panel que incluye α 2-macroglobulina, haptoglobina, apolipoproteína A1, bilirrubina, gamma glutamil transpeptidasa (GGT) combinado con la edad y el género de un sujeto

para generar una medida de la fibrosis y la actividad necroinflamatoria en el hígado (por ejemplo, FIBROTEST®, FIBROSURE®)

Un panel que incluye bilirrubina, gamma-glutamilttransferasa, ácido hialurónico, α 2-macroglobulina combinada con la edad y el sexo del sujeto (por ejemplo, HEPAScore®²)

- 5 Un panel que incluye un inhibidor de tejidos de la metaloproteinasa-1, ácido hialurónico y α 2-macroglobulina (por ejemplo, FIBROSPECT®)

Un panel que incluye un inhibidor de tejidos de metaloproteinasas 1 (TIMP-1), un propéptido de terminal amino de procolágeno tipo III (PIIINP) y ácido hialurónico (HA) (por ejemplo, la Puntuación de Fibrosis Hepática Mejorada (ELF)³)

Biomarcadores de inflamación hepática^{4,5}

- 10 Interleucina-(IL) 6

Interleucina-(IL) 1 β

Factor de necrosis tumoral (TNF)- α

Factor de crecimiento transformante (TGF)- β

Proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1

- 15 Proteína C reactiva (CRP)

PAI-1

Isoformas de colágeno (por ejemplo, Col1a1, Col1a2 y Col4a1)

Cambio en la infiltración de macrófagos (por ejemplo, un cambio en el nivel de expresión de CD68)

Referencias para la Tabla 7

- 20 ¹ McPherson et al., Gut. 2010, vol. 59(9), p. 1265-1269.

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

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

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

⁵ Patente de EE.UU. No. 9,872,844

- 25 Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden mostrar una fracción libre más alta en plasma. En algunas realizaciones, la fracción libre es mayor de aproximadamente 0.2 %, tal como mayor de aproximadamente 0.4 %, tal como mayor de aproximadamente 0.6 %, tal como mayor de aproximadamente 0.8 %, tal como mayor de aproximadamente 1.0 %, tal como mayor de aproximadamente 1.25 %, tal como mayor de aproximadamente 1.5 %, tal como mayor de aproximadamente 1.75 %, tal como mayor de aproximadamente 2.0 %, tal como mayor de aproximadamente 2.5 %, tal como mayor de aproximadamente 3 %, tal como mayor de aproximadamente 4 %, tal como mayor de aproximadamente 5 %, tal como mayor de aproximadamente 7.5 %, tal como mayor de aproximadamente 10 %, o tal como mayor de aproximadamente 20 %.

- 30 Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se puede excretar en la orina. En algunas realizaciones, la fracción del compuesto que se excreta en la orina es mayor de aproximadamente 0.2 %, tal como mayor de aproximadamente 0.4 %, tal como mayor de aproximadamente 0.6 %, tal como mayor de aproximadamente 0.8 %, tal como mayor de aproximadamente 1.0 %, tal como mayor de aproximadamente 2 %, tal como mayor de aproximadamente 3 %, tal como mayor de aproximadamente 5 %, tal como mayor de aproximadamente 7.5 %, tal como mayor de aproximadamente 10 %, tal como mayor de aproximadamente 15 %, tal como mayor de aproximadamente 20 %, tal como mayor de aproximadamente 30 %, o tal como mayor de aproximadamente 50 %.

- 40 Después de la absorción en el intestino, algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden hacer circular a través de la circulación enterohepática. En algunas realizaciones, la fracción del compuesto que se hace circular a través de la circulación enterohepática es mayor de aproximadamente 0.1 %, tal como mayor de aproximadamente 0.2 %, tal como mayor de aproximadamente 0.3 %, tal como mayor de aproximadamente 0.5 %, tal como mayor de aproximadamente 1.0 %, tal como mayor de aproximadamente 1.5 %, tal como mayor de aproximadamente 2 %, tal como mayor de aproximadamente 3 %, tal como mayor de aproximadamente 5 %, tal como mayor de aproximadamente 7 %, tal como mayor de aproximadamente 10 %, tal como mayor de aproximadamente 15 %, tal como mayor de aproximadamente 20 %, tal como mayor de aproximadamente 30 %, o tal como mayor de aproximadamente 50 %.

como mayor de aproximadamente 15 %, tal como mayor de aproximadamente 20 %, tal como mayor de aproximadamente 30 % o tal como mayor de aproximadamente 50 %.

5 Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden causar excreción renal de sales biliares. En algunas realizaciones, la fracción de ácidos biliares en circulación que se secreta por la ruta renal es mayor de aproximadamente 1 %, tal como mayor de aproximadamente 2 %, tal como mayor de aproximadamente 5 %, tal como mayor de aproximadamente 7 %, tal como mayor de aproximadamente 10 %, tal como mayor de aproximadamente 15 %, tal como mayor de aproximadamente 20 %, o tal como mayor de aproximadamente 25 %.

10 Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden mostrar una permeabilidad mejorada u óptima. La permeabilidad se puede medir en células de Caco2, y los valores se dan como valores de Papp (permeabilidad aparente) en cm/s. En algunas realizaciones, la permeabilidad es mayor de al menos aproximadamente 0.1×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 0.2×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 0.4×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 0.7×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 1.0×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 2×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 3×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 5×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 7×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 10×10^{-6} cm/s, tal como mayor de aproximadamente 15×10^{-6} cm/s.

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

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

30 Algunos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden dar lugar a concentraciones de ácidos biliares en el intestino, el hígado y en el suero que no causan efectos gastrointestinales adversos.

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

35 Como se utilizan en el presente documento, los términos "tratamiento", "tratar" y "que trata" se refieren a revertir, aliviar, retrasar la aparición o inhibir el progreso de una enfermedad o trastorno, o uno o más síntomas de los mismos, como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, el tratamiento se puede administrar después de que se hayan desarrollado uno o más síntomas. En otras realizaciones, el tratamiento se puede administrar en ausencia de síntomas. Por ejemplo, el tratamiento se puede administrar a un individuo susceptible antes de la aparición de los síntomas (por ejemplo, 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 continuarse después de que los síntomas se hayan resuelto, por ejemplo, para prevenir o retrasar su reaparición.

45 Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de un compuesto de la invención es, por ejemplo, una sal de adición de bases 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 (por ejemplo, una sal de calcio o magnesio), una sal de amonio o una sal con una base orgánica que proporciona un catión fisiológicamente aceptable. Por ejemplo, una sal con metilamina, dimetilamina, trimetilamina, piperidina, morfolina o tris-(2-hidroxietil)amina.

50 Algunos compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden tener centros quirales y/o centros isoméricos geométricos (isómeros E y Z). Se debe entender 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 todas y cada una de las formas tautoméricas de compuestos de fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT. Ciertos compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden existir tanto en formas solubles como no solubles, tales como, por ejemplo, las formas hidratadas. Se debe entender que la invención abarca todas las formas solvatadas que poseen actividad inhibidora de ASBT y/o LBAT.

55 En otro aspecto, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva 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 manera convencional utilizando excipientes convencionales.

Ejemplos de rellenos adecuados incluyen, pero no se limitan a, dihidrato de fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, lactosa (tal como monohidrato de lactosa), sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa, celulosa microcristalina, almidón seco, almidones hidrolizados y almidón pregelatinizado. En ciertas realizaciones, el relleno es manitol y/o celulosa microcristalina.

Ejemplos de aglutinantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, almidón, almidón pregelatinizado, gelatina, azúcares (tales como sacarosa, glucosa, dextrosa, lactosa y sorbitol), polietilenglicol, ceras, gomas naturales y sintéticas (tales como goma arábiga y goma tragacanto), alginato de sodio, derivados de celulosa (tales como hidroxipropilmetilcelulosa (o hipromelosa), hidroxipropilcelulosa y etilcelulosa) y polímeros sintéticos (tales como copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, copolímeros de ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo, copolímeros de metacrilato aminoalquilo, copolímeros de ácido poliacrílico/ácido polimetacrílico y polivinilpirrolidona (povidona)). En ciertas realizaciones, el aglutinante es hidroxipropilmetilcelulosa (hipromelosa).

Ejemplos de desintegrantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, almidón seco, almidón modificado (tal como almidón (parcialmente) pregelatinizado, glicolato de almidón de sodio y carboximetilalmidón de sodio), ácido algínico, derivados de celulosa (tales como carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilcelulosa sustituida inferior (L-HPC) y polímeros reticulados (tales como carmelosa, croscarmelosa de sodio, carmelosa de calcio y PVP reticulado (crospovidona)). En ciertas realizaciones, el desintegrador es croscarmelosa de sodio.

Ejemplos de deslizantes y lubricantes adecuados incluyen, pero no se limitan a, 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, lauril sulfato de sodio, ácido bórico, óxido de magnesio, ceras (tales como cera de carnauba), aceite hidrogenado, polietilenglicol, benzoato de sodio, polietilenglicol y aceite mineral. En ciertas realizaciones, el deslizante o lubricante es estearato de magnesio o sílice coloidal.

La composición farmacéutica se puede recubrir convencionalmente con una o más capas de recubrimiento. También se contemplan las capas de recubrimiento entérico o las capas de recubrimiento para la liberación retardada o dirigida del compuesto de la fórmula (I), o de las sales farmacéuticamente aceptables del mismo. Las capas de recubrimiento pueden comprender uno o más agentes de recubrimiento y, opcionalmente, pueden comprender plastificantes y/o pigmentos (o colorantes).

Ejemplos de agentes de recubrimiento adecuados incluyen, pero no se limitan a, polímeros a base de celulosa (tal como etilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa (o hipromelosa), hidroxipropilcelulosa, ftalato de acetato de celulosa, succinato de acetato de celulosa, succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulosa y ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa), polímeros a base de vinilo (como alcohol polivinílico) y polímeros a base de ácido acrílico y derivados de los mismos (tales 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 realizaciones, el agente de recubrimiento es hidroxipropilmetilcelulosa. En otras realizaciones, el agente de recubrimiento es alcohol polivinílico.

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 de acetilo, ftalato de dibutilo, sebacato de dibutilo y polietilenglicol. En ciertas realizaciones, el plastificante es polietilenglicol.

Ejemplos de pigmentos adecuados incluyen, pero no se limitan a, dióxido de titanio, óxidos de hierro (tal como óxidos de hierro amarillos, marrones, rojos o negros) y sulfato de bario.

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

La dosificación requerida para el tratamiento terapéutico o profiláctico dependerá de la ruta de administración, la gravedad de la enfermedad, la edad y el peso del paciente y otros factores que normalmente considera el médico tratante al determinar el régimen y el nivel de dosificación apropiados para un paciente en particular.

La cantidad del compuesto que se administrará variará para el paciente que esté siendo tratado, y puede variar desde aproximadamente 1 µg/kg de peso corporal a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal por día. Una forma de dosis unitaria, tal como un comprimido o una cápsula, suele contener aproximadamente 1 a aproximadamente 250 mg de ingrediente activo, tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg, o tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg, o tal como aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg, por ejemplo aproximadamente 2.5 mg, o aproximadamente 5 mg, o aproximadamente 10 mg, o aproximadamente 15 mg. La dosis diaria se puede administrar 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 es preferiblemente de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 250 mg, más preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg, tal como de aproximadamente 1 a

aproximadamente 5 mg, tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg, tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 15 mg, o tal como de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 mg.

5 En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un medicamento. La invención también se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un medicamento.

En otro aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento o prevención de cualesquiera de las enfermedades mencionadas en el presente documento.

Terapia combinada

10 En un aspecto de la invención, los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con al menos otro agente terapéuticamente activo, tal como con uno, dos, tres o más otros agentes terapéuticamente activos. El compuesto de la fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y al menos otro agente terapéuticamente activo se pueden administrar simultáneamente, secuencialmente o por separado. Los agentes terapéuticamente activos que son adecuados para la combinación con
15 los compuestos de la 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 anteriormente mencionados.

En una realización, los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con otro inhibidor de ASBT. Los inhibidores adecuados de ASBT se divulgan en los documentos WO 93/16055, WO 94/18183, WO 94/18184, WO 96/05188, WO 96/08484, WO 96/16051, WO 97/33882,
20 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, WO 2019/234077, WO 2020/161216, WO 2020/161217, DE 19825804, EP 864582, EP 489423, EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205, EP 1535913 y EP 3210977.

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un aglutinante de ácidos biliares (también denominado como secuestrante de ácidos biliares o resina), tal como el colesvelam, colestiramina o colestipol. En una realización preferida de tal combinación,
30 el aglutinante de ácidos biliares está formulado para la liberación del colon. Ejemplos de dichas formulaciones se divulgan, por ejemplo, en los documentos WO 2017/138877, WO 2017/138878, WO 2019/032026 y WO 2019/032027.

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de DPP-IV, que incluye sales de gliptinas tales como sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina, linagliptina, gemigliptina, anagliptina, teneligliptina, alogliptina, trelagliptina, omarigliptina, evogliptina, gosogliptina y dutogliptina, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.
35

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de HMG CoA reductasa, tal como fluvastatina, lovastatina, pravastatina, simvastatina, atorvastatina, pitavastatina, cerivastatina, mevastatina, rosuvastatina, bervastatina o dalvastatina, o una sal farmacéuticamente aceptable de las mismas.

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

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un agonista alfa de PPAR, que incluye fibratos tales como clofibrato, bezafibrato, ciprofibrato, clonofibrato, clofibrato, fenofibrato, gemfibrozil, ronifibrato y simfibrato, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
45

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

50 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un agonista de alfa/gamma PPAR doble, que incluye gliptazares tales como saroglitazar, aleglitazar, muraglitazar o tesaglitazar, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

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

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

5 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con moduladores del receptor X farnesoide (FXR), que incluye agonistas de FXR tales como cafestol, ácido quenodesoxicólico, ácido 6 α -etil-quenodesoxicólico (ácido obeticólico; INT-747), fexaramina, tropifexor, cilofexor y MET409.

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

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

15 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con ácido ursodeoxicólico (UDCA). En todavía otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con ácido nor-ursodeoxicólico (nor-UDCA).

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

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

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

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

25 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de caspasa proteasa, tal como emricasan.

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

30 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un Inhibidor de estearoil-CoA desaturasa (SCD), tal como aramchol (ácido araquidil amido colanoico).

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de la quinasa 1 de regulación de señal de apoptosis (ASK1), tal como selonsertib.

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

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

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

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

45 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con agonistas del péptido similar a glucagón y receptor del glucagón doble, tal como SAR425899.

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

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

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de SGLT1, un inhibidor de SGLT2 o un inhibidor de SGLT1 y SGLT2 doble. Ejemplos de dichos compuestos son dapagliflozina, sotagliflozina, canagliflozina, empagliflozina, LIK066 y SGL5213.

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

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de la ácido graso sintasa (FASN), tal como TVB-2640.

- 10 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un activador de quinasa proteína activada con AMP (AMPK), tal como PXL-770.

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un antagonista del receptor glucocorticoide (GR), un antagonista del receptor mineralocorticoide (MR), o un antagonista GR/MR doble. Ejemplos de dichos compuestos son MT-3995 y CORT-118335.

- 15

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

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

- 20

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

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

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

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

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

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

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de células T asesinas naturales tipo 1 (NKT1), tal como GRI-0621.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

- 15 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con una biguanidina, tal como metformina.

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

- 20 En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con un inhibidor de la glucógeno fosforilasa y/o un inhibidor de la glucosa-6-fosfatasa.

En otra realización, los compuestos de la fórmula (I), o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se administran en combinación con a sulfonilurea, tal como glipizid, glibenclamid y glimepirid.

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

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

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

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

Preparación de compuestos

- 35 Los compuestos de la invención se pueden preparar como un ácido libre o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo mediante los procesos descritos a continuación. A lo largo de la siguiente descripción de dichos procesos, se entiende que, cuando corresponda, se agregarán grupos protectores adecuados, y posteriormente se eliminarán de los diversos reactivos e intermedios, de una manera que sea fácilmente comprensible para un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los procedimientos convencionales para el uso de dichos grupos protectores, así como ejemplos de grupos protectores adecuados, se describen, por ejemplo, en n Greene's Protective Groups in Organic Synthesis by P.G.M Wutz and T.W. Greene, 4th Edition, John Wiley & Sons,

Hoboken, 2006

- 40 Métodos generales

Todos los disolventes utilizados eran de grado analítico. Los disolventes anhidros disponibles en el mercado se utilizaron de forma rutinaria para las reacciones. Los materiales de partida estaban disponibles en fuentes comerciales o se prepararon de acuerdo con los procedimientos de la literatura. La temperatura ambiente se refiere a 20-25 °C. Las composiciones de las mezclas de disolventes se indican como porcentajes de volumen o relaciones de volumen.

- 45 LCMS:

Nombre del instrumento: Agilent 1290 infinity II.

Método A: Fase móvil: A: HCOOH al 0.1 % en agua: ACN (95:5), B: ACN; índice de fluidez: 1.5 ml/min; columna: ZORBAX XDB C-18 (50 x 4.6 mm, 3.5 µm).

ES 2 973 355 T3

Método B: Fase móvil: A: NH_4HCO_3 10 mM en agua, B: ACN; índice de fluidez: 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; índice de fluidez: 1.5 ml/min; columna: ATLANTIS dC18 (50 X 4.6 mm, 5 μm).

- 5 Método D: Fase móvil: A: NH_4OAc 10 mM en agua, B: ACN; índice de fluidez: 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; índice de fluidez: 1.5 ml/min; Columna: XBridge C8 (50 X 4.6 mm, 3.5 μm).

- 10 Método F: Fase móvil: A: TFA al 0.1 % en agua, B: TFA al 0.1 % en ACN; índice de fluidez: 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; índice de fluidez: 0.8 ml/min; columna: Acquity UPLC BEH C18 (2.1 X 50 mm), 1.7 μm .

Método H: Fase móvil: A: NH_4OAc 10 mM, B: ACN al 100 %; índice de fluidez: 0.8 ml/min; Columna: Acquity UPLC BEH C18 (2.1 X 50) mm; 1.7 μm .

- 15 Método I: Fase móvil: A: HCOOH al 0.1 % en agua: ACN (95:5), B: ACN; índice de fluidez: 0.8 ml/min; Columna: ZORBAX ECLIPSE PLUS C18 (2.1 X 50) mm, 1.8 μm .

UPLC:

Nombre del instrumento: waters Acquity Clase I

- 20 Método A: Fase móvil: A: HCOOH al 0.1 % en agua, B: HCOOH al 0.1 % en ACN; Índice de fluidez: 0.8 ml/min; Columna: Acquity UPLC HSS T3 (2.1 X 50) mm; 1.8 μm .

HPLC:

Nombre del instrumento: Los instrumentos de la serie Agilent 1260 Infinity II se muestran a continuación utilizando % con detección UV (maxplot).

- 25 Método A: Fase móvil: A: NH_4HCO_3 10 mM en agua, B: ACN; índice de fluidez: 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; índice de fluidez: 2.0 ml/min; columna: XBridge C8 (50 X 4.6 mm, 3.5 μm).

Método C: Fase móvil: A: NH_4OAc 10 mM en agua mili-q, B: ACN; índice de fluidez: 1.0 ml/min; columna: Phenomenex Gemini C18 (150 x 4.6 mm, 3.0 μm).

- 30 Método D: Fase móvil: A: TFA al 0.1 % en agua, B: ACN; índice de fluidez: 1.0 ml/min; columna: ATLANTIS dC18 (250 X 4.6 mm, 5.0 μm).

Método E: Fase móvil: A: TFA al 0.1 % en agua, B: ACN, índice de fluidez: 2.0 ml/ min; columna: X-Bridge C8 (50 X 4.6 mm, 3.5 μm).

HPLC quiral:

- 35 Nombre del instrumento: Agilent 1260 Infinity II

Método A: Fase móvil: A: TFA al 0.1 % en n-hexano; B: etanol, flujo: 1.0 ml/ min; Columna: CHIRALPAK IA (250 X 4.6 mm, 5.0 μm).

SFC quiral:

Nombre del instrumento: PIC SFC 10 (analítico)

- 40 Relación entre CO_2 y cosolvente varía entre 60:40 y 80:20

Método A: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Amilosa YMC-SA (250 X 4.6 mm, 5 μm).

Método B: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Chiralpak AD-H (250 X 4.6 mm, 5 μm).

- Método C: Fase móvil: amoníaco 20 mM en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método D: Fase móvil: metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1 (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método E: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 5 ml/min; columna: Lux C4.
- 5 Método F: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC.
- Método G: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1.
- Método H: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1 (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- 10 Método I: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: CCS quirál (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método J: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 5 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC AD-H (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método K: Fase móvil: IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- 15 Método L: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 4 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método M: Fase móvil: Metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC AD-H (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método N: Fase móvil: metanol; índice de fluidez: 5 ml/min; columna: Chiralcel OX-H (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método O: Fase móvil: Isopropilamina al 0.1 % en IPA:metanol (1:1), índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Chiralpak ASH (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- 20 Método P: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Chiralpak AS-H (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método Q: Fase móvil: IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1 (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- Método R: Fase móvil: Isopropilamina al 0.1 % en IPA:metanol (1:1), índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1 (250 X 4.6 mm, 5 µm).
- 25 PLC Pre p-H:
- 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 ACN; índice de fluidez: 2.0 ml/min; Columna: X-Bridge C8 (50 X 4.6 mm, 3.5 µm).
- 30 Método B: Fase móvil: A: NH₄OAc 10 mM en agua; B: ACN; índice de fluidez: 35 ml/min; columna: X select C18 (30 X 150 mm, 5 µm).
- Método C: Fase móvil: A: NH₄HCO₃ 10 mM en agua; B: ACN; índice de fluidez: 1.0 ml/min; columna: XBridge C8 (50 X 4.6 mm, 3.5 µm).
- Método D: Fase móvil: A: HCOOH al 0.1 % en agua; B: ACN; índice de fluidez: 1.0 ml/min; columna: X-select C18 (30 X 150 mm, 5 µm).
- 35 SFC preparativo quirál:
- Nombre del instrumento: PIC SFC 100 y PSC SFC 400
- Relación entre CO₂ y cosolvente varía entre 60:40 y 80:20
- Método A: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Amilosa YMC-SA (250 X 30 mm, 5 µm).
- 40 Método B: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Chiralpak AD-H (250 X 30 mm, 5 µm).
- Método C: Fase móvil: amoníaco 20 mM en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC (250 X 30 mm, 5 µm).

Método D: Fase móvil: metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: CCS quirál (250 X 30 mm, 5 µm).

Método E: Fase móvil: metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1 (250 X 30 mm, 5 µm).

Método F: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Lux A1 (250 X 30 mm, 5 µm).

- 5 Método G: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: CCS quirál (250 X 30 mm, 5 µm).

Método H: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 5 ml/min; columna: Amilosa YMC-SC (250 X 30 mm, 5 µm).

- 10 Método J: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en IPA; índice de fluidez: 3 ml/min; columna: Chiralcel OX-H (250 X 30 mm, 5 µm).

Método K: Fase móvil: isopropilamina al 0.5 % en metanol; índice de fluidez: 5 ml/min; columna: Celulosa YMC-SC (250 X 30 mm, 5 µm).

Método L: Fase móvil: metanol; índice de fluidez: 5 ml/min; columna: Chiralcel OX-H (250 X 30 mm, 5 µm).

HPLC preparativo quirál:

- 15 Nombre del instrumento: Agilent 1260 Infinity II

Método A: Fase móvil: A: TFA al 0.1 % en n-hexano; B: etanol; índice de fluidez: 15 ml/min; Columna: CHIRALPAK IA (250 X 19 mm, 5.0 µm).

Abreviaturas

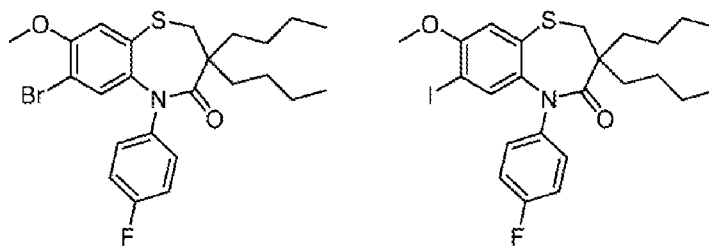
ACN	acetonitrilo
DABCO	1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano
DCM	diclorometano
DMA	dimetilacetamida
DMF	dimetilformamida
IPA	alcohol isopropílico
LCMS	cromatografía líquida - espectrometría de masas
HPLC	cromatografía líquida de alto desempeño
PE	éter de petróleo
SFC	cromatografía de fluidos supercríticos
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TLC	cromatografía en capa fina
UPLC	cromatografía líquida de ultra rendimiento
Xantphos	4,5-bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno

La invención se describirá ahora con los siguientes ejemplos, que no limitan la invención en ningún aspecto.

20 Ejemplos

Intermedio 1

7-Bromo-3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

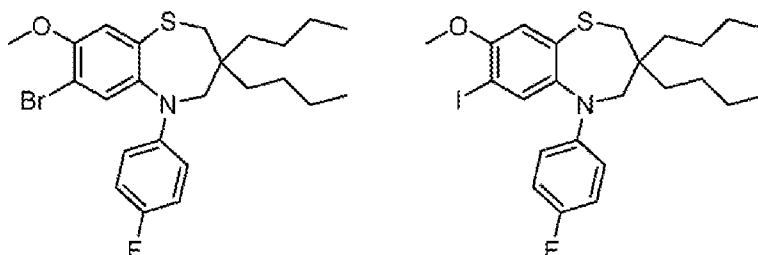


A una solución agitada de 7-bromo-3,3-dibutyl-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (3 g, 7.49 mmol) en 1-fluoro-4-yodobenceno (30 ml), se agregaron yoduro de cobre (I) (0.14 g, 0.74 mmol) y K_2CO_3 (2.07 g, 14.9 mmol) y la solución se purgó con nitrógeno durante 20 minutos para desgasificación. Luego se agregó Tris[2-(2-metoxietoxi)etil]amina (0.49 g, 1.49 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción resultante se calentó durante 16 horas a 135 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celita y la almohadilla de celita se lavó con EtOAc (25 ml). El filtrado se lavó con agua (15 ml) y solución salina (15 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 95 % (3.5 g, sólido amarillo pálido).

LCMS: (Método E) 494.0 (M^+) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 541.9 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.50 min, 96.61 % (Máx).

Intermedio 2

7-Bromo-3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

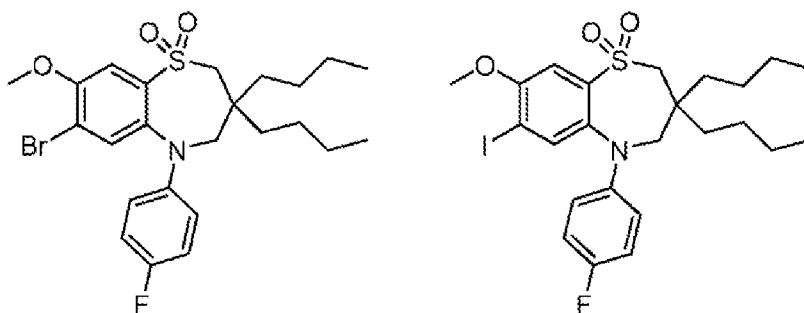


A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 1; 3.5 g, 7.07 mmol) en THF (35 ml) a 0 °C se agregó en forma de gotas dimetilsulfuro de borano (2M en THF; 5.3 ml, 10.61 mmol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 16 h a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con metanol (10 ml) y se calentó durante 2 h a 65 °C. La mezcla de reacción resultante luego se enfrió a temperatura ambiente, se concentró bajo vacío y el residuo se sometió a partición entre agua (50 ml) y EtOAc (50 ml). La capa acuosa se extrajo con DCM (2 X 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (25 ml) y solución salina (25 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró bajo vacío para proporcionar el crudo. El crudo resultante se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 3.6 g (crudo, goma de color amarillo pálido).

LCMS: (Método E) 482.0 ($M^+ + 2H$) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 527.9 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.86 min, 81.04 % (combinado para los compuestos sustituidos con bromo y yodo) (Máx).

Intermedio 3

1,1-dióxido 7-Bromo-3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

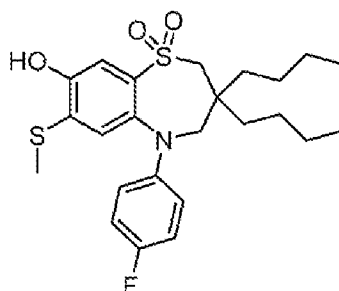


A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 2; 3.6 g, 7.49 mmol) en ácido acético (36 ml), se agregaron tungstato de sodio (360 mg, 0.01 mmol) y peróxido de hidrógeno (30 % en H₂O; 2.5 ml, 22.47 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo Büchner y el filtrado se extrajo con EtOAc (2 X 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (25 ml) y solución salina (25 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 12 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 79 % (3.4 g, sólido blancuzco).

LCMS: ((Método A) 512.2 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 560.2 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-yodo; Rt. 3.40 min, 70.63 % (Máx).

Intermedio 4

1,1-dióxido de 3,3-Dibutyl-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

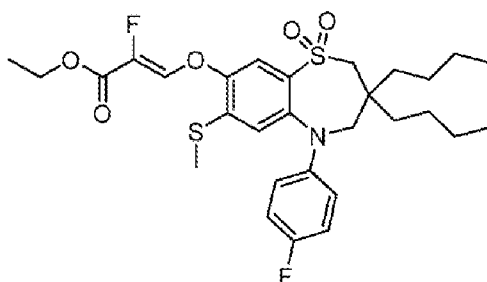


A una solución agitada de una mezcla de 1,1-dióxido de 7-bromo-3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 3; 1.6 g, 3.12 mmol) en DMF (16 ml), se agregó tiometóxido de sodio (1.09 g, 15.6 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se apagó con agua (15 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 25 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 30 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 90 % (1.3 g, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.48 (s, 1H), 7.28 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 7.08-7.01 (m, 4H), 6.59 (s, 1H), 3.80-3.67 (m, 2H), 3.22 (s, 2H), 2.16 (s, 3H), 1.36-1.33 (m, 4H), 1.12-1.03 (m, 8H), 0.79-0.77 (m, 6H). LCMS: (Método E) 466.0 (M⁺+H), Rt. 3.23 min, 88.86 % (Máx).

Intermedio 5

(Z)-3-((3,3-dibutyl-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo

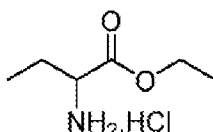


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (intermedio 4; 200 mg, 0.42 mmol) en DMA (2 ml) a 0 °C, se agregó en forma de porciones NaH (60 %; 58 mg, 1.39 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 0 °C. Luego se agregó una solución de 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (240 mg, 1.07 mmol) en DMA (0.5 ml) y la mezcla de reacción se calentó durante 3 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la masa de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con HCl diluido (1.5 N, pH ~4) y se diluyó con agua (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 10 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con solución salina (5 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE de 15-20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 61 % (0.15 g, sólido blanco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.62-7.57 (m, 2H), 7.24 (m, 2H), 7.17 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 4.25 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.73 (bs, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.41-1.31 (m, 4H), 1.28-1.24 (m, 3H), 1.03-1.02 (m, 8H), 0.75 (t, J = 6.8 Hz, 6H). LCMS: (Método A) 582.8 (M⁺+H), Rt. 3.47 min, 97.51 % (Máx).

Intermedio 6

Clorhidrato de 2-aminobutanoato de etilo

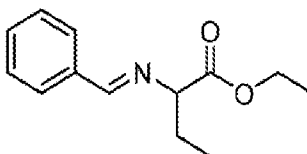


A una solución agitada de ácido 2-aminobutanoico (100 g, 0.97 mol) en etanol (750 ml), cloruro de tionilo (78 ml, 1.07 mol) se agregó a 0 °C. La mezcla de reacción luego se calentó durante 16 horas a 80 °C. Después de la finalización de la reacción, la mezcla de reacción se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título crudo que se utilizó como tal para la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 93 % (152 g, sólido blanco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 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).

Intermedio 7

(E)-2-(bencilidenoamino) butanoato de etilo

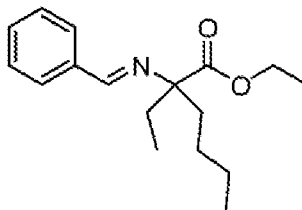


A una solución agitada de clorhidrato de 2-aminobutanoato de etilo (Intermedio 6; 152 g, 0.91 mol) en DCM (900 ml), se agregó trietil amina (152 ml, 1.09 mol) a 0 °C durante un periodo de 30 minutos. Se agregó en forma de porciones sulfato de magnesio (98 g, 0.82 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C. Luego se agregó benzaldehído (84 ml, 0.82 mol) a la mezcla de reacción a 0 °C durante un periodo de 20 minutos y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celita y el filtrado se concentró bajo vacío. El crudo resultante se disolvió en éter de petróleo (1000 ml) y de nuevo se filtró a través de celita. El filtrado luego se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. Este material crudo se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 90 % (180 g, líquido marrón pálido).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.40 (s, 1H), 7.79-7.76 (m, 2H), 7.49-7.47 (m, 3H), 4.16-4.10 (m, 2H), 3.98-3.95 (m, 1H), 1.92-1.89 (m, 1H), 1.79-1.74 (m, 1H), 1.19 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 0.85 (t, J = 7.2 Hz, 3H).

Intermedio 8

(E)-2-(bencilidenoamino)-2-etilhexanoato de etilo

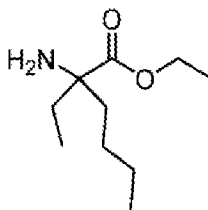


5 A una solución agitada de NaH (60 %; 32.8 g, 0.82 mol) en DMF (100 ml) a 0 °C, se agregó lentamente (E)-2-(bencilidenoamino) butanoato de etilo (Intermedio 7; 180 g, 0.82 mol) en DMF (800 ml) durante un periodo de 30 minutos. La mezcla de reacción luego se agitó durante 1.5 horas a temperatura ambiente. Se agregó 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. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se apagó 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 solución salina (200 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 88 % (200 g, líquido amarillo).

10 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.34 (s, 1H), 7.80 - 7.77 (m, 2H), 7.47-7.44 (m, 3H), 4.16 (q, J = 7.0 Hz, 2H), 2.51-1.79 (m, 4H), 1.31-1.18 (m, 7H), 0.88 - 0.84 (m, 6H).

15 Intermedio 9

2-amino-2-etilhexanoato de etilo

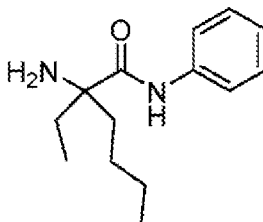


20 A una solución agitada de (E)-2-(bencilidenoamino)-2-etilhexanoato de etilo (Intermedio 8; 200 g, 0.73 mol) en éter de petróleo (500 ml), se agregó HCl diluido (1000 ml, 1.5 N) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó vigorosamente durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la capa orgánica se separó y la capa acuosa se lavó con EtOAc (2 X 100 ml). La capa acuosa luego se basificó (pH ~8.5) al utilizar 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 Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. El material crudo se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 80 % (110 g, pale líquido amarillo).

25 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 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).

Intermedio 10

2-Amino-2-etil-N-fenilhexanamida



30

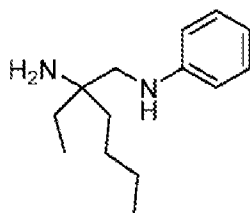
A una solución agitada de anilina (48.3 ml, 534 mmol) en THF (250 ml) a -78 °C, se agregó en forma de gotas *n*-BuLi (2.6 M en hexanos; 205 ml, 534 mmol) durante un periodo de 30 minutos, y la mezcla de reacción se agitó durante 45 minutos a -25 °C a -30 °C. Luego se agregó 2-amino-2-etilhexanoato de etilo (Intermedio 9; 50 g, 267 mmol) en THF (250 ml) a la mezcla de reacción a -78 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a -78 °C. Después de la

finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se apagó 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 Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título como crudo. El producto crudo 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 Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 66 g (crudo, líquido marrón).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 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).

Intermedio 11

10 2-Etil-N1-fenilhexano-1,2-diamina

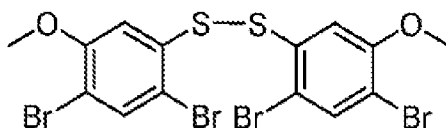


A una solución agitada de 2-amino-2-etil-N-fenilhexanamida (Intermedio 10; 66 g, 0.28 mol) en THF (600 ml), se agregó dimetilsulfuro de borano (2M en THF, 253 ml, 0.51 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 70 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se apagó con metanol (300 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción luego se calentó durante 2 horas a 70 °C. La mezcla de reacción se concentró bajo 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 Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: 40 % EtOAc en hexano; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 82 % (50 g, líquido marrón).

20 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): 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).

Intermedio 12

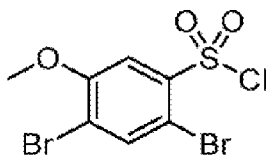
1,2-Bis(2,4-dibromo-5-metoxifenil)disulfano



25 A una solución agitada de 3-metoxibencenotiol (100 g, 0.7 mol) en metanol (1000 ml), se agregó en forma de gotas bromo (73 ml, 1.4 mol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evaporó bajo 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 Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se disolvió en ácido acético glacial (600 ml), bromo (20 ml) se agregó en forma de gotas 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 bajo vacío para proporcionar el compuesto del título puro. Rendimiento: 37 % (78 g, sólido blanco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.69 (s, 2H), 7.17 (s, 2H), 3.84 (s, 6H).

Intermedio 13

Cloruro de 2,4-Dibromo-5-metoxibencenosulfonilo

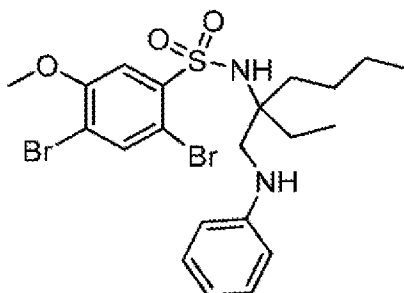


A una suspensión agitada de 1,2-bis(2,4-dibromo-5-metoxifenil)disulfano (Intermedio 12; 20.0 g, 33.67 mmol) y nitrato de potasio (17.02 g, 168.35 mmol) en acetonitrilo (200 ml) se agregó en forma de gotas cloruro de sulfurilo (13.6 ml, 168.35 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se vertió en hielo picado y el sólido obtenido

se filtró. El sólido se lavó con agua y se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 91 % (22.5 g, sólido blanco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.05 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 4.01 (s, 3H).

Intermedio 14

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



5

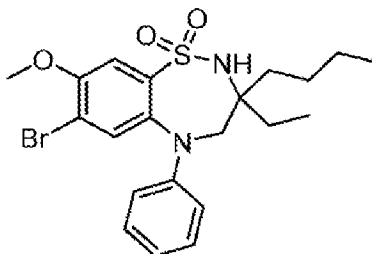
A una solución agitada de 2-etil-N1-fenilhexano-1,2-diamina (Intermedio 11; 4.9 g, 22.34 mmol) en THF (10 ml) se agregaron cloruro de 2,4-dibromo-5-metoxibencenosulfonilo (Intermedio 13; 10.5 g, 28.91 mmol) y trietilamina (9.3 ml, 67.02 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada 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 Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 10 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 59 % (7.2 g, sólido blanco).

10

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8.01 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.03 (t, J = 8.1 Hz, 2H), 6.54 - 6.46 (m, 3H), 4.80 (t, J = 5.1 Hz, 1H), 3.86 (s, 3H), 3.07-2.96 (m, 2H), 1.66-1.41 (m, 4H), 1.15-0.95 (m, 4H), 0.78-0.69 (m, 6H).

15 Intermedio 15

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



20

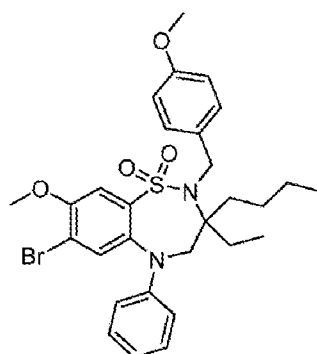
A una solución agitada de 2,4-dibromo-5-metoxi-N-(3-((fenilamino)metil)heptan-3-il)bencenosulfonamida (Intermedio 14; 7.2 g, 13.1 mmol) en DMF (50 ml) se agregaron carbonato de potasio (3.62 g, 26.2 mmol) y polvo de cobre (834 mg, 13.1 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 24 horas a 150 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celita y se lavó con EtOAc (25 ml). La parte del filtrado se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 83 % (5.1 g, sólido blanco).

25

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.43-7.30 (m, 4H), 7.15-7.13 (m, 2H), 7.03-7.01 (m, 2H), 4.00-3.60 (m, 5H), 1.62-1.34 (m, 4H), 1.08-0.95 (m, 4H), 0.74-0.71 (m, 6H). LCMS: (Método A) 467.0 (M⁺), Rt. 3.06 min, 95.31 % (máx).

Intermedio 16

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

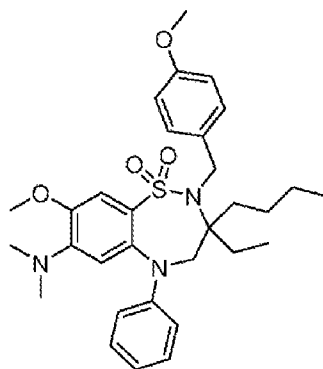


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina (Intermedio 15; 20.0 g, 42.7 mmol) en N-metil-2-pirrolidona (100 ml) se agregaron Cs_2CO_3 (27.8 g, 85.5 mmol) y bromuro de p-metoxibencilo (7.98 ml, 39.5 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada 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_2SO_4 anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 10 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 64 % (16 g, sólido blanco).

LCMS: (Método A) 587.2 (M^+), Rt. 3.51 min, 92.94 % (máx).

Intermedio 17

1,1-dióxido de 3-Butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina

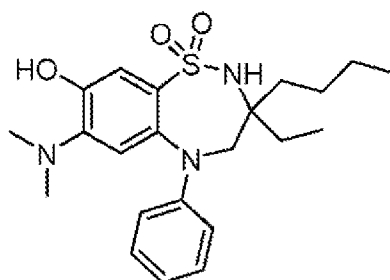


A una solución desgasificada de 1,1-dióxido de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydrobenzo-1,2,5-tiadiazepina (Intermedio 16; 3.5 g, 6.34 mmol) en 1,4-dioxano (35 ml) se agregaron tert-butoxido de sodio (1.2 g, 12.6 mmol), xantphos (0.073 g, 0.13 mmol) y Pd_2dba_3 (0.058 g, 0.06 mmol) y la solución se desgasificó durante 10 minutos bajo atmósfera de N_2 . Se agregó N,N-dimetilamina (3.5 ml, 31.7 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 48 horas a 100 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada 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 solución salina (75 ml), se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 30 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 40 % (1.4 g, goma marrón).

RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7.34-7.28 (m, 5H), 7.11-7.02 (m, 3H), 6.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 6.28 (s, 1H), 4.50 (bs, 2H), 4.12 (bs, 2H), 3.92 (s, 3H), 3.81 (s, 3H), 2.68 (s, 6H), 1.42-1.25 (m, 2H), 1.19-1.05 (m, 2H), 0.95-0.81 (m, 4H), 0.73-0.58 (m, 6H). LCMS: (Método E) 552.1 ($\text{M}^+ + \text{H}$), Rt. 2.80 min, 81.8 % (máx).

Intermedio 18

1,1-dióxido de 3-Butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina

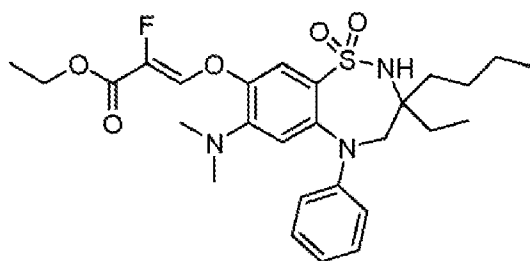


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-metoxi-2-(4-metoxibencil)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina (Intermedio 17; 0.7 g, 1.22 mmol) en DMF (10 ml), se agregó metóxido de sodio (0.5 g, 6.32 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 100 °C. La finalización de la reacción (monitorizada por TLC y LCMS), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo obtenido se diluyó con EtOAc (20 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 20 ml) y solución salina (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 70 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 60 % (0.4 g, sólido blancuzco).

LCMS: (Método E) 418.2 (M⁺+H), Rt. 2.14 min, 88.9 % (máx).

Intermedio 19

(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo

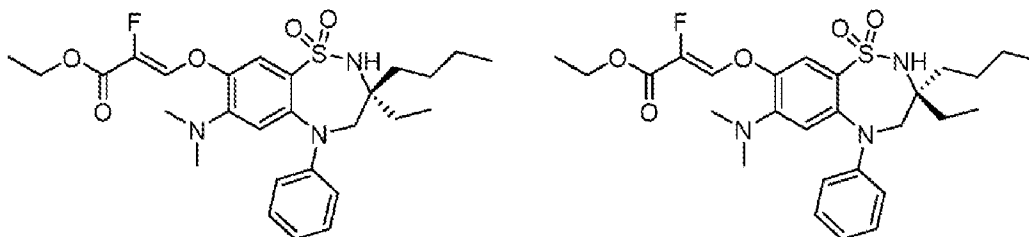


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepina (Intermedio 18; 0.45 g, 1.07 mmol) en DMA (5 ml) a 0 °C, se agregó en forma de porciones NaH (60 %; 0.14 g, 3.5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 0 °C. Luego se agregó una solución de 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (0.585 g, 2.69 mmol) en DMA (1 ml), y la mezcla de reacción se calentó durante 3 horas a 70 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con HCl diluido (1.5 N, pH ~4) y se diluyó con agua (15 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 15 ml), la capa orgánica combinada se lavó con solución salina (15 ml) y luego se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 10-15 %; gel de sílice: malla 230-400). El compuesto obtenido se volvió a purificar mediante Prep-HPLC (Método A) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 34 % (0.20 g, sólido blancuzco).

LCMS: (Método E) 534.1 (M⁺+ H), Rt. 3.21 min, 98.37 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 6.36 min, 99.94 % (Máx).

Intermedio 20

(S)-(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo y (R)-(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo



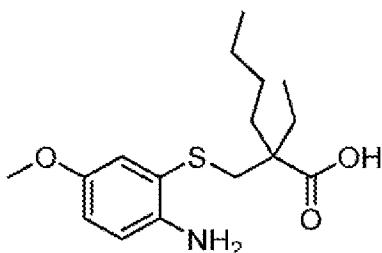
Los dos enantiómeros de (Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo racémico (Intermedio 19; 0.12 g, 0.21 mmol) se separaron mediante SFC quiral (Método K). El material se concentró bajo vacío a 40 °C. La primera fracción eluyente correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción eluyente correspondió al enantiómero 2. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Enantiómero 1: Rendimiento: 43.5 % (50 mg, sólido blancuzco). LCMS: (Método E) 534.2 (M⁺+H), Rt. 3.21 min, 99.95 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 6.32 min, 99.24 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 43.5 % (50 mg, sólido blancuzco). LCMS: (Método E) 534.2 (M⁺+H), Rt. 3.21 min, 99.41 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 6.32 min, 99.47 % (Máx).

Intermedio 21

Ácido 2-(((2-Amino-5-metoxifenil)tio)metil)-2-etilhexanoico



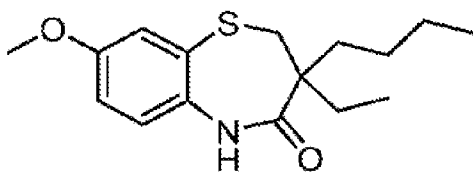
A una solución agitada de 6-metoxibenzo[d]tiazol-2-amina (270 g, 1.498 mol) en agua (2700 ml), se agregó KOH (1345 g, 23.96 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 120 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Luego se agregó en forma de gotas una solución de ácido 2-(bromometil)-2-etilhexanoico (533 g, 2.25 mol) en THF (1000 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se acidificó con HCl concentrado (pH ~2). La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc (2 X 4000 ml) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (1000 ml) y solución salina

(1000 ml). La parte orgánica luego se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío para obtener el material crudo, que se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 590 g (crudo, goma marrón).

LCMS: (Método A) 312.1 (M⁺+H), Rt. 2.24 min, 97.34 % (Máx).

Intermedio 22

3-Butil-3-etil-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

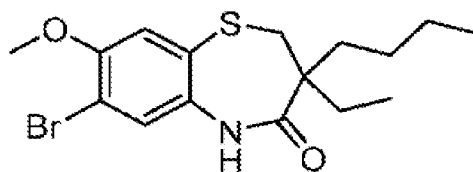


A una solución agitada de ácido 2-(((2-amino-5-metoxifenil)tio)metil)-2-etilhexanoico (Intermedio 21; 590 g, 1.89 mol) en EtOAc (2500 ml) a 0 °C, se agregaron en forma de gotas trietil amina (530 ml, 3.78 mol) y solución de anhídrido de 1-propanofosónico (50 % en EtOAc; 785 g, 2.46 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), se agregó agua (2000 ml) a la mezcla de reacción y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 2000 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (800 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo se purificó mediante lavado con metanol para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 48 % (265 g, sólido blancuzco).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 9.53 (s, 1H), 7.04-7.01 (m, 2H), 6.87-6.86 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.50 (s, 2H), 1.68-1.66 (m, 4H), 1.50-1.48 (m, 4H), 0.79-0.72 (m, 6H). LCMS: (Método A) 294.3 (M⁺+H), Rt. 2.68 min, 99.47 % (Máx).

Intermedio 23

7-Bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

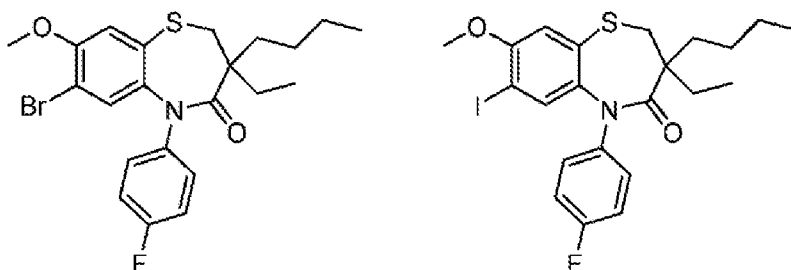


A una solución agitada de 3-butil-3-etil-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 22; 265 g, 0.903 mol) en una mezcla 1:1 de DCM y acetonitrilo (2650 ml), se agregó en forma de porciones N-bromo succinimida (209 g, 1.17 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró. El material crudo obtenido se trató con acetonitrilo frío y se agitó durante 30 minutos. El precipitado obtenido se filtró y se lavó con acetonitrilo frío (2 X 100 ml) y se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 179 g (79 %, crudo, sólido marrón).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 9.61 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.10 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.98 (s, 2H), 1.70-1.68 (m, 4H), 1.48-1.45 (m, 4H), 0.84-0.82 (m, 6H). LCMS: (Método A) 372.0 (M^+H), Rt. 2.83 min, 99.20 % (Máx).

Intermedio 24

7-Bromo-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

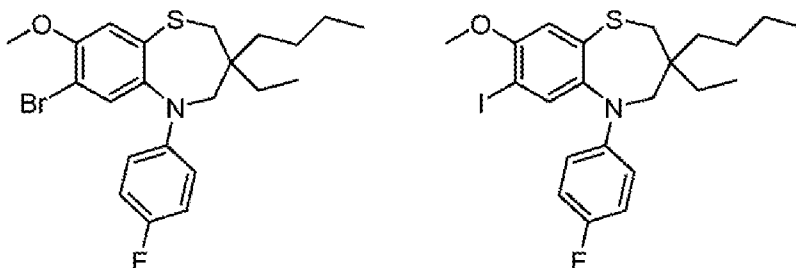


A una solución agitada de 7-bromo-3-butil-3-etil-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 23; 15 g, 40.2 mmol) en 1-fluoro-4-yodobenceno (50 ml), se agregaron yoduro de cobre (I) (1.58 g, 0.8 mmol) y K_2CO_3 (11 g, 80.5 mmol) y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 20 minutos para desgasificación. Luego se agregó tris[2-(2-metoxietoxi)etil]amina (1.3 ml, 4.0 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción resultante se calentó durante 16 horas a 135 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de celita y la almohadilla de celita se lavó con EtOAc (200 ml). El filtrado se lavó con agua (100 ml) y solución salina (75 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: 5 % EtOAc/PE; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 64 % (12.2 g, sólido blancuzco).

LCMS: (Método E) 467.1 (M^+2) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 514.1 (M^+H) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.33 min, 92.83 % (Máx).

Intermedio 25

7-Bromo-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina



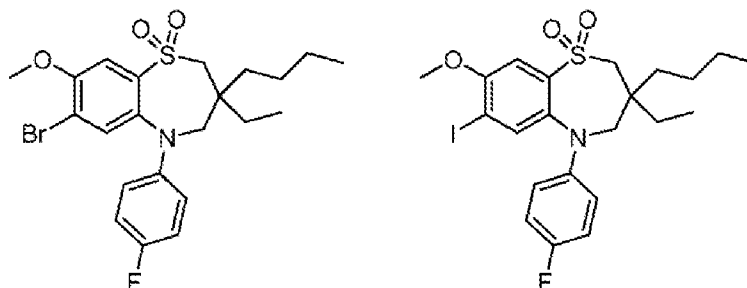
A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 24; 12 g, 25.7 mmol) en THF (100 ml) a 0 °C se agregó en forma de gotas dimetilsulfuro de borano (2M en THF; 38 ml, 77 mmol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con metanol

(20 ml) y se calentó durante 2 horas a 65 °C. La mezcla de reacción resultante luego se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo se diluyó con agua (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada luego se lavó con agua (50 ml) y solución salina (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 10 g (crudo, goma negra).

LCMS: (Método E) 451.8 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 499.7 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.78 min, 75.13 % (Máx).

Intermedio 26

1,1-dióxido de 7-Bromo-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

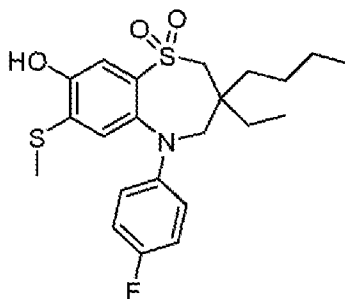


A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 25; 10 g, 26.6 mmol) en THF (100 ml) y agua (60 ml), se agregó oxona (81 g, 26.6 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo Büchner y el filtrado se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (100 ml) y solución salina (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 15 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 54 % (7 g, sólido blanco).

LCMS: (Método E) 486.0 (M⁺+2) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 532.0 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 2.87 min, 91.53 % (Máx).

Intermedio 27

1,1-dióxido de 3-Butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

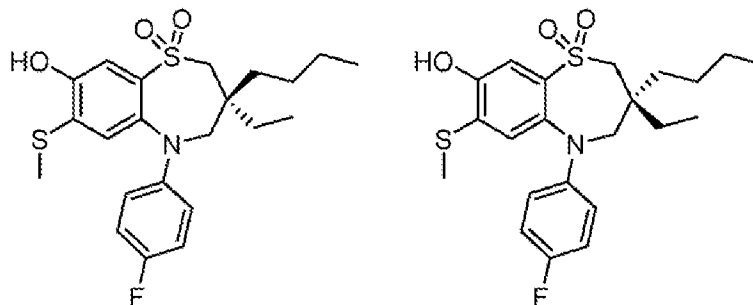


A una solución agitada de una mezcla de 1,1-dióxido de 7-bromo-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-yodo-8-metoxi-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 26; 3 g, 6.2 mmol) en DMF (16 ml), se agregó tiometóxido de sodio (2.1 g, 31 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se apagó con agua (25 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (20 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 10 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 77 % (2.13 g, sólido marrón).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.49 (s, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.06-6.96 (m, 4H), 6.61 (s, 1H), 3.62 (bs, 2H), 3.21 (s, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.61-1.25 (m, 4H), 1.20-1.01 (m, 4H), 0.81-0.74 (m, 6H). LCMS: (Método A) 438.1 (M⁺+H), Rt. 2.78 min, 87.79 % (Máx).

Intermedio 28

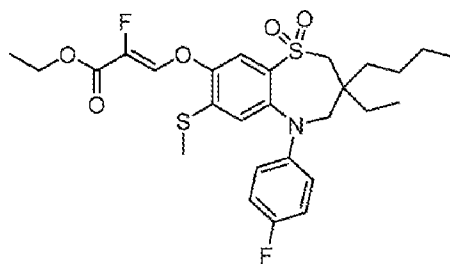
1,1-dióxido de (S)-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,5-tiazepina y 1,1-dióxido de (R)-3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,5-tiazepina



- 5 Los dos enantiómeros de 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina racémica (Intermedio 27) se separaron mediante SFC quiral. El material se concentró bajo vacío a 40 °C. La primera fracción eluyente correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción eluyente correspondió al enantiómero 2. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Intermedio 29

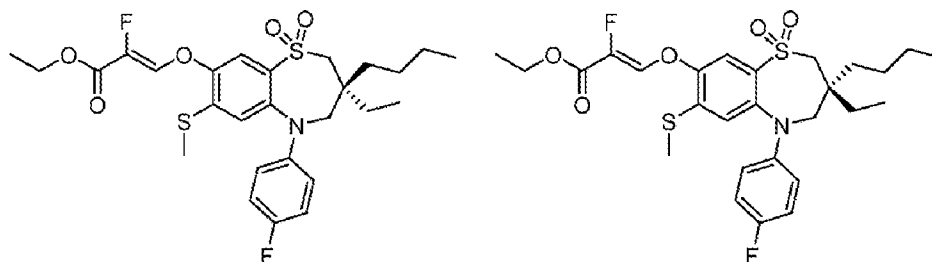
- 10 (Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo



- A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 27; 0.35 g, 0.79 mmol) en DMA (5 ml) a 0 °C, se agregó en forma de porciones NaH (60 %, 0.08 g, 2.60 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. Luego se agregó 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (0.31 g, 1.99 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con HCl diluido (1.5 N, pH ~4) y se diluyó con agua (10 ml). La capa acuosa luego se extrajo con EtOAc (2 X 20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (20 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título crudo que se trituró con Et₂O. El material obtenido se secó bajo vacío y se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 54 % (0.25 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.62 (m, 2H), 7.25-7.22 (m, 2H), 7.18-7.13 (m, 2H), 6.59 (s, 1H), 4.26 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 3.37 (bs, 2H), 3.34 (s, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.54-1.50 (m, 1H), 1.43-1.32 (m, 2H), 1.27-1.24 (m, 3H), 1.16-1.01 (m, 5H), 0.77-0.75 (m, 6H). LCMS: (Método E) 553.8 (M⁺), Rt. 3.34 min, 96.45 % (Máx).

Intermedio 30

(S)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo y (R)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo



A una solución agitada de enantiómero 1 de 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 28; 1 g, 2.285 mmol) en DMA (10 ml) a 0 °C, se agregó en forma de porciones NaH (60 %; 0.29 g, 7.42 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a 0 °C. Luego se agregó 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (5.71 g, 1.99 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con HCl diluido (1.5 N, pH ~4) y se diluyó con agua (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 20 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con solución salina (20 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se trituró adicionalmente con Et₂O. El compuesto obtenido se secó bajo vacío y se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 15-20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el enantiómero 1 del compuesto del título.

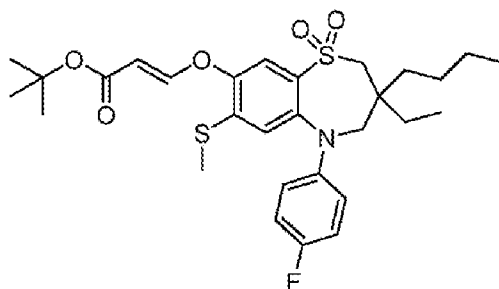
Se obtuvo el enantiómero 2 del compuesto del título siguiendo el mismo procedimiento, partiendo de 1.1 g del enantiómero 2 del Intermedio 28. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Enantiómero 1: Rendimiento: 44 % (0.55 g, sólido blancuzco). LCMS: (Método E) 553.8 (M⁺+H), Rt. 3.32 min, 99.88 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 75 % (1.05 g, sólido blancuzco). LCMS: (Método E) 555.8 (M⁺+2), Rt. 3.32 min, 98.01 % (Máx).

Intermedio 31

(E)-3-(((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilato de tert-butilo

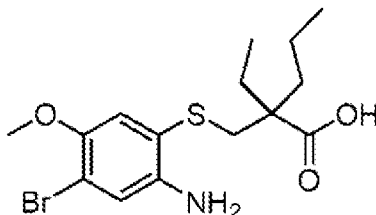


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-8-hidroxi-7-(metiltio)-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 27; 0.2 g, 0.46 mmol) en THF seco (10 ml), se agregaron tert-butilpropiolato (0.057 g, 0.45 mmol) y DABCO (5 mg, 0.045 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo obtenido se sometió a partición entre agua (10 ml) y EtOAc (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). La capa orgánica combinada luego se lavó con solución salina (10 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 25 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 39 % (0.1 g, sólido blanco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.64 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.27-7.25 (m, 2H), 7.17 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.57 (s, 1H), 5.33 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.75 (s, 2H), 3.41 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.61-1.46 (m, 1H), 1.40-1.32 (m, 12H), 1.13-1.10 (m, 2H), 1.09-1.00 (m, 2H), 0.76-0.70 (m, 6H).

Intermedio 32

Ácido 2-(((2-Amino-4-bromo-5-metoxifenil)tio)metil)-2-etilpentanoico



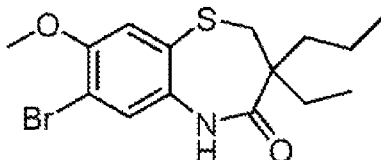
A una solución de 5-bromo-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-amina (20 g, 77.2 mmol) en agua (200 ml) se agregaron KOH (69.1 g, 123 mmol) y Na₂SO₃ (9.7 g, 77.2 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 120 °C. La mezcla de reacción luego se enfrió a 10 °C. Se agregó en forma de gotas una solución de ácido 2-(bromometil)-2-etilpentanoico (26 g, 115 mmol) en THF (30 ml) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 60 °C. Después

de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se apagó con HCl conc., se acidificó y luego se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (150 ml) y solución salina (150 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 30 g (crudo, líquido morado).

- 5 LCMS: (Método E) 377.8 (M⁺+2), Rt. 2.60 min, 77.37 % (Máx).

Intermedio 33

7-Bromo-3-etil-8-metoxi-3-propil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

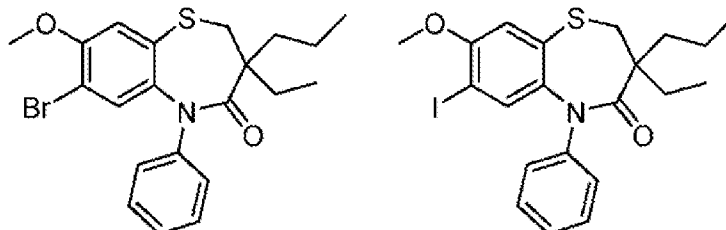


- 10 A una solución de ácido 2-(((2-amino-4-bromo-5-metoxifenil)tio)metil)-2-etilpentanoico (Intermedio 32; 30 g, 80 mmol) en DCM (200 ml), se agregó trietilamina (21.5 ml, 159 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se agregó en forma de gotas solución de anhídrido 1-propanofosfónico (50 % en EtOAc; 50.8 g, 159 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se apagó con agua enfriada con hielo (25 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml).
15 La capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (100 ml) y solución salina (100 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró, se concentró bajo vacío y el residuo obtenido se trituró con metanol frío. El sólido precipitado se filtró y se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 32 % (9 g, sólido gris).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9.63 (s, 1H), 7.34 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 3.83 (s, 3H), 2.99 (s, 2H), 1.73-1.40 (m, 4H), 1.24-1.16 (m, 2H), 0.84-0.76 (m, 6H). LCMS: (Método E) 357.8 (M⁺), Rt. 2.83 min, 99.18 % (Máx).

- 20 Intermedio 34

7-Bromo-3-etil-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3-etil-7-yodo-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

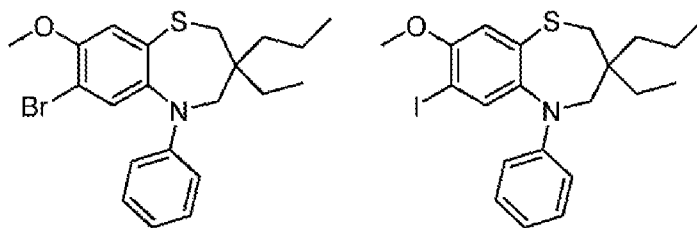


- 25 A una solución de 7-bromo-3-etil-8-metoxi-3-propil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 33; 9 g, 25.1 mmol) en yodobenceno (90 ml), se agregaron K₂CO₃ (3.81 g, 27.62 mmol), tris[2-(2-metoxietoxi)etil] amina (1.62 g, 5.02 mmol) y CuI (0.48 g, 2.51 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 135 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se apagó con agua enfriada con hielo (25 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (100 ml) y solución salina (100 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se trituró con éter de petróleo para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 64 % (7 g, sólido amarillo pálido).
30

LCMS: (Método B) 434.0 (M⁺+H), para el compuesto sustituido con 7-bromo Rt. 14.82 min, 37.52 % (Máx) y 482.0 (M⁺+H), para el compuesto sustituido con 7-yodo Rt. 15.04 min, 57.75 % (Máx).

Intermedio 35

- 35 7-Bromo-3-etil-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-etil-7-yodo-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

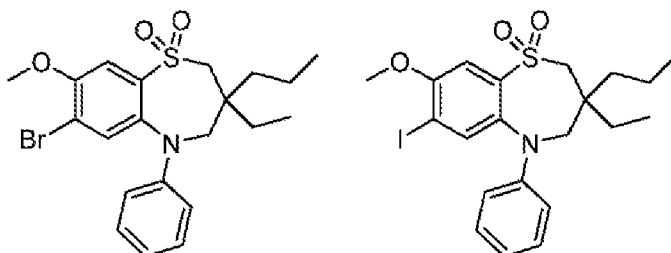


A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3-etil-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-etil-7-yodo-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 34; 7.0 g, 16.12 mmol) en THF (70 ml) a 0 °C, se agregó dimetilsulfuro de borano (1M en THF; 48.38 ml, 48.38 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 70 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se agregó metanol (150 ml) y la mezcla se calentó durante 2 horas a 60 °C. La mezcla de reacción luego se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo obtenido se sometió a partición entre agua (50 ml) y EtOAc (50 ml), y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (100 ml) y solución salina (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 7.5 g (crudo, goma marrón pálido).

LCMS: (Método E) 419.8 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 467.8 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-yodo; Rt. 3.77 min, 80.10 % (Máx).

Intermedio 36

1,1-dióxido de 7-Bromo-3-etil-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3-etil-7-yodo-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

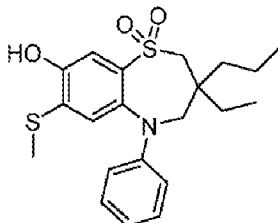


A una solución de una mezcla de 7-bromo-3-etil-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-etil-7-yodo-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 35; 7.5 g, 17.83 mmol) en THF (60 ml) y agua (30 ml), se agregó oxona (27.4 g, 89.19 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (100 ml) y solución salina (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 13 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 62 % (5 g, sólido marrón pálido).

LCMS: (Método E) 452.9 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 499.7 (M⁺+H) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.24 min, 96.49 % (Máx).

Intermedio 37

1,1-dióxido de 3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina



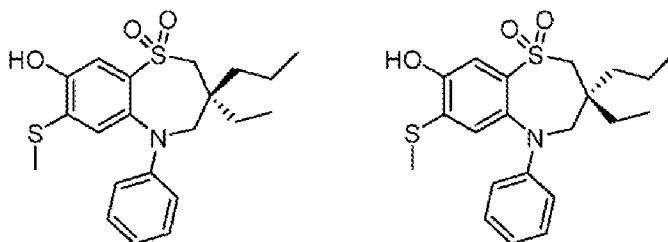
A una solución de una mezcla de 1,1-dióxido de 7-bromo-3-etil-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3-etil-7-yodo-8-metoxi-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 36; 1 g, 2.00 mmol) en DMF (5 ml), se agregó tiometóxido de sodio (0.78 g, 1.0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 12 horas a 100 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la

mezcla de reacción se apagó con agua enfriada con hielo (25 ml) y luego se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (10 ml) y luego solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 30 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 61 % (0.49 g, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.54 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.19 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.80 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 3.64 (bs, 2H), 3.21 (s, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.57-1.55 (m, 1H), 1.45-1.33 (m, 3H), 1.31-1.18 (m, 2H), 0.78-0.74 (m, 6H). LCMS: (Método E) 406.2 (M⁺+H), Rt. 2.93 min, 95.46 % (Máx).

Separación de enantiómeros:

- 1,1-dióxido de (S)-3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y
1,1-dióxido de @-3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina



Los dos enantiómeros de 1,1-dióxido de 3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (0.6 g, 1.47 mmol) se separaron mediante SFC preparativa quiral (Método F).

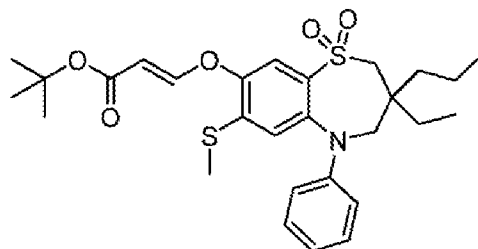
El material se concentró bajo vacío a 40 °C. La primera fracción eluyente correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción eluyente correspondió al enantiómero 2. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Enantiómero 1: Rendimiento: 43 % (0.26 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.54 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.19 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.80 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 3.90-3.50 (m, 2H), 3.28-3.12 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.62-1.50 (m, 1H), 1.50-1.38 (m, 1H), 1.38-1.28 (m, 2H), 1.28-1.10 (m, 2H), 0.95-0.60 (m, 6H). LCMS: (Método E) 406.2 (M⁺+H), Rt. 2.78 min, 97.33 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.47 min, 96.87 % (Máx). SFC quiral: (Método H) Rt. 2.83 min, 99.65 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 52 % (0.31 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 10.53 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.19 (q, J = 7.6 Hz, 2H), 6.91 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.80 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 3.85-3.45 (m, 2H), 3.25-3.18 (m, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.65-1.48 (m, 1H), 1.48-1.38 (m, 1H), 1.38-1.12 (m, 4H), 0.85-0.60 (m, 6H). LCMS: (Método E) 406.3 (M⁺+H), Rt. 2.78 min, 94.14 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.47 min, 98.19 % (Máx). SFC quiral: (Método H) Rt. 2.23 min, 99.91 % (Máx).

Intermedio 38

(E)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilato de tert-butilo

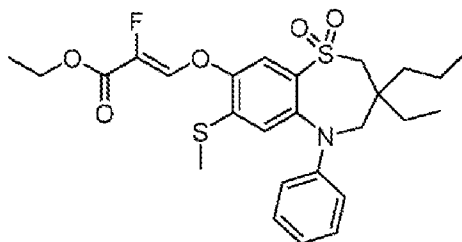


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 37; 0.3 g, 0.74 mmol) en THF seco (10 ml), se agregaron propiolato de tert-butilo (0.14 g, 1.10 mmol) y DABCO (8.3 mg, 0.073 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo obtenido se sometió a partición entre agua (10 ml) y EtOAc (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 10 ml) y la parte orgánica combinada se lavó con solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 25 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 70 % (0.27 g, sólido blancuzco).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7.65 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.31 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.18 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.01 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.67 (s, 1H), 5.37 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.77 (s, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.59-1.51 (m, 1H), 1.47-1.31 (m, 10H), 1.29-1.05 (m, 3H), 1.18-1.11 (m, 1H), 0.78-0.62 (m, 6H). LCMS: (Método E) 476.1 (M^+ - $^t\text{Bu}+\text{H}$), Rt. 3.41 min, 95.82 % (Máx).

5 Intermedio 39

(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,5-tiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo

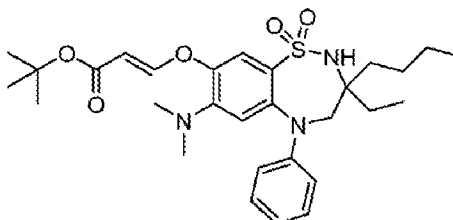


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 37; 0.05 g, 0.12 mmol) en DMA (3 ml) a 0 °C, se agregó en forma de porciones NaH (60 %; 0.016 g, 0.4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 0 °C. Luego se agregó una solución de 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (0.07 g, 0.3 mmol) en DMA (1 ml) y la mezcla de reacción se calentó durante 3 horas a 70 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con HCl diluido (1.5 N, pH ~4) y se diluyó con H₂O (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (10 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE de 15-20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 58 % (0.040 g, sólido blancuzco).

LCMS: (Método E) 522.8 ($M^++\text{H}$), Rt. 2.84 min, 92.17 % (Máx).

20 Intermedio 40

(E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrilato de tert-butilo

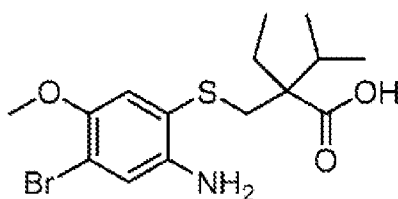


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-8-hidroxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepina (Intermedio 18; 0.5 g, 1.19 mmol) en THF seco (10 ml), se agregaron propiolato de tert-butilo (0.19 g, 1.55 mmol) y DABCO (13.5 mg, 0.12 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró, y el residuo obtenido se sometió a partición entre agua (10 ml) y EtOAc (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 25 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 37 % (0.24 g, goma blancuzca).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7.51 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.36 (t, J = 7.6 Hz, 3H), 7.24-7.27 (m, 3H), 7.07 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.28 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.95 (bs, 2H), 2.58 (s, 6H), 1.65-1.75 (m, 1H), 1.55-1.35 (m, 11H), 1.21-1.09 (m, 2H), 1.08-0.85 (m, 3H), 0.72-0.67 (m, 6H). LCMS: (Método E) 544.3 ($M^++\text{H}$), Rt. 3.37 min, 66.95 % (Máx).

Intermedio 41

2-(ácido 2-Amino-4-bromo-5-metoxifenil)tio)metil)-2-etil-3-metilbutanoico)

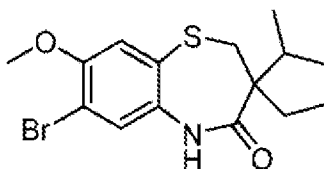


A una solución agitada de 5-bromo-6-metoxibenzo[d]tiazol-2-amina (15 g, 57.8 mmol) en agua (45 ml), se agregó KOH (51.96 g, 92.62 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 120 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se agregó en forma de gotas una solución de ácido 2-(bromometil)-2- etil-3-metilbutanoico (16.79 g, 75.25 mmol) en THF (45 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción luego se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción después de esto se calentó durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (50 ml) y se acidificó con HCl conc. (pH ~2). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (100 ml) y solución salina (100 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se envió como tal a la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 23 g (crudo, goma marrón).

LCMS: (Método E) 378.0 (M⁺+2), Rt. 2.44 min, 90.45 % (Máx).

Intermedio 42

7-Bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona

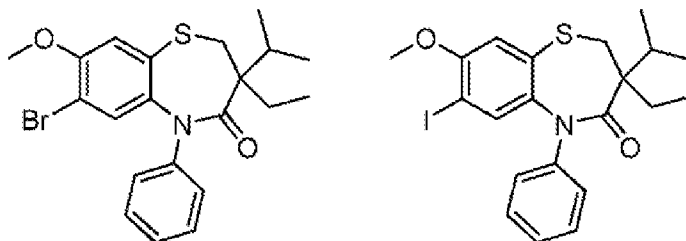


A una solución agitada de 2-(ácido 2-amino-4-bromo-5-metoxifenil)tio)metil)-2-etil-3-metilbutanoico (Intermedio 41; 23 g, 61.1 mmol) en EtOAc (230 ml) a 0 °C, se agregaron en forma de gotas trietilamina (25.5 ml, 91.6 mmol) y solución de anhídrido 1-propanofosónico (50 % en EtOAc; 58.3 g, 91.6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se apagó con agua (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 200 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (100 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 15 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 54 % (12 g, sólido marrón).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9.60 (s, 1H), 7.35-7.32 (m, 1H), 7.11-7.10 (m, 1H), 3.82 (s, 3H), 2.92-2.91 (m, 2H), 2.01-2.00 (m, 1H), 1.78-1.73 (m, 1H), 1.59-1.52 (m, 1H), 0.92-0.87 (m, 6H), 0.81-0.78 (m, 3H). LCMS: (Método E) 358.0 (M⁺), Rt. 2.80 min, 95.47 % (Máx).

Intermedio 43

7-Bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3-etil-7-yodo-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona



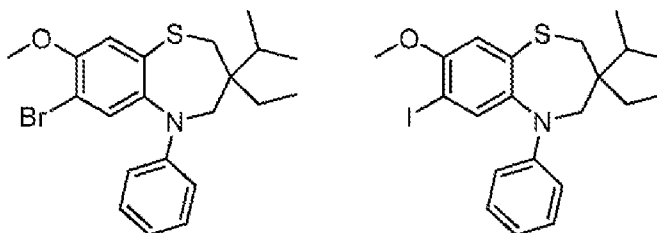
A una solución agitada de 7-bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 42; 12 g, 33.49 mmol) en yodobenceno (120 ml), se agregaron yoduro de cobre (I) (0.637 g, 3.34 mmol) y K₂CO₃ (9.25 g, 66.98 mmol) y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 20 minutos para desgasificación. Luego se agregó Tris[2-(2- metoxietoxi)etil]amina (2.16 g, 66.9 mmol) bajo atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción resultante se calentó durante 16 horas a 135 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se filtró a través de celita y la almohadilla de celita se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se lavó con agua (50 ml) y solución salina (50 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el

material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 10 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 99 % (14.4 g, sólido marrón).

LCMS: (Método E) 434.0 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 482.0 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 2.27 min, 89.64 % (Máx).

5 Intermedio 44

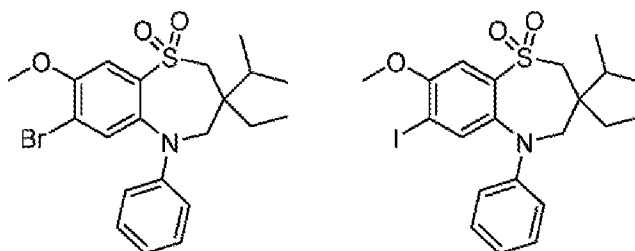
7-Bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-etil-7-yodo-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina



- 10 A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona y 3-etil-7-yodo-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3-dihidro-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (Intermedio 43; 14.4 g, 33.14 mmol) en THF (50 ml) a 0 °C, se agregó en forma de gotas dimetilsulfuro de borano (2M en THF, 25 ml, 0.049 mol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con metanol (15 ml) y luego se calentó durante 2 horas a 65 °C. La mezcla de reacción resultante luego se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo vacío. El residuo obtenido se sometió a partición entre agua (100 ml) y EtOAc (50 ml) y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 100 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (50 ml) y solución salina (50 ml) y luego se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 4-5 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 22 % (3.1 g, sólido blanco).
- 15
- 20 RMN ^1H (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 7.22-7.15 (m, 3H), 7.07-7.02 (m, 1H), 6.83-6.74 (m, 3H), 3.85 (s, 3H), 3.32-3.18 (m, 2H), 2.84-2.67 (m, 2H), 1.93-1.87 (m, 1H), 1.61-1.58 (m, 1H), 1.47-1.36 (m, 1H), 0.89-0.81 (m, 6H), 0.79-0.76 (m, 3H). LCMS: (Método E) 420.1 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 468.1 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.61 min, 92.37 % (Máx)

Intermedio 45

- 25 1,1-dióxido de 7-Bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3-etil-7-yodo-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

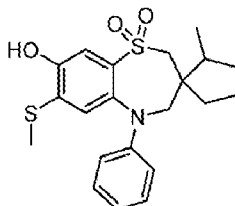


- 30 A una solución agitada de una mezcla de 7-bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 3-etil-7-yodo-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 44; 3.1 g, 7.37 mmol) en THF (22 ml) y agua (9.5 ml), se agregó oxona (22.6 g, 73.7 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por LCMS), la mezcla de reacción se filtró a través de un embudo de Büchner. El filtrado se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con agua (50 ml) y solución salina (50 ml) y se secó sobre Na_2SO_4 anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 13 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 75 % (2.5 g, sólido marrón).
- 35

LCMS: (Método E) 454.0 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-bromo y 500.0 ($M^+ + H$) para el compuesto sustituido con 7-yodo, Rt. 3.16 min, 89.35 % (Máx)

Intermedio 46

1,1-dióxido de 3-Etil-8-hidroxi-3-isopropil-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina

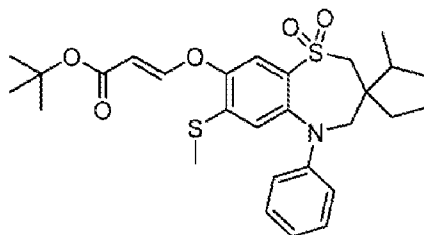


A una solución agitada de una mezcla de 1,1-dióxido de 7-bromo-3-etil-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina y 1,1-dióxido de 3-etil-7-yodo-3-isopropil-8-metoxi-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 45; 1 g, 2.21 mmol) en DMF (10 ml), se agregó tiometóxido de sodio (0.77 g, 11.0 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 65 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se apagó con agua (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 15%; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 72 % (0.65 g, sólido marrón).

LCMS: (Método E) 406.1 (M⁺+H), Rt. 2.83 min, 90.12 % (Máx).

Intermedio 47

tert-Butil-ε-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilato

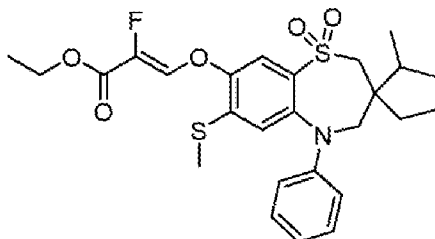


A una solución agitada de 1,1-dióxido de 3-etil-8-hidroxi-3-isopropil-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (intermedio 46; 0.2 g, 0.49 mmol) en THF seco (10 ml), se agregaron propiolato de *tert*-butilo (0.093 g, 0.73 mmol) y DABCO (5 mg, 0.049 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo obtenido se sometió a partición entre agua (10 ml) y EtOAc (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 10 ml). La parte orgánica combinada se lavó con solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 25%; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 37 % (0.23 g, sólido blancuzco).

LCMS: (Método D) 476.1 (M⁺-^tBu+H), Rt. 4.34 min, 87.65 % (máx).

Intermedio 48

Etil-(Z)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato



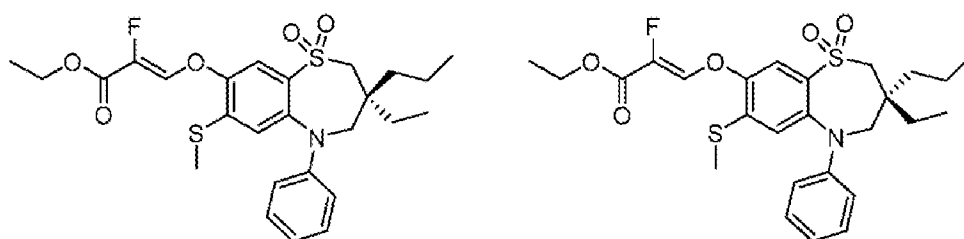
A una suspensión de NaH (60%; 69 mg, 1.72 mmol) en DMF (1 ml) a 0 °C, se agregó una solución de 3-etil-8-hidroxi-3-isopropil-7-(metiltio)-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina-1,1-dióxido (intermedio 46; 0.3 g, 0.73 mmol) en DMA (4 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a 0 °C. Luego se agregó 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (0.3 g, 0.73 mmol) y la mezcla de reacción se calentó durante 3 horas a 80 °C. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se enfrió, se apagó con HCl diluido (1.5

N, 3 ml) y se concentró bajo vacío. El residuo obtenido se sometió a partición entre agua enfriada con hielo (10 ml) y EtOAc (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml), y la capa orgánica combinada luego se lavó con agua enfriada con hielo (10 ml) y solución salina (10 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 16 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 76 % (220 mg, sólido amarillo pálido).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.69-7.64 (m, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.28 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.96 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.74 (s, 1H), 4.27 (q, J = 7.2 Hz, 2H), 4.10-4.06 (m, 2H), 3.40-3.37 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.00-1.92 (m, 1H), 1.70-1.67 (m, 1H), 1.61-1.55 (m, 1H), 1.29-1.24 (m, 3H), 0.90 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.8 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.70-0.68 (m, 3H). LCMS: (Método E) 522.1 (M⁺+H), Rt. 3.05 min, 90.19 % (máx).

Intermedio 49

(S)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo y (R)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo



A una solución agitada de enantiómero 1 de 1,1-dióxido de 3-etil-8-hidroxi-7-(metiltio)-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepina (Intermedio 37; 100 mg, 0.24 mmol) en DMA (6 ml) a 0 °C, se agregó en forma de porciones NaH (60 %, 32.05 mg, 0.80 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se agregó una solución de 3-bromo-2,2-difluoropropanoato de etilo (133.98 mg, 0.61 mmol) en DMA (2.5 ml), y la mezcla de reacción se calentó durante 16 horas a 90 °C. Después de la finalización de la reacción (monitoreada por TLC & UPLC), la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se apagó con HCl diluido (1.5 N HCl, pH ~4, 3 ml) y luego se diluyó con H₂O (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 20 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con agua (5 ml) y solución salina (5 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró bajo vacío. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE de 15-20 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título.

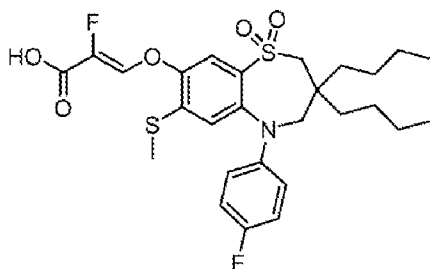
El enantiómero 2 del compuesto del título se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento, partiendo de 150 mg de enantiómero 2 del Intermedio 37. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Enantiómero 1: Rendimiento: 39 % (50 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.67-7.60 (m, 2H), 7.30 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.98 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 4.31-4.23 (m, 3H), 3.88-3.79 (m, 3H), 2.20 (s, 3H), 1.62-1.48 (m, 1H), 1.45-1.30 (m, 2H), 1.30-1.20 (m, 5H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.75-0.66 (m, 6H). LCMS: (Método E) 522.0 (M⁺+H), Rt. 3.21 min, 61.33 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 42 % (80 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.64 (d, J = 26.4 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 10.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 6.99 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 4.32-4.22 (m, 2H), 3.85-3.60 (m, 2H), 3.40-3.30 (m, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.62-1.48 (m, 1H), 1.48-1.05 (m, 8H), 0.80-0.60 (m, 6H). LCMS: (Método E) 522.0 (M⁺+H), Rt. 3.22 min, 96.25 % (Máx).

Ejemplo 1

Ácido (Z)-3-((3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico

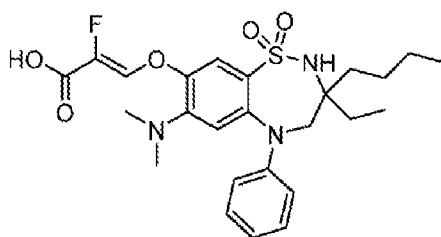


A una solución agitada de (Z)-3-((3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 5; 0.15 g, 0.25 mmol) en 1,4-dioxano/H₂O (2:1, 5 ml), se agregó hidróxido de litio (32 mg, 0.77 mmol) y la mezcla de reacción se agitó 2 h a T.Amb. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, pH~4) y se diluyó con agua enfriada con hielo (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 10 ml), luego la capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml) y solución salina (5 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 56 % (80 mg, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.56 (s, 1H), 7.55 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.24-7.23 (m, 2H), 7.16 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.58 (s, 1H), 3.73 (bs, 2H), 3.38 (s, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.42-1.31 (m, 4H), 1.17-1.02 (m, 8H), 0.76 (t, J = 6.8 Hz, 6H). LCMS: (Método E) 554.2 (M⁺ + H), Rt. 3.23 min, 99.15 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 6.35 min, 96.80 % (Máx).

Ejemplo 2

Ácido (Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico

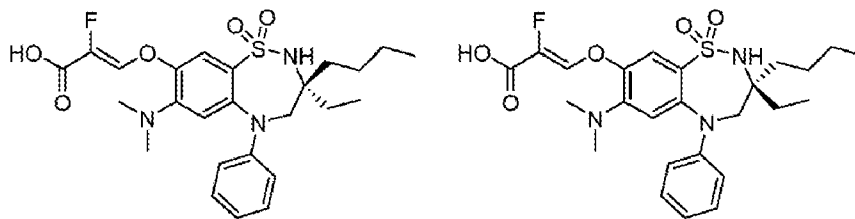


A una solución agitada de (Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 19; 0.145 g, 0.27 mmol) en 1,4-dioxano/H₂O (4:1, 5 ml), se agregó hidróxido de litio (0.034 g, 0.82 mmol) y la mezcla de reacción se agitó 1 h a T.Amb. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, pH~4) y se diluyó con agua enfriada con hielo (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 5 ml), luego la capa orgánica combinada se lavó con agua (5 ml) y solución salina (5 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. Rendimiento: 8 % (0.010 g, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.5 (bs, 1H), 7.33 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.27 (s, 2H), 7.21 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.02 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 6.17 (s, 1H), 3.89 (bs, 2H), 3.54-3.33 (s, 2H), 2.56 (s, 3H), 1.71-1.47 (m, 1H), 1.50-1.39 (m, 1H), 1.37-1.32 (m, 2H), 1.24-0.87 (m, 5H), 0.71 (t, J = 13.2 Hz, 6H). LCMS: (Método E) 506.3 (M⁺ + H), Rt. 2.93 min, 97.81 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.575 min, 98.63 % (Máx).

Ejemplos 3 y 4

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



A una solución agitada de enantiómero 1 de (Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 20; 0.05 g, 0.09 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano y agua (4:1, 5 ml), se agregó hidróxido de litio (8 mg, 0.18 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, 3 ml, pH~4) y se diluyó con agua enfriada con hielo (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml) y solución salina (10 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío para proporcionar el enantiómero 1 del compuesto del título.

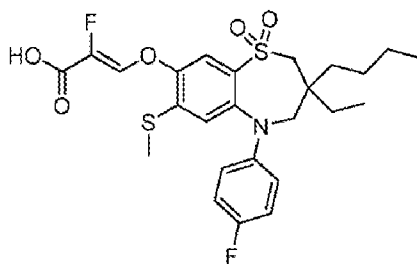
El enantiómero 2 del compuesto del título se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento, partiendo de 0.05 g de enantiómero 2 del Intermedio 20. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Enantiómero 1: Rendimiento: 85 % (0.04 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.55 (bs, 1H), 7.37-7.31 (m, 4H), 7.25-7.21 (m, 3H), 7.06-7.02 (m, 1H), 6.16 (s, 1H), 3.89 (bs, 2H), 2.65 (s, 6H), 1.71-1.46 (m, 2H), 1.44-1.35 (m, 2H), 1.22-1.28 (m, 1H), 1.10-1.02 (m, 1H), 0.89-0.95 (m, 2H), 0.75-0.67 (m, 6H). LCMS: (Método E) 506.1 (M⁺+H), Rt. 2.91 min, 97.62 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.51 min, 97.51 % (Máx). Pureza quiral: (Método L) Rt. 4.25 min, 95.32 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 85 % (0.04 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.55 (bs, 1H), 7.36-7.31 (m, 4H), 7.23-7.19 (m, 3H), 7.05-7.02 (m, 1H), 6.16 (s, 1H), 3.95 (bs, 2H), 2.66 (s, 6H), 1.71-1.46 (m, 2H), 1.44-1.35 (m, 2H), 1.22-1.28 (m, 1H), 1.10-1.02 (m, 1H), 0.89-0.95 (m, 2H), 0.75-0.67 (m, 6H). LCMS: (Método E) 506.1 (M⁺+H), Rt. 2.91 min, 97.31 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.51 min, 96.36 % (Máx). Pureza quiral: (Método L) Rt. 5.17 min, 99.32 % (Máx).

Ejemplo 5

Ácido (Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico

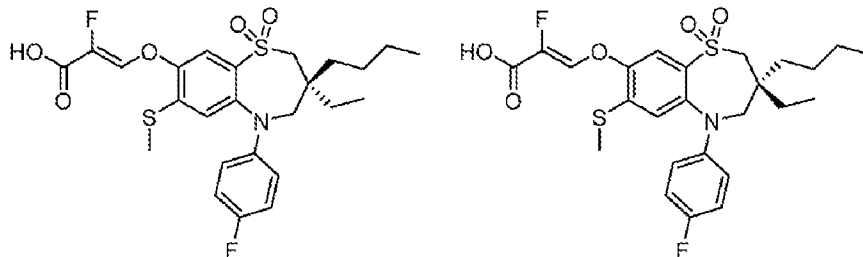


A una solución agitada de (Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 29; 0.1 g, 0.18 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano y agua (4:1, 5 ml), se agregó hidróxido de litio (0.023 g, 0.54 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, 1 ml, pH~4) y luego se diluyó con agua (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 10 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml) y solución salina (10 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: MeOH al 2-3 % en DCM; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 98 % (0.18 g, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 7.52 (s, 1H), 7.48 - 7.43 (m, 1H), 7.21-7.13 (m, 4H), 6.60 (s, 1H), 3.72 (bs, 2H), 3.34 (s, 2H), 2.19 (s, 3H), 1.52-1.50 (m, 1H), 1.38-1.31 (m, 3H), 1.38-0.86 (m, 4H), 0.76-0.75 (m, 6H). LCMS: (Método E) 526.1 (M⁺+H), Rt. 2.65 min, 97.24 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.89 min, 95.15 % (Máx).

Ejemplos 6 y 7

Ácido (S)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico y ácido (R)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico



A una solución agitada de enantiómero 1 de (Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 30, 0.55 g, 0.99 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano y agua (4:1, 5 ml), se agregó hidróxido de litio (0.13 g, 2.9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, 1 ml, pH~4) y luego se diluyó con agua (10 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 15 ml). La capa orgánica combinada luego se lavó con agua (10 ml) y solución salina (10 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: MeOH al 2-3 % en DCM; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el enantiómero 1 d el compuesto del título.

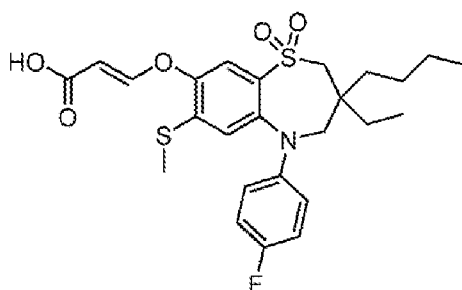
El enantiómero 2 del compuesto del título se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento, partiendo de 0.6 g de enantiómero 2 del Intermedio 30. En lugar de purificación por cromatografía en columna, el compuesto obtenido se trituró con hexano (10 ml) y se secó bajo vacío. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

5 Enantiómero 1: Rendimiento: 78 % (0.41 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.53 (s, 1H), 7.57-7.52 (m, 2H), 7.26-7.20 (m, 2H), 7.15 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.60 (s, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.30 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.55-1.50 (m, 2H), 1.39-1.32 (m, 2H), 1.16-1.01 (m, 4H), 0.77-0.71 (m, 6H). LCMS: (Método E) 526.1 (M⁺+H), Rt. 3.01 min, 99.08 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.87 min, 97.26 % (Máx).

10 Enantiómero 2: Rendimiento: 92 % (0.52 g, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.57 (s, 1H), 7.61-7.54 (m, 1H), 7.51 (s, 1H), 7.23-7.20 (m, 2H), 7.15 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.60 (s, 1H), 3.75 (bs, 2H), 3.37 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.53-1.32 (m, 4H), 1.13-1.01 (m, 4H), 0.77-0.74 (m, 6H). LCMS: (Método E) 526.1 (M⁺+H), Rt. 3.01 min, 96.20 % (Máx). HPLC: (Método D) Rt. 16.06 min, 97.4 % (Máx). HPLC quiral: (Método A) Rt. 10.12 min, 96.88 % (Máx)

Ejemplo 8

Ácido (E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico

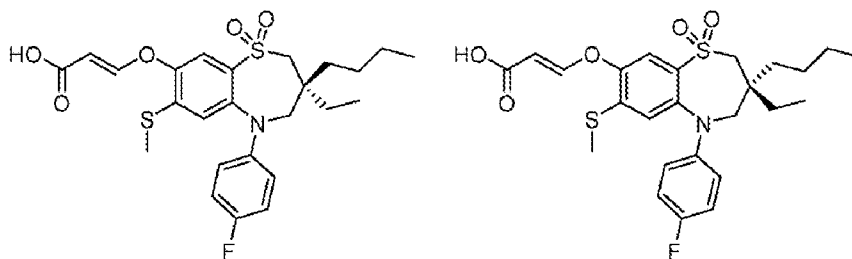


15 A una solución agitada de (E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilato de tert-butilo (Intermedio 31; 0.1 g, 0.177 mmol) en DCM (5 ml), se agregó TFA (0.6 ml) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante HPLC Prep (Método D) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 66 % (60 mg, sólido blancuzco).

20 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.22 (bs, 1H), 7.67 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.28-7.24 (m, 2H), 7.16 (t, J = 9.2 Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 5.41 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.75 (s, 2H), 3.40 (bs, 2H), 2.18 (bs, 3H), 1.61-1.46 (m, 1H), 1.46-1.29 (m, 3H), 1.13-1.10 (m, 2H), 1.09-0.97 (m, 2H), 0.76-0.69 (m, 6H). LCMS: (Método E) 508.1 (M⁺+H), Rt. 2.63 min, 99.40 % (Máx), HPLC: (Método B) Rt. 5.80 min, 99.70 % (Máx).

25 Ejemplos 9 y 10:

Ácido (S)-(E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico y ácido (R)-(E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico



30 Los dos enantiómeros de ácido (E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico racémico (Ejemplo 8; 0.04 g, 0.078 mmol) se separaron mediante HPLC quiral (Método A). El material se concentró bajo vacío a 40 °C. La primera fracción eluyente correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción eluyente correspondió al enantiómero 2. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

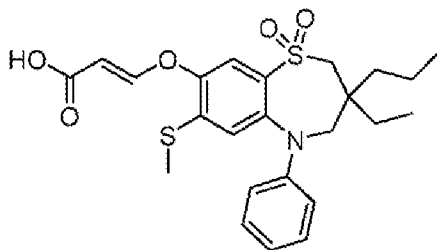
35 Enantiómero 1: Rendimiento: 30 % (10 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.22 (s, 1H), 7.67 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.27-7.23 (m, 2H), 7.16 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 5.41 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.78 (bs, 2H), 3.40 (s, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.55-1.49 (m, 1H), 1.39-1.32 (m, 3H), 1.19-0.99 (m, 4H), 0.76-0.70 (m, 6H). LCMS:

(Método A) 507.8 (M⁺+H), Rt. 2.74 min, 99.52 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.79 min, 99.46 % (Máx). HPLC quiral: (Método A) Rt. 6.82 min, 100 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 20 % (8 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.07 (s, 1H), 7.67 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.27-7.23 (m, 2H), 7.16 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 6.59 (s, 1H), 5.41 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.40 (s, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.55-1.49 (m, 1H), 1.39-1.32 (m, 3H), 1.19-1.07 (m, 2H), 1.09-1.06 (m, 2H), 0.78-0.71 (m, 6H). LCMS: (Método A) 508.1 (M⁺+H), Rt. 2.74 min, 99.70 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.79 min, 97.32 % (Máx). HPLC quiral: (Método A) Rt. 9.21 min, 100 % (Máx).

Ejemplo 11

Ácido (E)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico



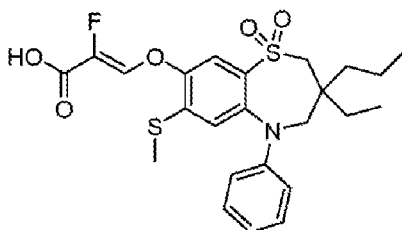
A una solución agitada de (E)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilato de tert-butilo (Intermedio 38; 0.27 g, 0.51 mmol) en DCM (5 ml), se agregó TFA (0.3 ml, 3 vol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 25 %; gel de sílice: malla 230-400) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 21 % (52 mg, sólido marrón pálido).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.25 (s, 1H), 7.69 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.30 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 7.16 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.99 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.69 (s, 1H), 5.43 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.75 (s, 2H), 3.41 (s, 2H), 2.18 (s, 3H), 1.59-1.51 (m, 1H), 1.47-1.31 (m, 3H), 1.29-1.05 (m, 2H), 0.75-0.66 (m, 6H).

LCMS: (Método B) 475.9 (M⁺+H), Rt. 2.59 min, 96.43 % (Máx), HPLC: (Método A) 5.16 min, 95.35 % (Máx).

Ejemplo 12

Ácido (Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidrobenzo-1,5-tiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico

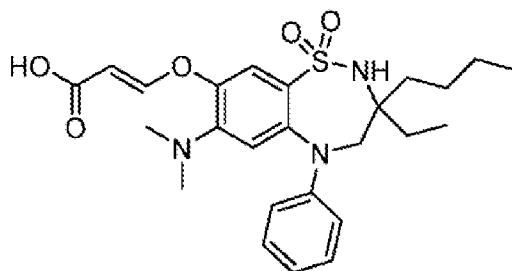


A una solución agitada de (Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 39; 0.037 g, 0.07 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano y agua (4:1, 5 ml), se agregó hidróxido de litio (0.004 g, 0.14 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, pH~4) y luego se diluyó con agua enfriada con hielo (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml) y la capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml) y solución salina (10 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 83 % (0.03 g, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.56 (s, 1H), 7.59-7.54 (m, 2H), 7.29 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.98 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 3.74 (bs, 2H), 3.35 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.57-1.34 (m, 4H), 1.29-1.14 (m, 2H), 0.76-0.74 (m, 6H). LCMS: (Método E) 494.1 (M⁺+H), Rt. 2.55 min, 99.32 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.64 min, 97.37 % (Máx).

Ejemplo 13

Ácido (E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico

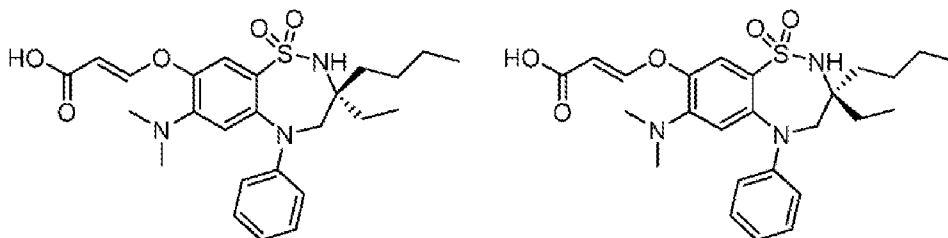


A una solución agitada de (E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrilato de tert-butilo (Intermedio 40; 0.24 g, 0.44 mmol) en DCM (5 ml), se agregó TFA (0.75 ml, 3 vol) a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el crudo resultante se purificó mediante Prep- HPLC (Método A) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 8 % (17 mg, sólido blancuzco).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.10 (s, 1H), 7.53 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.35 (t, J = 8.0 Hz, 3H), 7.29-7.18 (m, 3H), 7.06 (t, J = 6.8 Hz, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.32 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 3.94 (bs, 2H), 2.58 (s, 6H), 1.65-1.35 (m, 4H), 1.17-1.04 (m, 2H), 0.92-0.85 (m, 2H), 0.71-0.81 (m, 6H). LCMS: (Método E) 487.9 (M⁺+H), Rt. 2.92 min, 97.30 % (Máx), HPLC: (Método B) Rt. 5.39 min, 95.02 % (Máx).

Ejemplos 14 y 15

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



Los dos enantiómeros de ácido (E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrilico racémico (Ejemplo 13; 70 mg, 0.14 mmol) se separaron mediante SFC quiral (Método K). El material se concentró bajo vacío a 40 °C. La primera fracción eluyente correspondió al enantiómero 1 y la segunda fracción eluyente correspondió al enantiómero 2. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

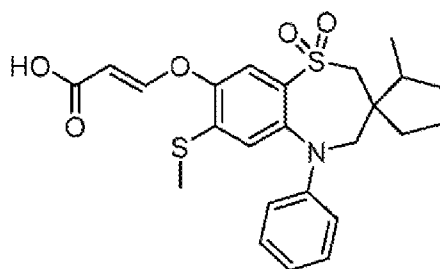
Luego, cada una de las dos fracciones se trató individualmente para su posterior purificación. El residuo obtenido se acidificó con HCl diluido (1.5 N, pH~4) y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (5 ml) y solución salina (5 ml) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. La parte orgánica se filtró y se concentró bajo vacío a 40 °C para proporcionar un enantiómero purificado del compuesto del título.

Enantiómero 1: Rendimiento: 17 % (12 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.11 (s, 1H), 7.54 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.39-7.32 (m, 3H), 7.28-7.32 (m, 3H), 7.13-7.04 (m, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.32 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.96 (bs, 2H), 2.53 (s, 6H), 1.67-1.58 (m, 1H), 1.45-1.37 (m, 3H), 1.20-1.17 (m, 2H), 0.95-0.85 (m, 2H), 0.75-0.66 (m, 6H). LCMS: (Método E) 488.1 (M⁺+H), Rt. 2.84 min, 94.66 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.51 min, 97.55 % (Máx). SFC quiral: (Método F) Rt. 3.18 min, 97.80 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 10 % (7 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 12.11 (s, 1H), 7.54 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.39-7.32 (m, 3H), 7.28-7.32 (m, 3H), 7.13-7.04 (m, 1H), 6.13 (s, 1H), 5.32 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 3.96 (bs, 2H), 2.53 (s, 6H), 1.67-1.58 (m, 1H), 1.45-1.37 (m, 3H), 1.20-1.17 (m, 2H), 0.95-0.85 (m, 2H), 0.75-0.66 (m, 6H). LCMS: (Método D) 488.2 (M⁺+H), Rt. 2.84 min, 94.76 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.51 min, 97.22 % (Máx). SFC quiral: (Método F) Rt. 3.65 min, 95.15 % (Máx)

Ejemplo 16

Ácido (E)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilico

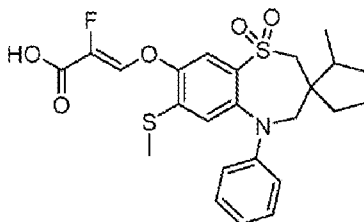


A una solución agitada de tert-butil-(E)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilato (Intermedio 47; 0.23 g, 0.43 mmol) en DCM (10 ml), TFA (3 ml) se agregó a 0 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se vertió en agua enfriada con hielo (15 ml) y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 x 20 ml). La capa orgánica combinada se lavó con agua (10 ml) y solución salina (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 80 %; gel de sílice: malla 230-400) y luego se trituró con hexano (5 ml) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 42 % (88 mg, sólido blanco).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.79 (d, J = 12.0 Hz, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.34 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.07 (t, J = 7.6 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 4.08 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 3.45 (d, J = 16.4 Hz, 1H), 3.27 (s, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.04-2.01 (m, 1H), 1.81-1.76 (m, 3H), 0.97 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 8.0 Hz, 3H), 0.77-0.73 (m, 3H). LCMS: (Método E) 476.1 (M⁺+H), Rt. 2.66 min, 96.85 % (máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.45 min, 94.57 % (Máx).

Ejemplo 17

Ácido (Z)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico

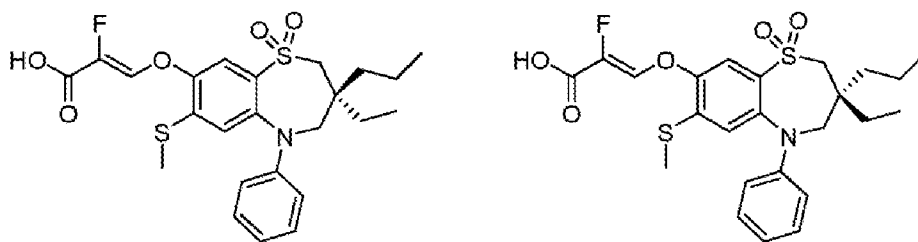


A una solución agitada de etil-(Z)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato (Intermedio 48; 0.24 g, 0.46 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano y agua (3:1, 4 ml), se agregó hidróxido de litio (38 mg, 0.92 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por He), la mezcla de reacción se apagó con HCl diluido (1.5 N, 2 ml, pH~4) y se concentró bajo vacío. El residuo obtenido se sometió a partición entre agua enfriada con hielo (5 ml) y EtOAc (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 10 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con agua enfriada con hielo (5 ml) y solución salina (5 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (eluyente: EtOAc/PE al 70 %; gel de sílice: malla 230-400) y después de esto se trituró con hexano (5 ml) para proporcionar el compuesto del título. Rendimiento: 40 % (92 mg, sólido blanco).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7.73 (s, 1H), 7.45-7.41 (m, 1H), 7.32 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.04 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.68 (s, 1H), 4.10-4.06 (m, 1H), 3.46-3.42 (m, 1H), 3.27 (s, 2H), 2.20 (s, 3H), 2.04-2.02 (m, 1H), 1.81-1.79 (m, 2H), 0.96 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.78-0.76 (m, 3H). LCMS: (Método E) 494.1 (M⁺+H), Rt. 2.71 min, 95.15 % (máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.48 min, 95.18 % (Máx).

Ejemplos 18 y 19

Ácido (S)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico y ácido (R)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico



A una solución agitada de enantiómero 1 del (Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahidro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilato de etilo (Intermedio 49; 50 mg, 0.09 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano y agua (4:1, 3 ml), se agregó hidróxido de litio (8.05 mg, 0.19 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la finalización de la reacción (monitorizada por TLC), la mezcla de reacción se acidificó con HCl diluido (1.5 N, pH~4, 2 ml) y se diluyó con agua enfriada con hielo (5 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 X 20 ml), y la capa orgánica combinada se lavó con agua (5 ml) y solución salina (5 ml). La parte orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró bajo vacío. El material crudo resultante se purificó mediante cromatografía de columna Isolera (EtOAc/PE al 80 %; gel de sílice: malla 230-400) y el compuesto obtenido se trituró adicionalmente con metanol (2 ml) para proporcionar el compuesto del título.

El enantiómero 2 del compuesto del título se obtuvo siguiendo el mismo procedimiento, partiendo de 80 mg de enantiómero 2 del Intermedio 49. No se conoce la configuración absoluta de los dos enantiómeros.

Enantiómero 1: Rendimiento: 32 % (15 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.55 (s, 1H), 7.55 (t, J = 3.2 Hz, 2H), 7.29 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.13 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.99 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 6.72 (s, 1H), 3.88-3.65 (m, 2H), 3.35-3.32 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.65-1.50 (m, 1H), 1.50-1.28 (m, 3H), 1.25-1.00 (m, 2H), 0.76-0.67 (m, 6H). LCMS: (Método E) 494.2 (M⁺+H), Rt. 2.792 min, 95.40 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.694 min, 95.87 % (Máx). SFC quiral: (Método P) Rt. 2.05 min, 99.76 % (Máx).

Enantiómero 2: Rendimiento: 56 % (42 mg, sólido blancuzco). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 13.59 (s, 1H), 7.59-7.55 (m, 2H), 7.29 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 7.12 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.97 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 3.97-3.55 (m, 2H), 3.40-3.30 (m, 2H), 2.20 (s, 3H), 1.63-1.48 (m, 1H), 1.48-1.28 (m, 3H), 1.22-1.10 (m, 2H), 0.76-0.66 (m, 6H). LCMS: (Método E) 494.0 (M⁺+H), Rt. 2.96 min, 96.04 % (Máx). HPLC: (Método B) Rt. 5.56 min, 94.70 % (Máx). SFC quiral: (Método P) Rt. 2.89 min, 99.55 % (Máx).

Ensayos biológicos

Protocolo de ensayo IBAT (h/m)

Se sembraron 10,000 células (células Humanas o de Ratón que sobreexpresan IBAT) en una placa de 96 pocillos (Corning CLS3809) en 200 µl de medio MEM-alfa (Gibco 12571-063) suplementadas con FBS al 10 % (Gibco 10438026) que contenía Puromicina (Gibco A1113803) (10 µg/ml) y se incubaron a 37 °C en 5 % de CO₂ 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 (libre de FBS). Después de decantar el medio MEM-alfa basal cada vez, las placas se golpearon contra una toalla de papel para garantizar la máxima eliminación de los medios residuales.

Se agregaron diluciones de inhibidores de prueba (la concentración de prueba más alta fue de 10 µM, dilución serial de 3 veces, 10 puntos) preparadas en DMSO (Sigma D2650) en la mezcla de incubación (manteniendo una concentración final de DMSO de 0.2 %) que contenía ácido 3H-taurocólico 0.25 µM (ARC ART-1368) y ácido taurocólico frío 5 µM (Sigma T4009). A continuación, se agregaron 50 µl de mezcla de incubación que contenía inhibidores de prueba a los pocillos (por duplicado) y las placas se incubaron durante 20 minutos en una incubadora de CO₂ a 37 °C. Después de incubación, la reacción se detuvo al mantener las placas en una mezcla de agua helada durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspiró completamente de los pocillos. Los pocillos se lavaron dos veces con 250 µl de ácido taurocólico 1 mM refrigerado sin etiquetar disuelto en HBSS (10 mM) (Gibco 14175079) tamponado con HEPES (Gibco 15630080) (pH 7.4). Las placas se golpearon contra una toalla de papel después de cada lavado para garantizar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

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 Luminiscencia y Centelleo de Microplacas TopCount NXT™ de PerkinElmer bajo el protocolo de Prueba 3H (establecido en un tiempo de lectura de 120 segundos por pocillo).

Protocolo de ensayo LBAT (h/m)

Se sembraron 20,000 células (células Humanas o de Ratón que sobreexpresan LBAT) 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 contenía Geneticina (Gibco 10131-027) (1 mg/ml) y se incubaron a 37 °C en 5 % de CO₂ durante 24 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 (libre de FBS). Después de decantar el medio MEM-alfa basal cada vez, las placas se golpearon contra una toalla de papel para garantizar la máxima eliminación de los medios residuales.

Para el LBAT humano, la mezcla de incubación se preparó al agregar diluciones de inhibidores de prueba (dilución serial de 3 veces en DMSO (Sigma D2650), 10 puntos) en MEM-alfa (sin FBS) que contenía ácido 3H-taurocólico 0.3 µM (ARC ART-1368) y ácido taurocólico frío 7.5 µM (Sigma T4009) (manteniendo una concentración final de DMSO de 0.2 %). Para el LBAT de ratón, la mezcla de incubación se preparó al agregar diluciones de inhibidores de prueba (dilución seriada 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 una concentración final de DMSO del 0.2 %).

A continuación, se agregaron 50 µl de mezcla de incubación que contenía inhibidores de prueba a los pocillos (por duplicado) y las placas se incubaron durante 20 minutos en una incubadora de CO₂ a 37 °C. Después de la incubación, la reacción se detuvo al mantener las placas en una mezcla de agua helada durante 2-3 minutos y luego la mezcla de incubación se aspiró completamente de los pocillos. Los pocillos se lavaron dos veces con 250 µl de ácido taurocólico 1 mM refrigerado sin etiquetar disuelto en HBSS (10 mM) (Gibco 14175079) tamponado con HEPES (Gibco 15630080) (pH 7.4). Las placas se golpearon contra una toalla de papel después de cada lavado para garantizar la máxima eliminación del tampón de bloqueo.

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 un tiempo de lectura de 120 segundos por pocillo, con orientación normal de la placa).

Ensayo de permeabilidad bidireccional (células Caco-2)

Las células de Caco-2 (Evotec) se sembraron 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 % de CO₂, 95 % de RH) durante 21 días con cambio de medio en días alternos.

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 ruta de transporte de P-gp) en dimetilsulfóxido (DMSO). Se preparó una solución madre intermedia (1 mM) al diluir 10 µl de solución madre maestra 10 mM con 90 µl de DMSO puro. Se preparó una solución madre de trabajo (10 µM) al diluir 50 µl de 1 mM con 4950 µl de tampón FaSSIF. Después 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 utilizaron directamente en el ensayo. La concentración final de DMSO en los experimentos de transporte fue del 1 %.

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 CO₂, 95 % de RH) en una incubadora. La resistencia eléctrica de las monocapas se midió con un sistema Millicell®-ERS. Para el ensayo se seleccionaron monocapas con valores de resistencia eléctrica transepitelial (TEER) mayores de a 350 ohm.cm².

El ensayo se realizó en las direcciones de absorción (A2B) y 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 a los compartimientos del receptor un tampón HBSS libre de fármacos (pH 7.4) que contenía albúmina sérica bovina (BSA) al 1 % (A-B-basolateral; B-A- Apical). Los volúmenes de los compartimientos apical y basolateral fueron de 0.4 y 0.8 ml, respectivamente. Después de agregar la solución de dosificación, las placas se incubaron en una incubadora durante 120 minutos a 37 °C. Después de 120 minutos, se recolectaron muestras de donantes y receptores y se emparejó la matriz (1:1, muestra de estudio de 30 µl + tampón en blanco de 30 µl) con el tampón opuesto. La 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 al agregar acetonitrilo que contenía estándar interno (60 µL de muestra de estudio + 200 µl de acetonitrilo que contenía estándar interno-tolbutamida, 500 ng/ml). Las muestras se sometieron a vórtice 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 frescas de 96 pocillos. La concentración de compuestos en las muestras se analizó mediante el método de cromatografía líquida por espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) utilizando el método bioanalítico de grado de descubrimiento, según correspondiera.

La permeabilidad aparente media (P_{app} , 3 10⁻⁶ cm/seg) de los compuestos de prueba, atenolol, propranolol y digoxina se calculó de la siguiente manera:

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

donde dq/dt = tasa de transporte (tasa de transporte del compuesto en el compartimento receptor), Co = concentración inicial en el compartimento donante, A = área de superficie de la membrana de filtro efectiva.

Protocolo de ensayo basado en HepaRG

Un vial criopreservado de células diferenciadas HepaRG (Biopredic International HPR116080) se descongela en Medio de Descongelación/Siembra/Uso General de HepaRG (Biopredic International ADD670C) suplementado con Glutamax 200 mM (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 de Descongelación/Siembra/Uso General HepaRG, suplementado con Glutamax 200 mM e incubado a 37 °C en 5 % de CO₂ durante 24 horas. Después de la incubación, el medio de siembra se reemplaza por el Medio de Mantenimiento/Metabolismo HepaRG (Biopredic International ADD620C) y se incuba durante 6 días, con una reposición fresca del Medio de Mantenimiento/Metabolismo HepaRG cada 48 horas. Después de 7 días de incubación después de la siembra, los medios de incubación se decantan de los pocillos y las células se lavan dos veces con 250 µl de Medios Basales E de William (Gibco 12551032). Después de decantar el Medio Basal E de William cada vez, las placas se golpean contra la toalla de papel para garantizar la máxima eliminación de los medios residuales. La mezcla de incubación se prepara al agregar diluciones de inhibidores de prueba (dilución en serie de 3 veces en DMSO (Sigma D2650)) en medios E de William (basal) que contienen ácido 3H-taurcólico 0.3 µM (ARC ART-1368) y ácido taurcólico frío 735 µM de (Sigma T4009) (manteniendo una concentración final de DMSO del 0.2 %). A continuación, se agregan a los pocillos (por duplicado) 50 µl de mezcla de incubación que contiene inhibidores de prueba y se incuban las placas durante 30 minutos en una incubadora de 5 % de CO₂ a 37 °C. Después de la incubación, la reacción se detiene al mantener las placas en una mezcla de agua helada durante 2-3 minutos y la mezcla de incubación se aspira completamente de los pocillos. Los pocillos se lavan dos veces con 250 µl de ácido taurcólico 1 mM refrigerado sin etiquetar disuelto en HBSS (Gibco 14175079) (10 mM) tamponado con HEPES (10 mM) (Gibco 15630080) (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.

Se agregan 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 Luminiscencia y Centelleo de Microplacas TopCount NXT™ de PerkinElmer bajo el protocolo de Prueba 3H (establecido en un tiempo de lectura de 120 segundos por pocillo, con orientación normal de la placa).

Preparación de diluciones de compuestos de prueba

Todos los compuestos de prueba se suministraron en forma de polvo a temperatura ambiente. Se prepararon existencias de DMSO 10 mM de los compuestos de prueba, se alícuotas y se almacenaron a -20 °C. A partir de las existencias 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 agregaron 0.5 µl de esta dilución en DMSO a 250 µl de medio basal libre de FBS que contenía ácido 3H-taurcólico y ácido taurcólico frío para preparar la mezcla de incubación.

Estudios de biodisponibilidad

Se utilizaron ratones machos (C57BL/6 o CD1) o ratas Wistar de 8-9 semanas de edad. Para cada compuesto de prueba, se utilizaron dos grupos de 3 animales cada uno. A un grupo se le administró una dosis intravenosa única de 1 mg/kg (DMSO al 100 % de vehículo) 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 de alimentación forzada. El grupo al que se le administró una dosis oral estuvo en ayunas durante la noche. Las muestras de sangre se recolectaron 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 utilizó 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 LC-MS/MS.

Resultados

Los datos biológicos para los compuestos de los ejemplos se muestran en la Tabla 8 a continuación.

Tabla 8

Ejempl o	hLBAT IC ₅₀ (nM)	hIBAT IC ₅₀ (nM)	Permeabilidad (Caco-2)		Biodisponibili dad (%)
			P _{app} A2B (X 10 ⁻⁶ cm/seg)	P _{app} B2A (X 10 ⁻⁶ cm/seg)	
1	49	21	0.9	0.9	
2	124	13	1.4	2.4	
3	427	8	1.8	2.2	
4	77	91			
5	14	5	2.3	2.0	

6	12	66			
7	14	5	5.7	4.1	
8	118	7			
9	150	151			
10	113	4	10	5.4	41 (CD1)
11	97	260			
12	12	156	3.8	4.1	
13	1856	13	22	18	
14		6	11	20	
15		66			
16	218	565			
17	17	378			
18	38	337			
19	5	283			
Modelo PD: Evaluación del compuesto de prueba sobre los niveles de ácidos biliares totales en ratones machos C57BL6.					

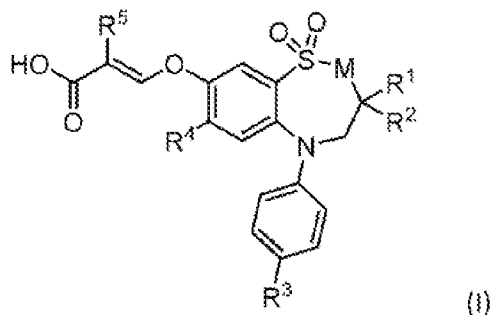
Se utilizan ratones C57BL/6N Tac de 8-9 semanas de edad para estudiar el efecto de los moduladores de ácidos biliares sobre los niveles de ácidos biliares. Una vez finalizado el período de cuarentena y aclimatación, los animales se aleatorizan en base al peso corporal en x grupos experimentales: (i) control del vehículo, y (ii) compuesto de prueba y mg/kg po una vez al día. Los animales se tratan con el compuesto de ensayo durante 7 días. En el día 5 del estudio, los animales se alojan individualmente en jaulas frescas. En el día 7, se recolectaron las heces de cada jaula, seguidas de la extracción de sangre de cada animal a través de la ruta retroorbitaria. Los animales son sacrificados para recolectar 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 lipídicos séricos se analizan en muestras de suero del día 7. Los ácidos biliares totales en suero se miden en muestras de suero del día 7. La excreción fecal de bilis se mide en la muestra fecal del día 7. La expresión hepática de CYP7A1 y SHP se cuantifica en las muestras de hígado del día 7. Los triglicéridos del hígado y el colesterol total se analizan en las muestras de hígado del día 7.

Modelo de ácidos biliares en orina: Evaluación de compuestos de prueba en los niveles de ácidos biliares en orina en ratones machos C57BL/6N.

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 la finalización el período de cuarentena y aclimatación, los animales se aleatorizan en base al peso corporal en x grupos experimentales: (i) control del vehículo, y (ii) compuesto de prueba y mg/kg po una vez al día. Los animales se tratan con el compuesto de ensayo durante 7 días. En el día 6 del estudio, los animales se transfirieron a una jaula metabólica. En el día 7, se recolectan las heces y la orina de cada jaula metabólica, seguidas de la extracción de sangre de cada animal a través de la ruta retroorbitaria. Los animales son sacrificados para recolectar riñones 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. Se cuantifica la expresión renal de ASBT, OSTa, OSTAb y MRP2 en las muestras del día 7.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I),



en la que M, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son como se indica en la Tabla 1 a continuación, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

Tabla 1:

M	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	F
CH ₂	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	H
CH ₂	CH(CH ₃) ₂	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	SCH ₂ CH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	SCH ₂ CH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	H

NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	Cl	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	Cl	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	H	N(CH ₃) ₂	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	H
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	SCH ₃	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	Cl	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	Cl	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	Cl	F
CH ₂	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	F
NH	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	F
NCH ₃	CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	F

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

Ácido (Z)-3-((3,3-dibutil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

5 Ácido (Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

ácido (S)-(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

10 Ácido (R)-(Z)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

Ácido (Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

Ácido (S)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

15 Ácido (R)-(Z)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrilico;

Ácido (E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrilico;

Ácido (S)-(E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (R)-(E)-3-((3-butil-3-etil-5-(4-fluorofenil)-7-(metiltio)-1,1-dioxido-2,3,4,5 tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

5 Ácido (E)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahydrobenzo-1,5-tiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Acido (S)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

10 Ácido (R)-(Z)-3-((3-etil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-3-propil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

Ácido (E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico;

15 Ácido (S)-(E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (R)-(E)-3-((3-butil-7-(dimetilamino)-3-etil-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzotiadiazepin-8-il)oxi)acrílico;

Ácido (E)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)acrílico; y

20 Ácido (Z)-3-((3-etil-3-isopropil-7-(metiltio)-1,1-dioxido-5-fenil-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzotiazepin-8-il)oxi)-2-fluoroacrílico;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

3. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

4. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, para uso como un medicamento.

25 5. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad cardiovascular; hipercolesterolemia; diabetes mellitus tipo 1 y tipo 2; complicaciones de diabetes, que incluyen cataratas, enfermedades micro y macrovasculares, retinopatía, neuropatía, nefropatía y cicatrización retardada de heridas, isquemia del tejido, pie diabético, arteriosclerosis, infarto de miocardio, síndrome coronario agudo, angina de pecho inestable, angina de pecho estable, apoplejía, enfermedad oclusiva arterial periférica, cardiomiopatía, insuficiencia cardíaca, trastornos del ritmo cardíaco y reestenosis vascular; enfermedades relacionadas con la diabetes
30 tales como resistencia a la insulina (homeostasis alterada de la glucosa), hiperglicemia, hiperinsulinemia, niveles elevados de ácidos grasos o glicerol en sangre, obesidad, dislipidemia, hiperlipidemia que incluye hipertrigliceridemia, síndrome metabólico (síndrome X), aterosclerosis e hipertensión.

35 6. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno gastrointestinal, tal como estreñimiento (que incluye estreñimiento crónico, estreñimiento funcional, estreñimiento idiopático crónico (CIC), estreñimiento intermitente/espórado, estreñimiento secundario a diabetes mellitus, estreñimiento secundario a apoplejía, estreñimiento secundario a una enfermedad renal crónica, el 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 (IBS-C), síndrome del intestino irritable mixto (IBS-M), estreñimiento funcional pediátrico y estreñimiento
40 inducido por opioides); enfermedad de Crohn; malabsorción primaria de ácidos biliares; síndrome del intestino irritable (IBS); enfermedad inflamatoria intestinal (IBD); inflamación ileal; y enfermedad por reflujo y complicaciones de los mismos, tales como esófago de Barrett, esofagitis por reflujo biliar y gastritis por reflujo biliar.

45 7. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, para uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o trastorno hepático, 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 posterior a 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
50 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 hepático; colestasis intrahepática recurrente benigna (BRIC) que incluye BRIC1, BRIC2 y BRIC no especificado, BRIC de derivación postbiliar y BRIC posterior a trasplante hepático; hepatitis autoinmunitaria; cirrosis biliar primaria (PBC);

- 5 fibrosis hepática; enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (NASH); 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 fosfolípidos bajos; síndrome de colestasis por linfedema 1 (LCS1); 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; neoplasia maligna de las vías biliares; neoplasia maligna que causa obstrucción del árbol biliar; estenosis biliar; colangiopatía por SIDA; colangiopatía isquémica; prurito debido a colestasis o ictericia; pancreatitis; enfermedad hepática autoinmunitaria 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 (defecto BAS tipo 1); lesión hepática inducida por fármacos (DILI); fibrosis hepática; fibrosis hepática congénita; cirrosis hepática; histiocitosis de células de Langerhans (LCH); colangitis esclerosante por ictiosis neonatal (NISCH); protoporfiria eritropoyética (EPP); ductopenia idiopática en la edad adulta (IAD); hepatitis neonatal idiopática (INH); escasez no sindrómica de vías biliares interlobulillares (NS PILBD); cirrosis infantil de los indios norteamericanos (NAIC); sarcoidosis hepática; amiloidosis; enterocolitis necrotizante; toxicidades causadas por ácidos biliares séricos, que incluyen alteraciones del ritmo cardíaco (por ejemplo, fibrilación auricular) en el contexto de un perfil anormal de ácidos biliares séricos, miocardiopatía asociada con cirrosis hepática ("colecardia") y desgaste del músculo esquelético asociado con enfermedad hepática colestásica; enfermedad hepática poliquística; hepatitis virales (que incluyen 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.
- 10
- 15
- 20
- 25 8. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, para uso en el tratamiento o prevención de la abetalipoproteinemia, la hipobetalipoproteinemia familiar (FHBL), enfermedad de retención de quilomicrones (CRD) o sitosterolemia; hipervitaminosis y osteopetrosis; hipertensión; hiperfiltración glomerular; enfermedad renal poliquística (PKD), que incluye la enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ADPKD) y la enfermedad renal poliquística autosómica recesiva (ARPKD); y prurito de insuficiencia renal; o para uso en la protección contra lesiones renales asociadas a enfermedades del hígado o metabólicas.