



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

(19) Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ

(11)



1-0041627

(51)^{2020.01} A61P 1/16; C07D 285/36; A61P 3/08;
A61P 9/00; A61K 31/554; A61P 3/06

(13) B

(21) 1-2021-04849

(22) 06/02/2020

(86) PCT/EP2020/052942 06/02/2020

(87) WO2020/161217 13/08/2020

(30) 201911004690 06/02/2019 IN; 1950464-6 12/04/2019 SE; 201911049981
04/12/2019 IN

(45) 25/11/2024 440

(43) 25/10/2021 403

(73) ALBIREO AB (SE)

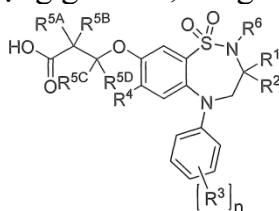
Arvid Wallgrens backe 20, 413 46 Göteborg, SWEDEN

(72) GILLBERG, Per-Göran (SE); MATTSSON, Jan (SE); STARKE, Ingemar (SE);
KULKARNI, Santosh S. (IN).

(74) Công ty Luật TNHH Phạm và Liên danh (PHAM & ASSOCIATES)

(54) HỢP CHẤT BENZOTHIADIAZEPIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA CHÚNG

(57) Sáng chế đề cập đến các dẫn xuất của 1,2,5-benzothiadiazepin có công thức (I). Các hợp chất này là chất điều tiết axit mật có hoạt tính ức chế chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (ASBT) và/hoặc chất vận chuyển axit mật từ gan (LBAT). Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này để điều trị các bệnh về tim mạch, các rối loạn chuyển hóa axit béo và sử dụng glucoza, cũng như các bệnh đường tiêu hóa và bệnh gan.



(I)

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến các dẫn xuất của 1,2,5-benzothiadiazepin có công thức (I). Các hợp chất này là chất điều tiết axit mật có hoạt tính ức chế chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (apical sodium-dependent bile acid transporter, ASBT) và/hoặc chất vận chuyển axit mật từ gan (liver bile acid transport, LBAT). Sáng chế còn đề cập đến dược phẩm chứa các hợp chất này và mô tả việc sử dụng các hợp chất này để điều trị các bệnh về tim mạch, các rối loạn chuyển hóa axit béo và sử dụng glucoza, các bệnh về đường tiêu hóa và bệnh gan.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các axit mật là chất tẩy rửa sinh lý có vai trò quan trọng trong việc hấp thu và vận chuyển lipid, chất dinh dưỡng và vitamin trong ruột. Chúng cũng là các phân tử tín hiệu có tác dụng kích hoạt các thụ thể nhân và các đường truyền tín hiệu của tế bào mà điều hòa quá trình chuyển hóa lipid, glucoza và năng lượng. Axit mật là các axit steroid được tổng hợp từ cholesterol trong gan và được tích trữ trong túi mật dưới dạng các mixen. Trong quá trình tiêu hóa, tá tràng kích thích sự giải phóng hormon khiến cho túi mật co lại, nhờ đó giải phóng các axit mật vào ruột non nơi chúng thúc đẩy sự hấp thu vitamin tan trong chất béo và cholesterol. Khi tới hồi tràng, các axit mật được tái hấp thu từ ruột non và được tiết vào tĩnh mạch cửa để trở lại gan qua đường tuần hoàn tĩnh mạch cửa. Hơn 90% các axit mật do vậy được tái sinh và được đưa trở lại gan. Các axit mật này sau đó được vận chuyển qua lớp màng hình sin của tế bào gan và tiết lại qua màng tiểu quản vào mật. Trong lần đầu đi qua, 75-90% các axit mật được hấp thu bởi các tế bào gan, hoàn thành một vòng tuần hoàn ruột-gan. Một phần axit mật thoát khỏi sự thanh lọc trong gan và đi vào hệ tuần hoàn toàn thân nơi các axit mật tự do này được lọc bởi cầu thận, được thu hồi một cách có hiệu quả trong các ống lượn gần và xuất ngược trở lại hệ tuần hoàn toàn thân. Điều thú vị là hầu hết các axit mật tiết qua màng tiểu quản vào mật có nguồn gốc từ bể tuần hoàn với ít hơn 10% đến từ quá trình tổng hợp mới *de novo* trong gan. Một phần nhỏ các axit mật không được tái hấp thu trong hồi tràng sẽ đi tới kết tràng. Bên trong lòng ruột, các axit mật sơ cấp được biến đổi thành các axit mật thứ cấp dưới tác dụng của vi khuẩn đường ruột, chủ yếu bởi các phản ứng dehydroxyl hóa đơn

hoặc kếp của nhân steroid. Các axit mật không bị hấp thu ở ruột sau đó sẽ được bài tiết vào phân.

Nhìn chung, hệ thống vận chuyển hiệu quả này giúp duy trì bể axit mật ở mức không đổi, đảm bảo mức đủ cao của các axit mật tiếp hợp trong ruột non để thúc đẩy sự hấp thu lipid cũng như giảm tải lượng vi khuẩn đường ở ruột non. Hệ thống này cũng giảm thiểu lượng axit mật mất đi trong phân và nước tiểu và bảo vệ khoang ruột và khoang gan mật bằng cách loại bỏ các thuốc tẩy có khả năng gây độc tế bào (như đã được nghiên cứu bởi Kusters và Karpen (*Xenobiotica* 2008, vol. 38, p. 1043-1071); Chiang (*J. Lipid Res.* 2009, vol. 50, p. 1955-1966); và Dawson (*Handb. Exp. Pharmacol.* 2011, vol. 201, p. 169-203)).

Việc điều hòa kích thước của bể axit mật được thấy là đóng một vai trò quan trọng trong việc đạt được nội cân bằng cholesterol bằng cách chuyển hóa cholesterol thành axit mật trong gan, là con đường chính để loại bỏ cholesterol ra khỏi cơ thể. Gan đóng vai trò thiết yếu trong việc loại bỏ các hợp chất nội sinh và hợp chất lạ sinh học (xenobiotic) ra khỏi cơ thể. Hoạt động tiết bình thường của gan mật và tuần hoàn ruột-gan là cần thiết để để loại bỏ các hợp chất nội sinh như cholesterol và bilirubin và các chất chuyển hóa của chúng ra khỏi cơ thể, nhờ đó duy trì được trạng thái nội cân bằng của lipid và axit mật. (Kusters and Karpen, *Xenobiotica* 2008, vol. 38, p. 1043-1071).

Sự tái hấp thu axit mật ở hồi tràng có thể bị ức chế bởi các hợp chất ức chế vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (ASBT). Việc ức chế sự tái hấp thu axit mật này được cho là hữu ích trong điều trị một số bệnh, bao gồm rối loạn mỡ máu, bệnh tiểu đường, béo phì, táo bón, bệnh gan ứ mật, bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu và các bệnh gan khác. Một số hợp chất ức chế ASBT đã được bộc lộ trong những thập kỷ qua, xem ví dụ như WO 93/16055, WO 94/18183, WO 94/18184, WO 96/05188, WO 96/08484, WO 96/16051, WO 97/33882, WO 98/03818, WO 98/07449, WO 98/40375, WO 99/35135, WO 99/64409, WO 99/64410, WO 00/47568, WO 00/61568, WO 00/38725, WO 00/38726, WO 00/38727, WO 00/38728, WO 00/38729, WO 01/66533, WO 01/68096, WO 02/32428, WO 02/50051, WO 03/020710, WO 03/022286, WO 03/022825, WO 03/022830, WO 03/061663, WO 03/091232, WO 03/106482, WO 2004/006899, WO 2004/076430, WO 2007/009655, WO 2007/009656, WO 2011/137135, DE 19825804, EP 864582, EP 489423,

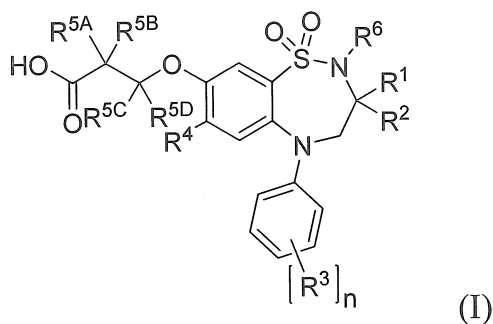
EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205 và EP 1535913.

Tuy đã biết nhiều hợp chất ức chế ASBT, vẫn cần có thêm các hợp chất điều biến axit mật có đặc tính được tối ưu hóa về hiệu lực, độ chọn lọc và độ sinh khả dụng.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Đã phát hiện ra rằng một số chất dẫn xuất 1,2,5-benzothiadiazepin có tác dụng ức chế mạnh đối với chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (ASBT) và/hoặc chất vận chuyển axit mật từ gan (LBAT), và có thể là hữu ích để điều trị các bệnh trong đó cần ức chế quá trình tuần hoàn axit mật.

Theo khía cạnh thứ nhất, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I)



trong đó:

mỗi R¹ và R² độc lập là C₁₋₄ alkyl;

R³ được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ haloalkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₁₋₄ haloalkoxy, xyano, nitro, amino, N-(C₁₋₄ alkyl)amino, N,N-đi(C₁₋₄ alkyl)amino và N-(aryl-C₁₋₄ alkyl)amino;

n là số nguyên bằng 1, 2 hoặc 3;

R⁴ được chọn từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, xyano, C₁₋₄ alkyl, C₃₋₆ xycloalkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₃₋₆ xycloalkyloxy, C₁₋₄ alkylthio, C₃₋₆ xycloalkylthio, amino, N-(C₁₋₄ alkyl)amino và N,N-đi(C₁₋₄ alkyl)amino;

mỗi R^{5A}, R^{5B}, R^{5C} và R^{5D} được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino và C₁₋₄ alkyl; và

R⁶ được chọn từ nhóm gồm hydro và C₁₋₄ alkyl;
hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một số phương án, R¹ là *n*-butyl.

Theo một số phương án, R^2 là C_{2-4} alkyl. Theo một phương án được ưu tiên, R^2 là methyl. Theo một phương án được ưu tiên khác, R^2 là ethyl. Theo một phương án được ưu tiên khác, R^2 là *n*-propyl. Theo một phương án khác nữa, R^2 là *n*-butyl.

Theo một số phương án, R^3 được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino, xyano, C_{1-4} haloalkyl, C_{1-4} alkoxy và C_{1-4} haloalkoxy. Theo một phương án khác, R^3 là hydro. Theo một phương án được ưu tiên, R^3 được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, flo, clo, brom, hydroxy, xyano, triflometyl, metoxy và triflometoxy.

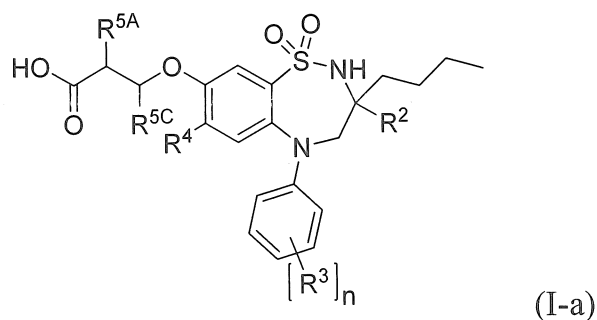
Theo một phương án được ưu tiên, *n* bằng 1, tức là vòng phenyl được thể chỉ bằng một phần tử thể R^3 . Theo một phương án được ưu tiên khác, R^3 nằm ở vị trí para.

Theo một số phương án, R^4 được chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, xyano, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, C_{1-4} alkylthio, amino, *N*-(C_{1-4} alkyl)amino và *N,N*-di(C_{1-4} alkyl)amino. Theo một phương án được ưu tiên, R^4 được chọn từ nhóm gồm flo, clo, brom, hydroxy, xyano, methyl, metoxy, etoxy, methylthio, ethylthio, amino, metylamino và dimetylamin. Theo một phương án khác, R^4 được chọn từ nhóm gồm flo, clo, brom, metoxy, etoxy, methylthio, ethylthio và dimetylamin. Theo một phương án được ưu tiên khác, R^4 được chọn từ nhóm gồm clo, brom, methylthio và dimetylamin.

Theo một số phương án, mỗi R^{5A} và R^{5B} được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino và methyl. Theo một số phương án, mỗi R^{5A} và R^{5B} độc lập là hydro hoặc hydroxy. Theo một phương án khác, R^{5A} là hydro hoặc hydroxy và R^{5B} là hydro. Theo một số phương án, mỗi R^{5C} và R^{5D} độc lập là hydro hoặc methyl. Theo một phương án khác, R^{5C} là hydro hoặc methyl và R^{5D} là hydro.

Theo một phương án, R^6 là hydro. Theo một phương án khác, R^6 là methyl.

Theo một phương án được ưu tiên, hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (I-a)



trong đó:

R² là C₁₋₄ alkyl;

R³ được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, xyano, C₁₋₄ haloalkyl, C₁₋₄ alkoxy và C₁₋₄ haloalkoxy;

n là số nguyên bằng 1 hoặc 2;

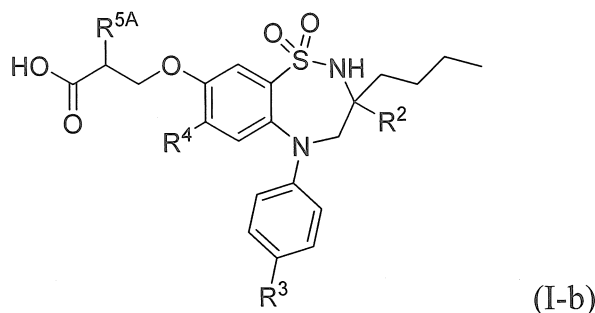
R⁴ được chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, xyano, C₁₋₄ alkyl, C₁₋₄ alkoxy, C₁₋₄ alkylthio, amino, *N*-(C₁₋₄ alkyl)amino và *N,N*-đi(C₁₋₄ alkyl)amino;

R^{5A} được chọn từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino và C₁₋₄ alkyl; và

R^{5C} là hydro hoặc C₁₋₄ alkyl;

hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án được ưu tiên khác, hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (I-b)



trong đó:

R^2 là metyl, etyl, n-propyl hoặc n-butyl;

R³ được chọn từ nhóm gồm hydro, flo, clo, brom, hydroxy, xyano, triflometyl, metoxy, và triflometoxy;

R⁴ được chọn từ nhóm gồm flo, clo, brom, hydroxy, xyano, metoxy, etoxy, metylthio, etylthio và đimetylamin; và

R^{5A} được chọn từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino và metyl; hoặc muối được dung của chúng.

Theo một phương án được ưu tiên khác, hợp chất có công thức (I) là hợp chất có công thức (I-b) như được xác định trên đây, và trong đó:

R³ được chọn từ nhóm gồm hydro, flo, clo, brom, hydroxy và metoxy; và

R⁴ được chọn từ nhóm gồm flo, clo, brom, metoxy, etoxy, metylthio, etylthio và dimetylamin.

Các hợp chất được ưu tiên theo sáng chế là các hợp chất có công thức (I-b), như được xác định trên đây, trong đó các nhóm từ R^2 tới R^{5A} là như được xác định trong Bảng 1 dưới đây, hoặc muối được dụng của chúng:

Bảng 1

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

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

R ²	R ³	R ⁴	R ^{5A}
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	F	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OCH ₃	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	OH	N(CH ₃) ₂	OH
CH ₂ CH ₂ CH ₂ CH ₃	Cl	N(CH ₃) ₂	OH

Theo phương án thực hiện cụ thể, hợp chất có công thức (I) được chọn từ nhóm gồm:

axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydrobenzo-1,2,5-thiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit 3-((3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit (S)-3-((3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit (R)-3-((3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic;

axit (S)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic;

axit (R)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic;

axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic;

axit (S)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic;

axit (R)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic;

axit 3-((3,3-đibutyl-7-clo-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit 3-((3,3-đibutyl-5-(4-hydroxyphenyl)-7-(metylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit 3-((3-Butyl-7-(dimetylamin)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit (S)-3-((3-butyl-7-(dimetylamin)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit (R)-3-((3-butyl-7-(dimetylamin)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)oxy)propanoic;

O-(3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)serin;

(S)-O-((R)-3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)serin;

(R)-O-((R)-3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)serin;

(S)-O-((S)-3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)serin; và

(R)-O-((S)-3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin-8-yl)serin;

hoặc muối được dụng của chúng.

Mô tả chi tiết các phương án thực hiện sáng chế

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “halo” dùng để chỉ flo, clo, brom và iodo.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “C₁₋₆ alkyl” dùng để chỉ nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 2 đến 6 nguyên tử cacbon, và thuật ngữ “C₁₋₄ alkyl” dùng để chỉ nhóm alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh có từ 1 tới 4 nguyên tử cacbon. Ví dụ về C₁₋₄ alkyl gồm metyl, etyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, butyl bậc hai và tert-butyl.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “C₁₋₄ haloalkyl” dùng để chỉ nhóm C₁₋₄ alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh, như được xác định trên đây, trong đó một hoặc nhiều nguyên tử hydro đã được thay thế bằng halogen. Ví dụ về C₁₋₄ haloalkyl gồm clometyl, floetyl và triflometyl.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ “C₁₋₄ alkoxy” và “C₁₋₄ alkylthio” được dùng để chỉ nhóm C₁₋₄ alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh được gắn vào phần còn lại của phân tử lần lượt qua nguyên tử oxy hoặc lưu huỳnh.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “C₃₋₆ xycloalkyl” dùng để chỉ đơn vòng hydrocacbon no có từ 3 tới 6 nguyên tử cacbon. Ví dụ về C₃₋₆ xycloalkyl gồm xyclopropyl, xyclobutyl, xyclopentyl và xyclohexyl.

Thuật ngữ “aryl” biểu thị đơn vòng thơm gồm 6 nguyên tử cacbon hoặc hệ hai vòng thơm gồm 10 nguyên tử cacbon. Ví dụ về aryl gồm phenyl, naphtyl và azulenyl.

Thuật ngữ “amino” dùng để chỉ nhóm -NH₂. Trong bản mô tả này, các thuật ngữ “N-(C₁₋₄ alkyl)amino” và “N,N-đi(C₁₋₄ alkyl)amino” được dùng để chỉ nhóm amino, trong đó một hoặc cả hai nguyên tử hydro lần lượt được thay thế bằng nhóm C₁₋₄ alkyl mạch thẳng hoặc mạch nhánh. Ví dụ về N-(C₁₋₄ alkyl)amino gồm metylamino, etylamino và tert-butylamino, và ví dụ về N,N-đi-(C₁₋₄ alkyl)amino gồm đimetylamin và dietylamino.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “N-(aryl-C₁₋₄ alkyl)amino” dùng để chỉ nhóm amino, trong đó nguyên tử hydro được thay thế bằng nhóm aryl-C₁₋₄ alkyl. Ví dụ về N-(aryl-C₁₋₄ alkyl)amino gồm benzylamino và phenyletylamino.

Trong bản mô tả này, thuật ngữ “được dụng” dùng để chỉ các hợp chất, nguyên liệu, hỗn hợp và/hoặc dạng liều lượng thích hợp để dùng làm dược phẩm cho người và nói chung là an toàn, không độc và không được mong muốn về mặt sinh học hoặc các mặt khác.

Trong bản mô tả này, từ “khoảng” khi dùng với trị số hoặc thông số bao gồm (và mô tả) các phương án bao hàm trị số hoặc thông số đó. Ví dụ, việc mô tả “khoảng 20” bao hàm cả mô tả “20”. Các khoảng số bao hàm cả các số xác định khoảng này. Nói chung, từ “khoảng” dùng để chỉ trị số được chỉ định của biến số này và tất cả các giá trị của biến số này trong phạm vi lỗi thử nghiệm của trị số được chỉ định (ví dụ, trong khoảng 95% độ tin cậy tính trung bình) hoặc trong khoảng 10% của trị số được chỉ định, tùy theo giá trị nào lớn hơn.

Các hợp chất 1,2,5-benzothiadiazepin có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là các chất ức chế của chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (các chất ức chế ASBT), của chất vận chuyển axit mật từ gan (các chất ức chế LBAT), hoặc của cả hai chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh và chất vận chuyển axit mật từ gan (các chất ức chế kép ASBT/LBAT). Do đó, chúng có thể hữu ích trong việc điều trị hoặc phòng ngừa các tình trạng bệnh, các rối loạn và bệnh, trong đó cần ức chế quá trình tuần

hoàn axit mật, như các bệnh về tim mạch, các rối loạn chuyển hóa axit béo và sử dụng glucoza, các bệnh đường tiêu hóa và bệnh gan.

Các bệnh về tim mạch và các rối loạn chuyển hóa axit béo và sử dụng glucoza bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tăng cholesterol máu; rối loạn chuyển hóa axit béo bệnh tiểu đường typ 1 và typ 2; các biến chứng của bệnh tiểu đường, gồm bệnh đục thủy tinh thể, bệnh mạch máu vi mô và vĩ mô, bệnh vông mạc, bệnh thần kinh, bệnh thận và chậm lành vết thương, thiếu máu cục bộ ở mô, loét bàn chân người bị tiểu đường, xơ cứng động mạch, nhồi máu cơ tim, hội chứng động mạch vành cấp tính, đau thắt ngực không ổn định, đau thắt ngực ổn định, đột quy, bệnh tắc động mạch ngoại biên, bệnh cơ tim, bệnh suy tim, rối loạn nhịp tim và phục hồi mạch máu; các bệnh liên quan đến bệnh tiểu đường như kháng insulin (tổn thương nội cân bằng glucoza), tăng đường huyết, tăng tiết insulin, tăng nồng độ axit béo hoặc glyxerol trong máu, béo phì, rối loạn mỡ máu, tăng lipit máu gồm tăng mỡ máu, hội chứng chuyển hóa (hội chứng X), vữa xơ động mạch và tăng huyết áp; và để tăng nồng độ lipoprotein mật độ cao.

Các bệnh và rối loạn đường tiêu hóa gồm táo bón (gồm táo bón mãn tính, táo bón chức năng, táo bón vô căn mãn tính (chronic idiopathic constipation, CIC), táo bón không liên tục/lẻ tẻ, táo bón thứ phát do bệnh tiểu đường, táo bón thứ phát do đột quy, táo bón thứ phát do bệnh thận mãn tính, táo bón thứ phát do bệnh đa xơ cứng, táo bón thứ phát do bệnh Parkinson, táo bón thứ phát do xơ cứng toàn thân, táo bón do thuốc, hội chứng ruột kích thích do táo bón (irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C), hội chứng ruột kích thích hỗn hợp (irritable bowel syndrome mixed, IBS-M), táo bón chức năng ở trẻ em và táo bón do opioid); bệnh Crohn; kém hấp thu axit mật nguyên phát; hội chứng ruột kích thích (irritable bowel syndrome, IBS); bệnh viêm ruột (inflammatory bowel disease, IBD); bệnh viêm hồi tràng; và bệnh trào ngược và các biến chứng của chúng, như viêm thực quản Barrett, viêm thực quản trào ngược mật và viêm dạ dày trào ngược mật.

Bệnh gan như nêu trên là bệnh bất kỳ ở gan và ở các cơ quan kết nối với gan, như tuyến tụy, tĩnh mạch cửa, nhu mô gan, cây mật trong gan, cây mật ngoài gan và túi mật. Trong một số trường hợp, bệnh gan là bệnh gan phụ thuộc axit mật. Các bệnh và rối loạn gan bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, rối loạn chuyển hóa di truyền của gan; lỗi bẩm sinh của quá trình tổng hợp axit mật; dị tật ống mật bẩm sinh; hẹp ống mật; hẹp ống

mật hậu Kasai; hẹp ống mật sau ghép gan; viêm gan sơ sinh; ứ mật sơ sinh; các dạng di truyền của ứ mật; bệnh u vàng gần não; khiếm khuyết thứ cấp của quá trình tổng hợp BA; hội chứng Zellweger; bệnh gan liên quan tới xơ nang; thiếu hụt alpha1-antitrypsin; hội chứng Alagilles (Alagilles syndrome, ALGS); hội chứng Byler; khiếm khuyết chính của quá trình tổng hợp axit mật (bile acid, BA); ứ mật trong gan gia đình tiến triển (progressive familial intrahepatic cholestasis, PFIC) gồm PFIC-1, PFIC-2, PFIC-3 và PFIC không chỉ định, PFIC chuyển hướng sau ghép mật và PFIC sau ghép gan; ứ mật tái phát lành tính trong gan (benign recurrent intrahepatic cholestasis, BRIC) gồm BRIC1, BRIC2 và BRIC không chỉ định, BRIC chuyển hướng sau ghép mật và BRIC sau ghép gan; bệnh viêm gan tự miễn; xơ gan mật nguyên phát (primary biliary cirrhosis, PBC); xơ hóa gan; bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD); viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (non-alcoholic steatohepatitis, NASH); tăng huyết áp cửa; ứ mật; hội chứng ứ mật Down; ứ mật do thuốc; ứ mật ở gan trong thai kỳ (vàng da khi mang thai); ứ mật trong gan; ứ mật ngoài gan; ứ mật liên quan đến dinh dưỡng qua đường tiêu hóa (parenteral nutrition associated cholestasis, PNAC); ứ mật liên quan đến phospholipit thấp; hội chứng ứ mật phù bạch huyết 1 (lymphedema cholestasis syndrome 1, LSC1); viêm ống mật xơ cứng nguyên phát (primary sclerosing cholangitis, PSC); viêm ống mật liên quan tới immunoglobulin G4; viêm ống mật nguyên phát; sỏi túi mật (sỏi mật); sỏi ống mật; sỏi túi mật; viêm tụy sỏi mật; bệnh Caroli; bệnh ác tính của ống mật; bệnh ác tính gây tắc nghẽn cây mật; teo ống mật; viêm đường mật do AIDS; viêm đường mật do thiếu máu cục bộ; bệnh ngứa do ứ mật hoặc vàng da; viêm tụy; bệnh gan tự miễn mãn tính dẫn đến ứ mật tiến triển; gan nhiễm mỡ; viêm gan do rượu; gan nhiễm mỡ cấp tính; gan nhiễm mỡ trong thai kỳ; viêm gan do thuốc; các rối loạn quá tải sắt; khiếm khuyết tổng hợp axit mật bẩm sinh typ 1 (bile acid synthesis defect type 1, BAS typ 1); tổn thương gan do thuốc (drug-induced liver injury, DILI); xơ gan; xơ gan bẩm sinh; viêm xơ gan; bệnh mô bào Langerhans (Langerhans cell histiocytosis, LCH); viêm xơ chít ống mật sơ sinh (neonatal ichthyosis sclerosing cholangitis, NISCH); protoporphyrin hồng cầu (erythropoietic protoporphyria, EPP); suy giảm ống dẫn mật gian thùy ở tuổi trưởng thành vô căn (idiopathic adulthood ductopenia, IAD); viêm gan sơ sinh vô căn (idiopathic neonatal hepatitis, INH); thiếu sản ống mật liên khối không hội chứng (non syndromic paucity of interlobular bile ducts, NS PILBD); xơ gan thời thơ ấu của người da đỏ ở Bắc Mỹ (North American Indian

childhood cirrhosis, NAIC); bệnh sarcoid của gan; bệnh thoái hóa dạng tinh bột; viêm ruột hoại tử; độc tính do axit mật trong huyết thanh, gồm rối loạn nhịp tim (ví dụ, rung nhĩ) khi thiết lập đặc tính axit mật trong huyết thanh bất thường, bệnh cơ tim liên quan tới xơ gan (“cholecardia”), và suy mòn cơ xương liên quan đến bệnh gan ứ mật; bệnh viêm gan siêu vi (gồm viêm gan A, viêm gan B, viêm gan C, viêm gan D và viêm gan E); ung thư biểu mô tế bào gan (ung thư gan); ung thư đường mật; ung thư đường tiêu hóa liên quan tới axit mật; và ứ mật do bướu và u của gan, của đường mật và của tuyến tụy. Các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cũng là hữu ích trong việc tăng liều pháp corticosteroid để điều trị bệnh gan.

Các bệnh khác có thể được điều trị hoặc phòng ngừa bằng cách dùng các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, bao gồm các hội chứng tăng hấp thu (như chứng thiếu betalipoprotein huyết, chứng tăng betalipoprotein huyết gia đình (familial hypobetalipoproteinemia, FHBL), bệnh duy trì chylomicron (chylomicron retention disease, CRD) và thiếu máu cục bộ); tình trạng thừa vitamin và loãng xương; tăng huyết áp; tăng lọc cầu thận; ngứa do suy thận. Các hợp chất này cũng hữu ích trong việc bảo vệ chống lại tổn thương thận liên quan tới bệnh gan hoặc chuyển hóa.

Việc vận chuyển các axit mật trong cơ thể người được kiểm soát bởi hoạt động của các thành viên của họ các protein mang hoà tan SLC10, cụ thể bởi polypeptide đồng vận chuyển Na^+ -taurocholat (Na^+ -taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP, còn được gọi là chất vận chuyển axit mật từ gan (LBAT); ký hiệu gen *SLC10A1*), được biểu hiện trong lớp màng hình sin của các tế bào gan, và bởi chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (ASBT, còn được gọi là chất vận chuyển axit mật hồi tràng (ileal bile acid transporter, IBAT), ISBT, ABAT hoặc NTCP2; ký hiệu gen *SLC10A2*), được biểu hiện trong màng đỉnh của tế bào ruột hồi tràng, tế bào ống thận gần, biểu mô ống mật, tế bào mật lớn và tế bào biểu mô túi mật. Trong gan, các axit mật được chiết hiệu quả từ tĩnh mạch cửa bởi chất vận chuyển axit mật từ gan (LBAT) và tiết lại qua màng tiểu quản bởi bơm xuất muối mật (bile salt export pump, BSEP; ký hiệu gen *ABCB11*). Quá trình tái hấp thu axit mật trong hồi tràng được thực hiện bởi chất vận chuyển axit mật phụ thuộc natri đỉnh (ASBT), nơi nó thường được gọi là chất vận chuyển axit mật hồi tràng (IBAT). Cả LBAT lẫn ASBT đều hoạt động như các chất đồng vận chuyển natri-chất tan sinh điện có thể di chuyển hai hoặc nhiều ion Na^+ trên mỗi phân tử chất tan.

Các chất lạ sinh học (xenobiotic) và chất nội sinh (endobiotic), bao gồm các axit mật, được gan hấp thu từ tĩnh mạch cửa và tiết vào mật bằng các protein vận chuyển riêng biệt với các đặc tính cơ chất cá biệt. Các axit mật tiếp hợp với glyxin và taurin tồn tại ở dạng anion và không thể vượt qua màng bằng cách khuếch tán, và do vậy phụ thuộc hoàn toàn vào các protein vận chuyển màng để vào hoặc ra khỏi tế bào gan (Kosters and Karpen, *Xenobiotica* 2008, vol. 38, p. 1043-1071). ASBT và LBAT ưu tiên các muối mật tiếp hợp với glyxin và taurin hơn các muối không tiếp hợp của chúng và tỏ ra có ái lực cao hơn đối với các muối mật dihydroxy so với các muối mật trihydroxy. Không có chất nền không phải axit mật nào được xác định cho ASBT, tuy nhiên LBAT cũng được thấy là vận chuyển nhiều steroid sunfat, hormon và chất lạ sinh học.

LBAT không được đặc tả đầy đủ như ASBT về các yêu cầu ức chế thuốc. Dong et al. đã lập danh sách các loại thuốc được FDA phê duyệt để ức chế LBAT ở người và so sánh các yêu cầu ức chế LBAT và ASBT. Một loạt các nghiên cứu ức chế LBAT đã thực hiện bằng cách sử dụng các loại thuốc được FDA phê duyệt, kết hợp với phát triển mô hình tính toán lặp đi lặp lại. Các nghiên cứu sàng lọc đã xác định được 27 loại thuốc là các chất ức chế LBAT mới, gồm cả irbesartan ($K_i = 11,9 \mu\text{M}$) và ezetimibe ($K_i = 25,0 \mu\text{M}$). Đặc điểm chung của dược lý chỉ ra rằng hai chất kỵ nước và một thụ thể liên kết hydro là điều kiện quan trọng để ức chế LBAT. Trong số 72 loại thuốc được sàng lọc *in vitro*, tổng cộng có 31 loại thuốc ức chế LBAT, trong khi có 51 loại thuốc (tức là nhiều hơn một nửa) có tác dụng ức chế ASBT. Do đó, trong khi có sự chồng chéo chất ức chế, ASBT bất ngờ dễ được chấp nhận để ức chế thuốc hơn so với LBAT, và điều này có thể liên quan tới việc LBAT sở hữu ít tính năng dược lý hơn (Dong et al., *Mol. Pharm.* 2013, vol. 10, p. 1008–1019).

Vaz et al. mô tả việc xác định sự thiếu hụt LBAT là một lỗi mới sinh của quá trình chuyển hóa với kiểu hình lâm sàng tương đối nhẹ. Việc xác định sự thiếu hụt LBAT xác nhận rằng chất vận chuyển này là hệ thống chính để nhập các muối mật tiếp hợp vào gan, nhưng cũng chỉ ra rằng các chất vận chuyển phụ trợ có thể duy trì chu kỳ ruột-gan trong trường hợp nó vắng mặt (Vaz et al., *Hepatology* 2015, vol. 61, p. 260-267). Những phát hiện này ủng hộ giả thuyết rằng ức chế LBAT là một cơ chế tác động an toàn, vì các tế bào gan vẫn có khả năng hấp thu lượng axit mật cần thiết.

Liu et al. mô tả việc xác định một kiểu tăng axit mật mới có liên quan đến đồng hợp tử đối với đột biến p.Ser267Phe trong *SLC10A1* (LBAT). Tần số allele của đột biến này trong gen *SLC10A1* khác nhau ở các quần thể khác nhau, với tỷ lệ mắc phải cao nhất xảy ra ở miền Nam Trung Quốc (8% và 12% lần lượt ở vùng người Hán và người Đại của Trung Quốc) và ở Việt Nam (11%). Tình trạng tăng axit mật “ẩn” này được cho là ảnh hưởng đến 0,64% dân số Nam Hán, 1,44% dân số Đại Trung Quốc và 1,21% dân số Việt Nam. Cũng quan sát thấy sự gia tăng nồng độ BA trong huyết thanh liên hợp và không liên hợp ở các cá nhân đồng hợp tử. Liu et al. cho rằng phát hiện này rất có thể là do sự giảm vận chuyển BA từ vòng tuần hoàn cửa vào các tế bào gan. Điều này ủng hộ giả thuyết rằng chức năng sinh lý của vòng tuần hoàn ruột-gan không chỉ là tái chế axit mật mà còn là rút sạch axit mật từ vòng tuần hoàn này để đạt được cân bằng nội môi (Karpen and Dawson, *Hepatology* 2015, vol. 61, p. 24-27). Theo cách khác, gan có thể tổng hợp các axit mật với nồng độ tăng lên để bù cho sự giảm tái tuần hoàn ruột-gan trong các cá thể mang đồng hợp tử. Do LBAT cũng vận chuyển các axit mật không tiếp hợp, nên sự gia tăng của các axit mật không tiếp hợp trong nghiên cứu này không có gì đáng ngạc nhiên (Liu et al., *Scientific Reports* 2017, 7: 9214, p. 1-7).

LBAT được cho là cần được điều hòa xuống trong một số dạng tổn thương gan ứ mật và ứ mật, trong khi ASBT được cho là cần được điều hòa xuống trong nhiều rối loạn dạ dày-ruột như bệnh Crohn, kém hấp thu axit mật nguyên phát, bệnh viêm ruột, và bệnh viêm hồi tràng nhưng cần được điều hòa lên trong bệnh ứ mật. LBAT cũng hoạt động như thụ thể tế bào cho sự xâm nhập của virus viêm gan B (hepatitis B virus, HBV) và virus viêm gan D (hepatitis D virus, HDV), là nguyên nhân chính gây bệnh gan và ung thư biểu mô tế bào gan.

Tác dụng ức chế ASBT đã được nghiên cứu để làm giảm mức cholesterol trong huyết tương và cải thiện tình trạng kháng insulin, cũng như giảm nhẹ gánh nặng axit mật trong gan trong bệnh gan ứ mật. Ngoài ra, việc ức chế ASBT được thấy là có thể khôi phục nồng độ insulin và glucoza huyết bình thường, do đó thiết lập được việc ức chế ASBT như một phương pháp hứa hẹn để điều trị bệnh tiểu đường typ 2. Các chất ức chế ASBT cũng được sử dụng để điều trị bệnh táo bón chức năng.

Do ASBT được biểu hiện chủ yếu trong hồi tràng (nơi nó thường được gọi là IBAT), các chất ức chế ASBT không cần phải có mặt một cách có hệ thống. Mặt khác,

ASBT cũng được biểu hiện trong các tế bào ống gần của thận. Các chất ức chế ASBT mà có mặt một cách có hệ thống do đó cũng có thể ức chế quá trình tái hấp thu axit mật trong thận. Tin rằng điều đó sẽ làm tăng nồng độ các axit mật trong nước tiểu, và tăng mức loại bỏ các axit mật ra khỏi cơ thể qua nước tiểu. Các chất ức chế ASBT mà có mặt một cách có hệ thống sẽ có tác dụng không những ở hồi tràng mà còn ở thận, do đó có thể dẫn đến việc làm giảm nồng độ axit mật với mức lớn hơn so với các chất ức chế ASBT không có mặt một cách có hệ thống chỉ có tác dụng trong hồi tràng.

Các hợp chất có hiệu lực ức chế ASBT cao là đặc biệt thích hợp để điều trị các bệnh gan gây ứ mật, như ứ mật trong gan gia đình tiên triển (PFIC), hội chứng Alagilles, hẹp ống mật và viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH).

Hẹp ống mật là bệnh gan nhi khoa hiếm gặp liên quan tới sự tắc nghẽn một phần hoặc toàn bộ (hoặc thậm chí là vắng mặt) các ống mật lớn. Sự tắc nghẽn hoặc vắng mặt ống mật lớn này gây ra hiện tượng ứ mật, dẫn đến sự tích tụ các axit mật làm tổn thương gan. Theo một số phương án, sự tích tụ các axit mật này xảy ra trong cây mật ngoài gan. Theo một số phương án, sự tích tụ các axit mật xảy ra trong cây mật trong gan. Tiêu chuẩn chăm sóc hiện nay là phương pháp Kasai, bao gồm việc phẫu thuật để loại bỏ các ống mật bị nghẽn và nối trực tiếp một phần ruột non với gan. Hiện nay không có liệu pháp dùng thuốc nào được phê duyệt để điều trị rối loạn này.

Sáng chế này mô tả các phương pháp để điều trị bệnh hẹp ống mật ở đối tượng cần điều trị, bao gồm việc đưa vào đối tượng cần điều trị một lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng. Theo một số phương án, đối tượng này được điều trị bằng phương pháp Kasai trước khi tiếp nhận hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng. Theo một số phương án, đối tượng cần điều trị được cho tiếp nhận hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, trước khi được điều trị bằng phương pháp Kasai. Theo một số phương án, việc điều trị bệnh hẹp ống mật này làm giảm nồng độ axit mật trong huyết thanh ở đối tượng. Theo một số phương án, nồng độ axit mật trong huyết thanh được xác định bằng, ví dụ, thử nghiệm enzym ELISA hoặc các thử nghiệm để xác định tổng lượng các axit mật như được mô tả trong tài liệu của Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo một số phương án, nồng độ axit mật trong huyết thanh có thể giảm, ví dụ, từ 10% tới 40%, từ 20% tới 50%, 30% tới 60%, 40% tới 70%,

50% tới 80%, hoặc nhiều hơn 90% so với nồng độ axit mật trong huyết thanh trước khi tiếp nhận hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, việc điều trị bệnh hẹp ống mật gồm cả điều trị bệnh ngứa.

PFIC là rối loạn di truyền hiếm gặp được ước tính ảnh hưởng đến một trong từ 50.000 tới 100.000 trẻ em được sinh ra trên toàn thế giới và gây ra bệnh gan tiến triển, đe dọa tính mạng.

Một biểu hiện của PFIC là bệnh ngứa, thường làm giảm sút nghiêm trọng chất lượng cuộc sống. Trong một số trường hợp, PFIC dẫn đến xơ gan và suy gan. Các phương pháp điều trị hiện tại bao gồm chuyển hướng ống mật bên ngoài một phần (PEBD = Partial External Biliary Diversion) và ghép gan, tuy nhiên, những lựa chọn này có thể mang nguy cơ biến chứng sau phẫu thuật, cũng như các vấn đề tâm lý và xã hội.

Ba khiếm khuyết gen thay thế đã được xác định tương quan với ba phân nhóm PFIC riêng biệt được gọi là typ 1, 2 và 3

- PFIC typ 1, đôi khi được gọi là “bệnh Byler”, gây ra bởi sự tiết mật bị suy yếu do đột biến ở gen ATP8B1, là gen mã hóa protein giúp duy trì sự cân bằng thích hợp của chất béo có tên là phospholipit trong màng tế bào ở ống mật. Sự mất cân bằng của các phospholipit này có liên quan đến bệnh ứ mật và tăng axit mật trong gan. Các đối tượng bị ảnh hưởng bởi PFIC typ 1 thường bị bệnh ứ mật trong những tháng đầu đời và, nếu không được phẫu thuật, sẽ tiến triển thành xơ gan và bệnh gan giai đoạn cuối trước khi kết thúc thập kỷ đầu đời.
- PFIC typ 2, đôi khi được gọi là “hội chứng Byler”, gây ra bởi sự tiết muối mật bị suy yếu do đột biến ở gen ABCB11, là gen mã hóa protein, được gọi là bơm xuất muối mật, có tác dụng chuyển các axit mật ra khỏi gan. Các đối tượng mắc PFIC typ 2 thường bị suy gan trong vài năm đầu đời và có nguy cơ cao sẽ phát triển một loại ung thư gan được gọi là ung thư biểu mô tế bào gan.
- PFIC typ 3, thường xuất hiện trong những năm đầu tiên của thời thơ ấu với bệnh ứ mật tiến triển, gây ra bởi đột biến ở gen ABCB4, là gen mã hóa cho một chất vận chuyển có tác dụng đưa phospholipit qua màng tế bào.

Ngoài ra, các đột biến ở gen TJP2, gen NR1H4 hoặc gen Myo5b được cho là cũng gây ra PFIC. Ngoài ra, một số đối tượng bị PFIC không có đột biến bất kỳ trong số

các gen ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 hoặc Myo5b. Trong những trường hợp này, nguyên nhân gây bệnh chưa được biết rõ.

Các đột biến điển hình của gen ATP8B1 hoặc protein thu được trình bày trong các Bảng 2 và 3, được đánh số dựa trên protein ATP8B1 hoang dã (ví dụ, SEQ ID NO: 1) hoặc gen của con người (ví dụ, SEQ ID NO: 2). Các đột biến điển hình của gen ABCB11 hoặc protein thu được trình bày trong các Bảng 4 và 5, được đánh số dựa trên protein ABCB11 hoang dã (ví dụ, SEQ ID NO: 3) hoặc gen của con người (ví dụ, SEQ ID NO: 4).

Như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, vị trí axit amin trong trình tự protein tham chiếu tương ứng với vị trí axit amin cụ thể trong SEQ ID NO: 1 hoặc 3 có thể được xác định bằng cách sắp xếp trình tự protein tham chiếu thẳng hàng với SEQ ID NO: 1 hoặc 3 (ví dụ, bằng cách sử dụng chương trình phần mềm, như ClustalW2). Sự thay đổi ở các gốc này (được gọi trong bản mô tả này là “đột biến”) có thể bao gồm sự thay thế, cài xen bên trong hoặc bên sườn các trình tự này, và xóa bỏ bên trong hoặc bên sườn các trình tự này, một hoặc nhiều axit amin. Như được hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực kỹ thuật này, vị trí nucleotit trong trình tự gen tham chiếu tương ứng với vị trí nucleotit cụ thể trong SEQ ID NO: 2 hoặc 4 có thể được xác định bằng cách sắp xếp trình tự gen tham chiếu thẳng hàng với SEQ ID NO: 2 hoặc 4 (ví dụ, bằng cách sử dụng chương trình phần mềm, như ClustalW2). Sự thay đổi ở các gốc này (được gọi trong bản mô tả này là “đột biến”) có thể bao gồm sự thay thế, cài xen bên trong hoặc bên sườn các trình tự này, và xóa bỏ bên trong hoặc bên sườn các trình tự này, một hoặc nhiều nucleotit. Tham khảo tài liệu Kooistra, et al., “KLIFS: A structural kinase-ligand interaction database,” *Nucleic Acids Res.* 2016, vol. 44, no. D1, pp. D365-D371, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Trình tự protein chuẩn của ATP8B1 (SEQ ID NO: 1) – Uniprot ID O43520

```
MSTERDSETT FDSDSQPNDE VVPYSDDETE DELDDQGS AV EPEQNRVNRE AEENREPFRK
ECTWQVKAND RKYHEQPHFM NTKFLCIKES KYANNAIKTY KYNAFTFIPM NLFEQFKRAA
NLYFLALLIE QAVPQISTLA WYTTLVPLLV VLGVTAIKDL VDDVARHKMD KEINNRTCEV
IKDGRFKVAK WKEIQVGDVI RLKKNDFVPA DILLSSSEP NSLCYVETAE LDGETNLKFK
MSLEITDQYL QREDTLATFD GFIECEEPNN RLDKFTGTLF WRNTSFPLDA DKILLRGCVI
RNTDFCHGLV IFAGADTKIM KNSGKTRFKR TKIDYLMNYM VYTIFVVLIL LSAGLAIGHA
YWEAQVGNSS WYLYDGEDDT PSYRGFLIFW GYIIVLNTMV PISLYVSVEV IRLGQSHFIN
WDLQMYAEK DTPAKARTTT LNEQLGQIHY IFSDKTGTLT QNIMTFKKCC INGQIYGDHR
DASQHNHNI EQVDFSWNTY ADGKLAFYDH YLIEQIQSGK EPEVRQFFFL LAVCHTVMVD
RTDQQLNYQA ASPDEGALVN AARNFGFAFL ARTQNTITIS ELGTERTYNV LAILDFNSDR
KRMSIIVRTP EGNIKLYCKG ADTVIYERLH RMNPTKQETQ DALDIFANET LRTLCLCYKE
```

IEEKEFTEWN KKFMAASVAS TNRDEALDKV YEEIEKDLIL LGATAIEDKL QDGV PETISK
 LAKADIKI WV LTGDKKETAE NIGFACELLT EDTTICYGED INSL LHARME NQRNRGGVYA
 KFAPPVQESF FPPGGNRALI ITGSWLNEIL LEKKT KRNKI LKLKFP RTEE ERRMRTQSKR
 RLEAKKEQRQ KNFVDLACEC SAVICCRVTP KQKAMVVDLV KRYKKAITLA IGDGANDVNM
 IKTAHIGVGI SGOEGMQAVM SSDYSFAQFR YLQRLLLVHG RWSYIRMCKF LRYFFYKNFA
 FTLVHFWYSF FNGYSAQTAY EDWFITLYNV LYTSLPVLLM GLLDQDVSDK LSLRFPGLYI
 VGQRDLLFNY KRFFVSLLHG VLTSMILFFI PLGAYLQTVG QDGEAPSDYQ SFAVTIASAL
 VITVNFQIGL DTSYWTFVNA FSIFGSIALY FGIMFDFHSA GIHVLFP SAF QFTGTASNAL
 RQPYIWL TII LAVAVCLLPV VAIRFLSMTI WPSESDKI QK HRKRLKAE EQ WQRROQVFRR
 GVSTRRSAYA FSHQRGYADL ISSGRSIRKK RSPLDAIVAD GTAEYRRTGD S

Trình tự ADN chuẩn của ATP8B1 (SEQ ID NO: 2)

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

Bảng 2. Các đột biến ATP8B1 điển hình

Vị trí axit amin 3 (ví dụ, T3K) ²⁷
Vị trí axit amin 23 (ví dụ, P23L) ⁵
Vị trí axit amin 45 (ví dụ, N45T) ^{5,8,9}
Vị trí axit amin 46 (ví dụ, R46X) ^{A,25}
Vị trí axit amin 62 (ví dụ, C62R) ²⁸
Vị trí axit amin 63 (ví dụ, T63T) ⁴¹
Vị trí axit amin 70 (ví dụ, D70N) ^{1,6}
Vị trí axit amin 71 (ví dụ, R71H) ⁴³
Vị trí axit amin 78 (ví dụ, H78Q) ¹⁹
Vị trí axit amin 82 (ví dụ, T82T) ⁴¹
Vị trí axit amin 92 (ví dụ, Y92Y) ⁴¹
Vị trí axit amin 93 (ví dụ, A93A) ⁶

Vị trí axit amin 96 (ví dụ, A96G) ²⁷
Vị trí axit amin 114 (ví dụ, E114Q) ⁸
Vị trí axit amin 127 (ví dụ, L127P ⁶ , L127V ³⁶)
Vị trí axit amin 177 (ví dụ, T177T) ⁶
Vị trí axit amin 179 (ví dụ, E179X) ²⁹
Δ Vị trí axit amins 185-282 ⁴⁴
Vị trí axit amin 197 (ví dụ, G197Lfs*10) ²²
Vị trí axit amin 201 (ví dụ, R201S ²⁷ , R201H ³⁵)
Vị trí axit amin 203 (ví dụ, K203E ^{5,8} , K203R ⁹ , K203fs ²⁵)
Vị trí axit amin 205 (ví dụ, N205fs ⁶ , N205Kfs*2 ³⁵)
Vị trí axit amin 209 (ví dụ, P209T) ⁴
Vị trí axit amin 217 (ví dụ, S217N) ⁴³
Vị trí axit amin 232 (ví dụ, D232D) ³⁰
Vị trí axit amin 233 (ví dụ, G233R) ³⁸
Vị trí axit amin 243 (ví dụ, L243fs*28) ³³
Vị trí axit amin 265 (ví dụ, C265R) ²⁵
Vị trí axit amin 271 (ví dụ, R271X ¹³ , R271R ³⁰)
Vị trí axit amin 288 (ví dụ, L288S) ⁶
Vị trí axit amin 294 (ví dụ, L294S) ⁴³
Vị trí axit amin 296 (ví dụ, R296C) ¹¹
Vị trí axit amin 305 (ví dụ, F305I) ²⁸
Vị trí axit amin 306 (ví dụ, C306R) ²³
Vị trí axit amin 307 (ví dụ, H307L) ³⁵
Vị trí axit amin 308 (ví dụ, G308V ¹ , G308D ⁶ , G308S ³⁵)
Vị trí axit amin 314 (ví dụ, G314S) ¹³
Vị trí axit amin 320 (ví dụ, M320Vfs*13) ¹¹
Vị trí axit amin 337 (ví dụ, M337R) ¹⁸
Vị trí axit amin 338 (ví dụ, N338K) ¹⁸
Vị trí axit amin 340 (ví dụ, M340V) ¹⁸
Vị trí axit amin 344 (ví dụ, I344F) ^{6,20}
Vị trí axit amin 349 (ví dụ, I349T) ⁴¹

Vị trí axit amin 358 (ví dụ, G358R) ²⁸
Vị trí axit amin 367 (ví dụ, G367G) ⁴¹
Vị trí axit amin 368 (ví dụ, N368D) ⁴¹
Vị trí axit amin 393 (ví dụ, I393V) ²⁷
Vị trí axit amin 403 (ví dụ, S403Y) ⁶
Vị trí axit amin 407 (ví dụ, S407N) ⁴⁰
Vị trí axit amin 412 (ví dụ, R412P) ⁶
Vị trí axit amin 415 (ví dụ, Q415R) ²⁷
Vị trí axit amin 422 (ví dụ, D422H) ³⁵
Vị trí axit amin 429 (ví dụ, E429A) ⁶
Vị trí axit amin 446 (ví dụ, G446R) ^{4,11}
Vị trí axit amin 453 (ví dụ, S453Y) ⁶
Vị trí axit amin 454 (ví dụ, D454G) ⁶
Vị trí axit amin 455 (ví dụ, K455N) ⁴³
Vị trí axit amin 456 (ví dụ, T456M ^{3,6} , T456K ³⁵)
Vị trí axit amin 457 (ví dụ, G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
Vị trí axit amin 469 (ví dụ, C469G) ⁴¹
Vị trí axit amin 478 (ví dụ, H478H) ⁴¹
Vị trí axit amin 500 (ví dụ, Y500H) ⁶
Vị trí axit amin 525 (ví dụ, R525X) ⁴
Δ Vị trí axit amin 529 ⁶
Vị trí axit amin 535 (ví dụ, H535L ⁶ , H535N ⁴¹)
Vị trí axit amin 553 (ví dụ, P553P) ⁴³
Vị trí axit amin 554 (ví dụ, D554N ^{1,6} , D554A ³⁵)
Δ Vị trí axit amins 556-628 ⁴⁴
Δ Vị trí axit amins 559-563 ³⁵
Vị trí axit amin 570 (ví dụ, L570L) ⁴¹
Vị trí axit amin 577 (ví dụ, I577V) ¹⁹
Vị trí axit amin 581 (ví dụ, E581K) ³⁵
Vị trí axit amins 554 và 581 (ví dụ, D554A+E581K) ³⁵
Vị trí axit amin 585 (ví dụ, E585X) ²¹

Vị trí axit amin 600 (ví dụ, R600W ^{2,4} , R600Q ⁶)
Vị trí axit amin 602 (ví dụ, R602X) ^{3,6}
Vị trí axit amin 628 (ví dụ, R628W) ⁶
Vị trí axit amin 631 (ví dụ, R631Q) ²⁸
Δ Vị trí axit amins 645-699 ⁴
Vị trí axit amin 661 (ví dụ, I661T) ^{1,4,6}
Vị trí axit amin 665 (ví dụ, E665X) ^{4,6}
Vị trí axit amin 672 (ví dụ, K672fs ⁶ , K672Vfs*1 ³⁵)
Vị trí axit amin 674 (ví dụ, M674T) ¹⁹
Vị trí axit amins 78 và 674 (ví dụ, H78Q/M674T) ¹⁹
Vị trí axit amin 684 (ví dụ, D684D) ⁴¹
Vị trí axit amin 688 (ví dụ, D688G) ⁶
Vị trí axit amin 694 (ví dụ, I694T ⁶ , I694N ¹⁷)
Vị trí axit amin 695 (ví dụ, E695K) ²⁷
Vị trí axit amin 709 (ví dụ, K709fs ⁶ , K709Qfs*41 ¹³)
Vị trí axit amin 717 (ví dụ, T717N) ⁴
Vị trí axit amin 733 (ví dụ, G733R) ⁶
Vị trí axit amin 757 (ví dụ, Y757X) ⁴
Vị trí axit amin 749 (ví dụ, L749P) ²¹
Vị trí axit amin 792 (ví dụ, P792fs) ⁶
Δ Vị trí axit amin 795-797 ⁶
Vị trí axit amin 809 (ví dụ, I809L) ²⁷
Vị trí axit amin 814 (ví dụ, K814N) ²⁸
Vị trí axit amin 833 (ví dụ, R833Q ²⁷ , R833W ⁴¹)
Vị trí axit amin 835 (ví dụ, K835Rfs*36) ³⁵
Vị trí axit amin 845 (ví dụ, K845fs) ²⁵
Vị trí axit amin 849 (ví dụ, R849Q) ²⁴
Vị trí axit amin 853 (ví dụ, F853S, F853fs) ⁶
Vị trí axit amin 867 (ví dụ, R867C ¹ , R867fs ⁶ , R867H ²³)
Vị trí axit amin 885 (ví dụ, K885T) ⁴¹
Vị trí axit amin 888 (ví dụ, T888T) ⁴¹

Vị trí axit amin 892 (ví dụ, G892R) ⁶
Vị trí axit amin 912 (ví dụ, G912R) ³⁵
Vị trí axit amin 921 (ví dụ, S921S) ⁴¹
Vị trí axit amin 924 (ví dụ, Y924C) ²⁸
Vị trí axit amin 930 (ví dụ, R930X ⁶ , R930Q ²⁸)
Vị trí axit amin 941 (ví dụ, R941X) ³⁵
Vị trí axit amin 946 (ví dụ, R946T) ⁴¹
Vị trí axit amin 952 (ví dụ, R952Q ^{5,9,15} , R952X ⁶)
Vị trí axit amin 958 (ví dụ, N958fs) ⁶
Vị trí axit amin 960 (ví dụ, A960A) ⁴¹
Δ Vị trí axit amin 971 ⁴³
Vị trí axit amin 976 (ví dụ, A976E ⁴¹ , A976A ⁴³)
Vị trí axit amin 981 (ví dụ, E981K) ²⁰
Vị trí axit amin 994 (ví dụ, S994R) ⁴
Vị trí axit amin 1011 (ví dụ, L1011fs*18) ³³
Vị trí axit amin 1012 (ví dụ, S1012I) ¹⁰
Vị trí axit amin 1014 (ví dụ, R1014X) ^{6,11}
Vị trí axit amin 1015 (ví dụ, F1015L) ²⁷
Vị trí axit amin 1023 (ví dụ, Q1023fs) ⁶
Vị trí axit amin 1040 (ví dụ, G1040R) ^{1,6}
Vị trí axit amin 1044 (ví dụ, S0144L) ³⁴
Vị trí axit amin 1047 (ví dụ, L1047fs) ⁶
Vị trí axit amin 1050 (ví dụ, I1050K) ³¹
Vị trí axit amin 1052 (ví dụ, L1052R) ²⁸
Vị trí axit amin 1095 (ví dụ, W1095X) ¹¹
Vị trí axit amin 1098 (ví dụ, V1098X) ³⁵
Vị trí axit amin 1131 (ví dụ, Q1131X) ⁴⁴
Vị trí axit amin 1142 (ví dụ, A1142Tfs*35) ⁴³
Vị trí axit amin 1144 (ví dụ, Y1144Y) ⁴³
Vị trí axit amin 1150 (ví dụ, I1150T) ⁴¹
Vị trí axit amin 1152 (ví dụ, A1152T) ³⁰

Vị trí axit amin 1159 (ví dụ, P1159P) ^{25,43}
Vị trí axit amin 1164 (ví dụ, R1164X) ⁶
Vị trí axit amin 1193 (ví dụ, R1193fs*39) ³³
Vị trí axit amin 1197 (ví dụ, V1197L) ⁴¹
Vị trí axit amin 1208 (ví dụ, A1208fs) ⁶
Vị trí axit amin 1209 (ví dụ, Y1209Lfs*28) ⁴
Vị trí axit amin 1211 (ví dụ, F1211L) ²⁷
Vị trí axit amin 1219 (ví dụ, D1219H ⁵ , D1219G ²⁷)
Vị trí axit amin 1223 (ví dụ, S1223S) ⁴¹
Vị trí axit amin 1233 (ví dụ, P1233P) ⁴¹
Vị trí axit amin 1241 (ví dụ, G1241fs) ⁶
Vị trí axit amin 1248 (ví dụ, T1248T) ⁴³
Đột biến ở vị trí cắt IVS3+1_+3delGTG ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS3-2A>G ⁶
IVS6+5T>G ^{17,25}
Đột biến ở vị trí cắt IVS8+1G>T ⁶
IVS9-G>A ²⁶
IVS12+1G>A ²⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS17-1G>A ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS18+2T>C ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS20-4CT>AA
Đột biến ở vị trí cắt IVS21+5G>A ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS23-3C>A ⁶
Đột biến ở vị trí cắt 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
Vị trí axit amin 209 (ví dụ, P209T) và 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>AK46
c.2097+2T>C ³²
c.2097+60T>G ⁴¹
c.2097+89T>C ⁴¹
c.2097+97T>G ⁴¹
c.2210-114T>C ⁹
2210delA ¹⁶
c.2210-45_50dupATAAAA ⁹
c.2285+29C.T ⁴¹
c.2285+32A>G ⁴¹
c.2286-4_2286-3delinsAA ⁴⁶
c.2418+5G>A ⁴⁶
c.2707+3G>C ²⁷
c.2707+9T>G ⁴¹
c.2707+43A>G ⁴¹
c.2709-59T>C ⁴¹
c.2931+9A>G ⁴¹
c.2931+59T>A ⁴¹
c.2932-3C>A ⁴⁶
c.2932+59T>A ⁹
c.2937A>C ²⁷
c.3016-9C>A ³¹
c.3033-3034del ¹⁹
3122delTCCTA/

insACATCGATGTTGATGTTAGG ⁴⁵
3318 G>A ¹⁴
c.3400+2T>A ⁴⁶
c.3401-175C>T ⁹
c.3401-167C>T ⁹
c.3401-108C>T ⁹
c.3531+8G>T ^{9,15}
c.3532-15C>T ⁹
Δ Phe ex 15 ⁴
Ex1_Ex13del ⁶
Ex2_Ex6del ³³
Ex12_Ex14del ²⁷
Exon bị bỏ qua 24 ⁴⁵
del5'UTR-ex18 ¹¹
c.*11C>T ⁴¹
c.*1101 + 366G > A ⁷
g.92918del565 ³¹
GC trước exon 16 (ví dụ, dẫn đến xóa bỏ 4 bp) ⁴²
Dịch khung từ đầu 5' của exon 16 ⁴²
xóa bỏ ⁴⁶ 1,4 kb ở đầu 5'

Bảng 3. Các đột biến ATP8B1 được chọn có liên quan tới PFIC-1

Vị trí axit amin 23 (ví dụ, P23L) ⁵
Vị trí axit amin 78 (ví dụ, H78Q) ¹⁹
Vị trí axit amin 93 (ví dụ, A93A) ⁶
Vị trí axit amin 96 (ví dụ, A96G) ²⁷
Vị trí axit amin 127 (ví dụ, L127P) ⁶
Vị trí axit amin 197 (ví dụ, G197Lfs*10) ²²
Vị trí axit amin 205 (ví dụ, N205fs) ⁶
Vị trí axit amin 209 (ví dụ, P209T) ⁴

Vị trí axit amin 233 (ví dụ, G233R) ³⁸
Vị trí axit amin 243 (ví dụ, L243fs*28) ³³
Vị trí axit amin 288 (ví dụ, L288S) ⁶
Vị trí axit amin 296 (ví dụ, R296C) ¹¹
Vị trí axit amin 308 (ví dụ, G308V ^{1,6})
Vị trí axit amin 320 (ví dụ, M320Vfs*13) ¹¹
Vị trí axit amin 403 (ví dụ, S403Y) ⁶
Vị trí axit amin 407 (ví dụ, S407N) ⁴⁰
Vị trí axit amin 412 (ví dụ, R412P) ⁶
Vị trí axit amin 415 (ví dụ, Q415R) ²⁷
Vị trí axit amin 429 (ví dụ, E429A) ⁶
Vị trí axit amin 446 (ví dụ, G446R) ⁴
Vị trí axit amin 456 (ví dụ, T456M) ^{3,6}
Vị trí axit amin 457 (ví dụ, G457G ⁶ , G457fs*6 ³³)
Vị trí axit amin 500 (ví dụ, Y500H) ⁶
Vị trí axit amin 525 (ví dụ, R525X) ⁴
Δ Vị trí axit amin 529 ⁶
Vị trí axit amin 535 (ví dụ, H535L) ⁶
Vị trí axit amin 554 (ví dụ, D554N) ^{1,6}
Vị trí axit amin 577 (ví dụ, I577V) ¹⁹
Vị trí axit amin 585 (ví dụ, E585X) ²¹
Vị trí axit amin 600 (ví dụ, R600W) ⁴
Vị trí axit amin 602 (ví dụ, R602X) ^{3,6}
Vị trí axit amin 661 (ví dụ, I661T) ^{4,6}
Vị trí axit amin 665 (ví dụ, E665X) ^{4,6}
Δ Vị trí axit amins 645-699 ⁴
Vị trí axit amin 672 (ví dụ, K672fs) ⁶
Vị trí axit amin 674 (ví dụ, M674T) ¹⁹
Vị trí axit amins 78 và 674 (ví dụ, H78Q/M674T) ¹⁹
Vị trí axit amin 688 (ví dụ, D688G) ⁶
Vị trí axit amin 694 (ví dụ, I694N) ¹⁷

Vị trí axit amin 695 (ví dụ, E695K) ²⁷
Vị trí axit amin 709 (ví dụ, K709fs) ⁶
Vị trí axit amin 717 (ví dụ, T717N) ⁴
Vị trí axit amin 733 (ví dụ, G733R) ⁶
Vị trí axit amin 749 (ví dụ, L749P) ²¹
Vị trí axit amin 757 (ví dụ, Y757X) ⁴
Vị trí axit amin 792 (ví dụ, P792fs) ⁶
Vị trí axit amin 809 (ví dụ, I809L) ²⁷
Vị trí axit amin 853 (ví dụ, F853S, F853fs) ⁶
Vị trí axit amin 867 (ví dụ, R867fs) ⁶
Vị trí axit amin 892 (ví dụ, G892R) ⁶
Vị trí axit amin 930 (ví dụ, R930X ⁶ , R952Q ¹⁵)
Vị trí axit amin 952 (ví dụ, R952X) ⁶
Vị trí axit amin 958 (ví dụ, N958fs) ⁶
Vị trí axit amin 981 (ví dụ, E981K) ²⁰
Vị trí axit amin 994 (ví dụ, S994R) ⁴
Vị trí axit amin 1014 (ví dụ, R1014X) ^{6,11}
Vị trí axit amin 1015 (ví dụ, F1015L) ²⁷
Vị trí axit amin 1023 (ví dụ, Q1023fs) ⁶
Vị trí axit amin 1040 (ví dụ, G1040R) ^{1,6}
Vị trí axit amin 1047 (ví dụ, L1047fs) ⁶
Vị trí axit amin 1095 (ví dụ, W1095X) ¹¹
Vị trí axit amin 1208 (ví dụ, A1208fs) ⁶
Vị trí axit amin 1209 (ví dụ, Y1209Lfs*28) ⁴
Vị trí axit amin 1211 (ví dụ, F1211L) ²⁷
Vị trí axit amin 1219 (ví dụ, D1219H ⁵ , D1219G ²⁷)
Đột biến ở vị trí cắt IVS3+1_+3delGTG ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS3-2A>G ⁶
IVS6+5T>G ¹⁷
Đột biến ở vị trí cắt IVS8+1G>T ⁶
IVS9-G>A ²⁶

Đột biến ở vị trí cắt IVS17-1G>A ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS18+2T>C ⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS21+5G>A ⁶
g.24774-42062del ⁴
c.145C>T ¹²
c.239G>A ³⁹
c.625+5 G>T ⁴
Vị trí axit amin 209 (ví dụ, P209T) và 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 trước exon 16 (ví dụ, dẫn đến xóa bỏ 4 bp) ⁴²
Dịch khung từ đầu 5' của exon 16 ⁴²

^A Đột biến ở 'X' biểu thị codon dừng sớm

Tài liệu tham khảo được trích dẫn trong Bảng 2 và 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.
- 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.
- 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 the American-Gastroenterological-Association. Los Angeles, CA, USA. May 19.
- 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.
- 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 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.
- 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.
- 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, Suppl. SUPPL. 1, pp. S461. Abstract Number: LBO-38. Meeting Info: 25th Annual Conference of the Asian Pacific Association for Study of the Liver, APASL 2016. Tokyo, Japan. 20 Feb 2016-24 Feb 2016
- 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.
- ³⁷ Alashkar et al., *Blood* 2015, vol. 126, No. 23. Meeting Info.: 57th Annual Meeting 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.
- 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.
- 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.

Theo một số phương án, đột biến ở ATP8B1 được chọn từ L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, và G1040R.

Trình tự protein chuẩn của ABCB11 (SEQ ID NO: 3) – Uniprot ID O95342

```

MSDSVILRSI KKFGEENDGF ESDKSYNNNDK KSRLQDEKKG DGVRVGFFQL FRFSSSTDIW
LMFVGSLCAF LHGIAQPGVL LIFGTMTDVF IDYDVELQEL QIPGKACVNN TIVWTNSSLN
QNMTNGTRCG LLNIESEMIK FASYAGIAV AVLITGYIQI CFWVIAAARQ IQKMRKFYFR
RIMRMEIGWF DCNSVGELNT RFSDDINKIN DAIADQMALF IQRMTSTICG FLLGFFRGWK
LTLVIISVSP LIGIGAATIG LSVSKFTDYE LKAYAKAGVV ADEVISSMRT VAAFGGEKRE
VERYEKNLVF AQRWGIRKGI VMGFFTGFVW CLIFLCYALA FWYGSTLVLD EGEYTPGTLV
QIFLSVIVGA LNLGNASPCLEAFATGRAAA TSIFETIDRK PIIDCMSEDG YKLDRIKGEI
EFHNVTFHYP SRPEVKILND LNMVIKPGEM TALVGPSGAG KSTALQLIQR FYDPCCEGMVT
VDGHDIRSLN IQWLRDQIGI VEQEPVLFST TIAENIRYGR EDATMEDIVQ AAKEANAYNF
IMDLPQQFDT LVGEGGGQMS GGQKQ RVAIA RALIRNPKIL LLDMATSALD NESEAMVQEV
LSKIQHGHTI ISVAHRLSTV RAADTIIGFE HGTAVERGTH EELLERKGVY FTLVTLQSQG
NQALNEEDIK DATEDDMLAR TFSRGSYQDS LRASIRQRSK SQLSYLVHEP PLAVVDHKST
YEEDRKDKDI PVQEEVEPAP VRRILKFSAP EWPYMLVGSV GAAVNGTVTP LYAFLEFSQIL
GTFSIPDKEE QRSQINGVCL LRVAMGCVSL FTQFLQGYAF AKSGELLTKR LRKFGFRAML
GQDIAWFDDL RNSPGALTTR LATDASQVQG AAGSQIGMIV NSFTNVTVM IIAFSFSWKL
SLVILCFFPF LALSGATQTR MLTGFA SRDK QALEMVGQIT NEALSNI RTV AGIGKERRFI
EALETELEKP FKTAIQKANI YGFCFAFAQC IMFIANSASY RYGGYLISNE GLHFSYVFRV
ISAVVLSATA LGRAFSYTPS YAKAKISAAR FFQLLDRQPP ISVYNTAGEK WDNFQ GKIDF
VDCKFTYPSR PDSQVLNGLS VSISPGQTLA FVGSSGCGKS TSIQLLERFY DPDQ GKVMID
GHDSKKVNVQ FLRSNIGIVS QEPVLFACSI MDNIKYGDNT KEIPMERVIA AAKQAQLHDF
VMSLPEKYET NVGSQGSQLS RGEKQRIAIA RAIVRDPKIL LLDEATSALD TESEKTVQVA
LDKAREGRTC IVIAHRLSTI QNADIIAVMA QGVVIEKGTH EELMAQKGAY YKLVTTGSPIS

```

Trình tự ADN chuẩn của 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

Bảng 4. Diễn hình ABCB11 Đột biến

Vị trí axit amin 1 (ví dụ, M1V) ⁹
Vị trí axit amin 4 (ví dụ, S4X) ^{A,64}
Vị trí axit amin 8 (ví dụ, R8X) ⁸⁸
Vị trí axit amin 19 (ví dụ, G19R) ⁵⁶
Vị trí axit amin 24 (ví dụ, K24X) ³⁵
Vị trí axit amin 25 (ví dụ, S25X) ^{5,14}
Vị trí axit amin 26 (ví dụ, Y26Ifs*7) ³⁸
Vị trí axit amin 36 (ví dụ, D36D) ²⁷
Vị trí axit amin 38 (ví dụ, K38Rfs*24) ⁷³
Vị trí axit amin 43 (ví dụ, V43I) ⁵⁷
Vị trí axit amin 49 (ví dụ, Q49X) ⁷³
Vị trí axit amin 50 (ví dụ, L50S, L50W) ⁵⁷
Vị trí axit amin 52 (ví dụ, R52W ²⁶ , R52R ²⁸)
Vị trí axit amin 56 (ví dụ, S56L) ⁵⁸
Vị trí axit amin 58 (ví dụ, D58N) ⁶²
Vị trí axit amin 62 (ví dụ, M62K) ⁹
Vị trí axit amin 66 (ví dụ, S66N) ¹⁷
Vị trí axit amin 68 (ví dụ, C68Y) ⁴¹
Vị trí axit amin 50 (ví dụ, L50S) ^{5,7}
Vị trí axit amin 71 (ví dụ, L71H) ⁷³
Vị trí axit amin 74 (ví dụ, I74R) ⁷¹
Vị trí axit amin 77 (ví dụ, P77A) ⁷³
Vị trí axit amin 87 (ví dụ, T87R) ⁶⁷
Vị trí axit amin 90 (ví dụ, F90F) ^{7,27}
Vị trí axit amin 93 (ví dụ, Y93S ¹³ , Y93X ⁸⁸)
Vị trí axit amin 96 (ví dụ, E96X) ⁸⁸
Vị trí axit amin 97 (ví dụ, L97X) ³⁹
Vị trí axit amin 101 (ví dụ, Q101Dfs*8) ⁹
Vị trí axit amin 107 (ví dụ, C107R) ³⁶
Vị trí axit amin 112 (ví dụ, I112T) ⁹

Vị trí axit amin 114 (ví dụ, W114R) ^{2,9}
Vị trí axit amin 123 (ví dụ M123T) ⁶⁷
Vị trí axit amin 127 (ví dụ, T127Hfs*6) ⁵
Vị trí axit amin 129 (ví dụ, C129Y) ²⁵
Vị trí axit amin 130 (ví dụ, G130G) ⁷⁷
Vị trí axit amin 134 (ví dụ, I134I) ²⁸
Vị trí axit amin 135 (ví dụ, E135K ^{7,13} , E135L ¹⁷)
Vị trí axit amin 137 (ví dụ, E137K) ⁷
Vị trí axit amin 157 (ví dụ, Y157C) ⁵
Vị trí axit amin 161 (ví dụ, C161X) ³⁹
Vị trí axit amin 164 (ví dụ, V164Gfs*7 ³⁰ , V164I ⁸⁵)
Vị trí axit amin 167 (ví dụ, A167S ⁴ , A167V ⁷ , A167T ^{9,17})
Vị trí axit amin 181 (ví dụ, R181I) ³⁵
Vị trí axit amin 182 (ví dụ, I182K) ⁹
Vị trí axit amin 183 (ví dụ, M183V ⁸ , M183T ⁹)
Vị trí axit amin 185 (ví dụ, M185I) ⁷³
Vị trí axit amin 186 (ví dụ, E186G) ^{2,7,22}
Vị trí axit amin 188 (ví dụ, G188W) ⁷³
Vị trí axit amin 194 (ví dụ, S194P) ⁷
Vị trí axit amin 198 (ví dụ, L198P) ⁷
Vị trí axit amin 199 (ví dụ, N199Ifs*15X) ⁸⁸
Vị trí axit amin 206 (ví dụ, I206V) ²⁸
Vị trí axit amin 212 (ví dụ, A212T) ⁷³
Vị trí axit amin 217 (ví dụ, M217R) ⁸⁸
Vị trí axit amin 225 (ví dụ, T225P) ⁵⁷
Vị trí axit amin 226 (ví dụ, S226L) ⁹
Vị trí axit amin 232 (ví dụ, L232Cfs*9) ⁹
Vị trí axit amin 233 (ví dụ, L233S) ⁸⁶
Vị trí axit amin 238 (ví dụ, G238V) ^{2,7}
Vị trí axit amin 242 (ví dụ, T242I) ^{5,7}
Vị trí axit amin 245 (ví dụ, I245Tfs*26) ⁵⁷

Vị trí axit amin 256 (ví dụ, A256G) ⁹
Vị trí axit amin 260 (ví dụ, G260D) ⁷
Vị trí axit amin 269 (ví dụ, Y269Y) ²⁷
Vị trí axit amin 277 (ví dụ, A277E) ⁷⁷
Vị trí axit amin 283 (ví dụ, E283D) ⁷³
Vị trí axit amins 212 và 283 (ví dụ, A212T+E283D) ⁷³
Vị trí axit amin 284 (ví dụ, V284L ^{7,39} , V284A ⁷ , V284D ²³)
Vị trí axit amin 297 (ví dụ, E297G ^{1,2,5,7} , E297K ⁷)
Vị trí axit amin 299 (ví dụ, R299K) ²⁸
Vị trí axit amin 303 (ví dụ, R303K ⁸ , R303M ⁶³ , R303fsX321 ⁸³)
Vị trí axit amin 304 (ví dụ, Y304X) ²⁶
Vị trí axit amin 312 (ví dụ, Q312H) ⁷
Vị trí axit amin 313 (ví dụ, R313S) ^{5,7}
Vị trí axit amin 314 (ví dụ, W314X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 318 (ví dụ, K318Rfs*26) ²⁹
Vị trí axit amin 319 (ví dụ, G319G) ⁷
Vị trí axit amin 327 (ví dụ, G327E) ^{5,7}
Vị trí axit amin 330 (ví dụ, W330X) ²⁴
Vị trí axit amin 336 (ví dụ, C336S) ^{2,7}
Vị trí axit amin 337 (ví dụ, Y337H) ^{21,27}
Vị trí axit amin 342 (ví dụ, W342G) ⁵⁰
Vị trí axit amin 354 (ví dụ, R354X) ⁹
Vị trí axit amin 361 (ví dụ, Q361X ⁵⁷ , Q361R ⁷⁴)
Vị trí axit amin 366 (ví dụ, V366V ²⁸ , V366D ⁵⁷)
Vị trí axit amin 368 (ví dụ, V368Rfs*27) ⁵
Vị trí axit amin 374 (ví dụ, G374S) ³
Vị trí axit amin 380 (ví dụ, L380Wfs*18) ⁵
Vị trí axit amin 382 (ví dụ, A382G) ⁸⁸
Δ Vị trí axit amins 382-388 ⁵
Δ Vị trí axit amins 383-389 ⁵⁷
Vị trí axit amin 387 (ví dụ, R387H) ⁹

Vị trí axit amin 390 (ví dụ, A390P) ^{5,7}
Vị trí axit amin 395 (ví dụ, E395E) ²⁸
Vị trí axit amin 404 (ví dụ, D404G) ⁹
Vị trí axit amin 410 (ví dụ, G410D) ^{5,7}
Vị trí axit amin 413 (ví dụ, L413W) ^{5,7}
Vị trí axit amin 415 (ví dụ, R415X) ⁴²
Vị trí axit amin 416 (ví dụ, I416I) ²⁷
Vị trí axit amin 420 (ví dụ, I420T) ⁹
Vị trí axit amin 423 (ví dụ, H423R) ¹³
Vị trí axit amin 432 (ví dụ, R432T) ^{1,2,7}
Vị trí axit amin 436 (ví dụ, K436N) ⁴⁰
Vị trí axit amin 440 (ví dụ, D440E) ⁸⁸
Vị trí axit amin 444 (ví dụ, V444A) ²
Vị trí axit amin 454 (ví dụ, V454X) ⁴⁹
Vị trí axit amin 455 (ví dụ, G455E) ⁹
Vị trí axit amin 457 (ví dụ, S457Vfs*23) ⁸⁸
Vị trí axit amin 461 (ví dụ, K461E) ^{2,7}
Vị trí axit amin 462 (ví dụ, S462R) ⁸⁸
Vị trí axit amin 463 (ví dụ, T463I) ^{5,7}
Vị trí axit amin 466 (ví dụ, Q466K) ^{5,7}
Vị trí axit amin 470 (ví dụ, R470Q ^{5,7} , R470X ⁹)
Vị trí axit amin 471 (ví dụ, Y472X) ⁵
Vị trí axit amin 472 (ví dụ, Y472C ^{5,27} , Y472X ¹⁴)
Vị trí axit amin 473 (ví dụ, D473Q ³⁵ , D473V ⁸⁸)
Vị trí axit amin 475 (ví dụ, C475X) ²⁹
Vị trí axit amin 481 (ví dụ, V481E) ^{5,7}
Vị trí axit amin 482 (ví dụ, D482G) ^{2,5,7}
Vị trí axit amin 484 (ví dụ, H484Rfs*5) ⁹
Vị trí axit amin 487 (ví dụ, R487H ² , R487P ⁵)
Vị trí axit amin 490 (ví dụ, N490D) ^{5,7}
Vị trí axit amin 493 (ví dụ, W493X) ⁸

Vị trí axit amin 496 (ví dụ, D496V) ⁸⁸
Vị trí axit amin 498 (ví dụ, I498T) ^{2,7}
Vị trí axit amin 499 (ví dụ, G499E) ⁷³
Vị trí axit amin 501 (ví dụ, V501G) ⁶⁸
Vị trí axit amin 504 (ví dụ, E504K) ⁷⁹
Vị trí axit amin 510 (ví dụ, T510T) ⁷
Vị trí axit amin 512 (ví dụ, I512T) ^{5,7}
Vị trí axit amin 515 (ví dụ, N515T ^{5,7} , N515D ⁶⁴)
Vị trí axit amin 516 (ví dụ, I516M) ¹⁷
Vị trí axit amin 517 (ví dụ, R517H) ^{5,7}
Vị trí axit amin 520 (ví dụ, R520X) ⁵
Vị trí axit amin 523 (ví dụ, A523G) ¹³
Vị trí axit amin 528 (ví dụ, I528Sfs*21 ⁵ , I528X ⁹ , I528T ⁷³)
Vị trí axit amin 535 (ví dụ, A535A ⁷ , A535X ⁸⁹)
Vị trí axit amin 540 (ví dụ, F540L) ⁴⁶
Vị trí axit amin 541 (ví dụ, I541L ^{5,7} , I541T ^{5,17})
Vị trí axit amin 546 (ví dụ, Q546K ³⁹ , Q546H ⁷³)
Vị trí axit amin 548 (ví dụ, F548Y) ^{5,7}
Vị trí axit amin 549 (ví dụ, D549V) ⁹
Vị trí axit amin 554 (ví dụ, E554K) ²¹
Vị trí axit amin 556 (ví dụ, G556R) ⁶⁷
Vị trí axit amin 558 (ví dụ, Q558H) ²³
Vị trí axit amin 559 (ví dụ, M559T) ⁵⁷
Vị trí axit amin 562 (ví dụ, G562D ^{5,7} , G562S ⁷³)
Vị trí axit amin 570 (ví dụ, A570T ^{2,5,7} , A570V ²⁶)
Vị trí axit amin 575 (ví dụ, R575X ^{2,5} , R575Q ²¹)
Vị trí axit amin 580 (ví dụ, L580P) ⁵⁷
Vị trí axit amin 586 (ví dụ, T586I) ⁷
Vị trí axit amin 587 (ví dụ, S587X) ⁷³
Vị trí axit amin 588 (ví dụ, A588V ^{5,7} , A588P ⁷³)
Vị trí axit amin 591 (ví dụ, N591S) ^{2,7}

Vị trí axit amin 593 (ví dụ, S593R) ^{2,7}
Vị trí axit amin 597 (ví dụ, V597V ⁹ , V597L ¹³)
Vị trí axit amin 603 (ví dụ, K603K) ⁵⁵
Vị trí axit amin 609 (ví dụ, H609Hfs*46) ²⁶
Vị trí axit amin 610 (ví dụ, I610Gfs*45 ⁹ , I610T ⁵⁷) ⁹
Vị trí axit amin 615 (ví dụ, H615R) ²⁶
Vị trí axit amin 616 (ví dụ, R616G ²⁸ , R616H ⁷³)
Vị trí axit amin 619 (ví dụ, T619A) ²⁸
Vị trí axit amin 623 (ví dụ, A623A) ²⁸
Vị trí axit amin 625 (ví dụ, T625Nfs*5) ²⁶
Vị trí axit amin 627 (ví dụ, I627T) ⁷
Vị trí axit amin 628 (ví dụ, G628Wfs*3) ⁷⁰
Vị trí axit amin 636 (ví dụ, E636G) ²
Vị trí axit amin 648 (ví dụ, G648Vfs*6 ⁵ , G648V ⁵⁰)
Vị trí axit amin 655 (ví dụ, T655I) ⁷
Vị trí axit amin 669 (ví dụ, I669V) ²⁶
Vị trí axit amin 676 (ví dụ, D676Y) ¹¹
Vị trí axit amin 677 (ví dụ, M677V) ^{7,13}
Vị trí axit amin 679 (ví dụ, A679V) ⁵⁸
Vị trí axit amin 685 (ví dụ, G685W) ⁶⁰
Vị trí axit amin 696 (ví dụ, R696W ²⁷ , R696Q ⁵⁸)
Vị trí axit amin 698 (ví dụ, R698H ^{7,9} , R698K ⁶¹ , R698C ⁸⁸)
Vị trí axit amin 699 (ví dụ, S699P) ⁹
Vị trí axit amin 701 (ví dụ, S701P) ⁵⁸
Vị trí axit amin 702 (ví dụ, Q702X) ⁸⁹
Vị trí axit amin 709 (ví dụ, E709K) ⁷
Vị trí axit amin 710 (ví dụ, P710P) ⁷
Vị trí axit amin 712 (ví dụ, L712L) ²⁸
Vị trí axit amin 721 (ví dụ, Y721C) ⁸⁸
Vị trí axit amin 729 (ví dụ, D724N) ³⁹
Vị trí axit amin 731 (ví dụ, P731S) ²³

Vị trí axit amin 740 (ví dụ, P740Qfs*6) ⁷³
Vị trí axit amin 758 (ví dụ, G758R) ⁵
Vị trí axit amin 766 (ví dụ, G766R) ^{5,24}
Vị trí axit amin 772 (ví dụ, Y772X) ⁵
Vị trí axit amin 804 (ví dụ, A804A) ⁷
Vị trí axit amin 806 (ví dụ, G806D ⁴⁴ , G806G ⁵⁵)
Vị trí axit amin 809 (ví dụ, S809F) ⁸¹
Vị trí axit amin 817 (ví dụ, G817G) ⁸⁸
Vị trí axit amin 818 (ví dụ, Y818F) ⁷
Vị trí axit amin 824 (ví dụ, G824E) ⁴²
Vị trí axit amin 825 (ví dụ, G825G) ⁷³
Vị trí axit amin 830 (ví dụ, R830Gfs*28) ⁷³
Vị trí axit amin 832 (ví dụ, R832C ^{7,26} , R832H ⁴¹)
Vị trí axit amin 842 (ví dụ, D842G) ²
Vị trí axit amin 848 (ví dụ, D848N) ⁷³
Vị trí axit amin 855 (ví dụ, G855R) ¹¹
Vị trí axit amin 859 (ví dụ, T859R) ^{5,7}
Vị trí axit amin 865 (ví dụ, A865V) ²⁷
Vị trí axit amin 866 (ví dụ, S866A) ⁵⁷
Vị trí axit amin 868 (ví dụ, V868D) ⁷³
Vị trí axit amin 869 (ví dụ, Q869P) ⁷³
Vị trí axit amin 875 (ví dụ, Q875X) ⁷³
Vị trí axit amin 877 (ví dụ, G877R) ⁵⁶
Vị trí axit amin 879 (ví dụ, I879R) ⁸⁸
Vị trí axit amin 893 (ví dụ, A893V) ⁵⁷
Vị trí axit amin 901 (ví dụ, S901R ¹⁷ , S901I ⁷³)
Vị trí axit amin 903 (ví dụ, V903G) ⁵⁷
Δ Vị trí axit amin 919 ¹²
Vị trí axit amin 923 (ví dụ, T923P) ^{2,7}
Vị trí axit amin 926 (ví dụ, A926P) ^{2,7}
Vị trí axit amin 928 (ví dụ, R928X ¹⁵ , R928Q ⁴⁰)

Vị trí axit amin 930 (ví dụ, K930X ⁵ , K930Efs*79 ^{5,10} , K930Efs*49 ²⁶)
Vị trí axit amin 931 (ví dụ, Q931P) ²⁷
Vị trí axit amin 945 (ví dụ, S945N) ⁵⁷
Vị trí axit amin 948 (ví dụ, R948C) ^{5,7,26}
Vị trí axit amin 958 (ví dụ, R958Q) ²⁸
Vị trí axit amin 969 (ví dụ, K969K) ⁸⁸
Δ Vị trí axit amins 969-972 ⁵
Vị trí axit amin 973 (ví dụ, T973I) ⁵⁷
Vị trí axit amin 976 (ví dụ, Q976R ⁵⁸ , Q976X ⁸⁸)
Vị trí axit amin 979 (ví dụ, N979D) ^{5,7}
Vị trí axit amin 981 (ví dụ, Y981Y) ²⁸
Vị trí axit amin 982 (ví dụ, G982R) ^{2,5,7}
Vị trí axit amins 444 và 982 (ví dụ, V444A+G982R) ³⁸
Vị trí axit amin 995 (ví dụ, A995A) ²⁸
Vị trí axit amin 1001 (ví dụ, R1001R) ⁹
Vị trí axit amin 1003 (ví dụ, G1003R) ²⁴
Vị trí axit amin 1004 (ví dụ, G1004D) ^{2,7}
Vị trí axit amin 1027 (ví dụ, S1027R) ²⁶
Vị trí axit amin 1028 (ví dụ, A1028A ^{7,10,88} , A1028E ⁸⁸)
Vị trí axit amin 1029 (ví dụ, T1029K) ⁵
Vị trí axit amin 1032 (ví dụ, G1032R) ¹²
Vị trí axit amin 1041 (ví dụ, Y1041X) ⁹
Vị trí axit amin 1044 (ví dụ, A1044P) ⁸⁸
Vị trí axit amin 1050 (ví dụ, R1050C) ^{2,7,57}
Vị trí axit amin 1053 (ví dụ, Q1053X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1055 (ví dụ, L1055P) ³⁶
Vị trí axit amin 1057 (ví dụ, R1057X ² , R1057Q ⁵⁸)
Vị trí axit amin 1058 (ví dụ, Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷ , Q1058X ⁷³)
Vị trí axit amin 1061 (ví dụ, I1061Vfs*34) ⁹
Vị trí axit amin 1083 (ví dụ, C1083Y) ⁴⁷
Vị trí axit amin 1086 (ví dụ, T1086T) ²⁸

Vị trí axit amin 1090 (ví dụ, R1090X) ^{2,5}
Vị trí axit amin 1099 (ví dụ, L1099Lfs*38) ²⁶
Vị trí axit amin 1100 (ví dụ, S1100Qfs*38) ¹³
Vị trí axit amin 1110 (ví dụ, A1110E) ^{5,7}
Vị trí axit amin 1112 (ví dụ, V1112F) ⁷⁰
Vị trí axit amin 1116 (ví dụ, G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
Vị trí axit amin 1120 (ví dụ, S1120N) ⁸⁸
Vị trí axit amin 1128 (ví dụ, R1128H ^{2,7} , R1128C ^{5,7,13})
Vị trí axit amin 1131 (ví dụ, D1131V) ²⁷
Vị trí axit amin 1144 (ví dụ, S1144R) ⁷
Vị trí axit amin 1147 (ví dụ, V1147X) ⁵
Vị trí axit amin 1153 (ví dụ, R1153C ^{2,5,7} , R1153H ⁵)
Vị trí axit amin 1154 (ví dụ, S1154P) ^{5,7}
Vị trí axit amin 1162 (ví dụ, E1162X) ³⁹
Δ Vị trí axit amin 1165 ⁸⁸
Vị trí axit amin 1164 (ví dụ, V1164Gfs*7)
Vị trí axit amin 1173 (ví dụ, N1173D) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1175 (ví dụ, K1175T) ⁵⁸
Vị trí axit amin 1186 (ví dụ, E1186K) ⁷
Vị trí axit amin 1192 (ví dụ, A1192Efs*50) ⁹
Vị trí axit amin 1196 (ví dụ, Q1196X) ⁸⁸
Vị trí axit amin 1197 (ví dụ, L1197G) ⁷
Vị trí axit amin 1198 (ví dụ, H1198R) ²⁷
Vị trí axit amin 1204 (ví dụ, L1204P) ⁸⁸
Vị trí axit amin 1208 (ví dụ Y1208C) ⁷³
Vị trí axit amin 1210 (ví dụ, T1210P ^{5,7} , T1210F ⁵⁷)
Vị trí axit amin 1211 (ví dụ, N1211D) ⁷
Vị trí axit amin 1212 (ví dụ, V1212F) ³⁶
Vị trí axit amin 1215 (ví dụ, Q1215X) ⁵
Vị trí axit amin 1221 (ví dụ, R1221K) ⁵³
Vị trí axit amin 1223 (ví dụ, E1223D) ⁷

Vị trí axit amin 1226 (ví dụ, R1226P) ⁷³
Vị trí axit amin 1228 (ví dụ, A1228V) ⁷
Vị trí axit amin 1231 (ví dụ, R1231W ^{5,7} , R1231Q ^{5,7})
Vị trí axit amin 1232 (ví dụ, A1232D) ¹⁷
Vị trí axit amin 1235 (ví dụ, R1235X) ^{5,12}
Vị trí axit amin 1242 (ví dụ, L1242I) ^{5,7}
Vị trí axit amin 1243 (ví dụ, D1243G) ⁶⁷
Vị trí axit amin 1249 (ví dụ, L1249X) ⁷³
Vị trí axit amin 1256 (ví dụ, T1256fs*1296) ⁸³
Vị trí axit amin 1268 (ví dụ, R1268Q) ^{2,7}
Vị trí axit amin 1276 (ví dụ, R1276H) ³⁰
Vị trí axit amin 1283 (ví dụ, A1283A ²⁸ , A1283V ⁸⁸)
Vị trí axit amin 1292 (ví dụ, G1292V) ⁷³
Vị trí axit amin 1298 (ví dụ, G1298R) ⁵
Vị trí axit amin 1302 (ví dụ, E1302X) ⁵
Vị trí axit amin 1311 (ví dụ, Y1311X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1316 (ví dụ, T1316Lfs*64) ¹⁵
Vị trí axit amin 1321 (ví dụ, S1321N) ⁵⁷
Intron 4 ((+3)A>C) ¹
IVS4-74A>T ⁸⁹
Đột biến ở vị trí cắt 3' Intron 5 c.3901G>A ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 5; Intron 7 c.6111G>A ⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS7+1G>A ¹⁴
IVS7+5G>A ⁴⁰
IVS8+1G>C ⁷⁶
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 9 c.9081delG ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 9 c.9081G>T ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 9 c.9081G>A ⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS9+1G>T ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt 3' Intron 13 c.143513_1435-8del ⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS13del-13 ⁻⁸ ¹⁴

Đột biến ở vị trí cắt 3' Intron 16 c.20128T>G ⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS16-8T>G ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 18 c.21781G>T ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 18 c.21781G>A ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 18 c.21781G>C ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 3' Intron 18 c.21792A>G ⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS18+1G>A ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 19 c.2343+1G>T ⁵
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 19 c.2343+2T>C ⁵
Đột biến ở vị trí cắt IVS19+2T>C ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt IVS19+1G>A ²²
Đột biến ở vị trí cắt 3' Intron 21 c.26112A>T ⁵
IVS22+3A>G ⁸⁹
IVS 23-8 G-A ³⁶
IVS24+5G>A ⁵¹
Đột biến ở vị trí cắt 5' Intron 24 c.32131delG ⁵
IVS35-6C>G ⁸⁹
Đột biến cắt giả định 1198-1G>C ¹⁷
Đột biến cắt giả định 1810-3C>G ¹⁷
Đột biến cắt giả định 2178+1G>A ¹⁷
Đột biến cắt giả định 2344-1G>T ¹⁷
Đột biến cắt giả định c.2611-2A>T ³⁹
Đột biến cắt giả định 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
xóa bỏ ⁹⁰ 1145 1bp
1281C>T ^{54,57}
c.1309-165C > T ¹⁹
c.1434 + 174G > A ¹⁹
c.1434 + 70C > T ¹⁹
c.1530C>A ⁵⁷
c.1587-1589delCTT ³¹
c.1621A>C ^{33,59}
c.1638+32T>C ⁶⁶
c.1638+80C>T ⁶⁶

1671C>T ⁵⁴
1791G>T ⁵⁴
1939delA ¹⁴
c.2075+3A>G ⁵³
c.2081T>A ³¹
c.2093G>A ⁶⁵
2098delA ¹⁶
c.2138-8T>G ⁶⁷
2142A>G ⁵⁴
c.2178+1G>T ^{36,39}
c.2179-17C>A ⁶⁶
c.2344-157T>G ⁶⁶
c.2344-17T>C ⁶⁶
c.2417G>A ⁷⁸
c.2541delG ⁸⁷
c.2620C>T ^{32,33}
c.2815-8A>G ⁵⁵
c.3003A>G ³⁷
c.3084A>G ^{48,54}
c.3213 +4 A>G ^{9,37}
c.3213 +5 G>A ⁹
c.3268C>T ⁷⁵
3285A>G ⁵⁴
c.3382C>T ⁷⁵
3435A>G ⁵⁴
c.3491delT ⁷²
c.3589C>T ⁵⁷
c.3765(+1 +5)del5 ⁴²
c.3766-34A>G ⁶⁶
c.3767-3768insC ⁶
c.3770delA ⁶⁷

c.3826C>T ⁷²
c.3846C>T ⁵⁷
c.3929delG ⁶⁷
c.*236A>G ⁶⁶
1145delC ⁸
Ex13_Ex17del ⁸²

Bảng 5. Đột biến ABCB11 được chọn liên quan đến PFIC-2

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

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

Vị trí axit amin 454 (ví dụ, V454X) ⁴⁹
Vị trí axit amin 455 (ví dụ, G455E) ⁹
Vị trí axit amin 461 (ví dụ, K461E) ^{2,7}
Vị trí axit amin 463 (ví dụ, T463I) ⁷
Vị trí axit amin 466 (ví dụ, Q466K) ⁷
Vị trí axit amin 470 (ví dụ, R470Q ⁷ , R470X ⁹)
Vị trí axit amin 472 (ví dụ, Y472X ¹⁴ , Y472C ²⁷)
Vị trí axit amin 475 (ví dụ, C475X) ²⁹
Vị trí axit amin 481 (ví dụ, V481E) ⁷
Vị trí axit amin 482 (ví dụ, D482G) ^{2,7}
Vị trí axit amin 484 (ví dụ, H484Rfs*5) ⁹
Vị trí axit amin 487 (ví dụ, R487H ² , R487P ⁸⁴)
Vị trí axit amin 490 (ví dụ, N490D) ⁷
Vị trí axit amin 493 (ví dụ, W493X) ⁸
Vị trí axit amin 498 (ví dụ, I498T) ⁷
Vị trí axit amin 501 (ví dụ, V501G) ⁶⁸
Vị trí axit amin 512 (ví dụ, I512T) ⁷
Vị trí axit amin 515 (ví dụ, N515T ⁷ , N515D ⁶⁴)
Vị trí axit amin 516 (ví dụ, I516M) ¹⁷
Vị trí axit amin 517 (ví dụ, R517H) ⁷
Vị trí axit amin 520 (ví dụ, R520X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 523 (ví dụ, A523G) ¹³
Vị trí axit amin 528 (ví dụ, I528X) ⁹
Vị trí axit amin 540 (ví dụ, F540L) ⁴⁶
Vị trí axit amin 541 (ví dụ, I541L ⁷ , I541T ¹⁷)
Vị trí axit amin 548 (ví dụ, F548Y) ⁷
Vị trí axit amin 549 (ví dụ, D549V) ⁹
Vị trí axit amin 554 (ví dụ, E554K) ²¹
Vị trí axit amin 559 (ví dụ, M559T) ⁵⁷
Vị trí axit amin 562 (ví dụ, G562D) ⁷
Vị trí axit amin 570 (ví dụ, A570T ⁷ , A570V ²⁶)

Vị trí axit amin 575 (ví dụ, R575X ² , R575Q ²¹)
Vị trí axit amin 588 (ví dụ, A588V) ⁷
Vị trí axit amin 591 (ví dụ, N591S) ^{9,17}
Vị trí axit amin 593 (ví dụ, S593R) ^{2,7}
Vị trí axit amin 597 (ví dụ, V597V ⁹ , V597L ¹³)
Vị trí axit amins 591 và 597 (ví dụ, N591S+V597V) ⁹
Vị trí axit amin 603 (ví dụ, K603K) ⁵⁵
Vị trí axit amin 609 (ví dụ, H609Hfs*46) ²⁶
Vị trí axit amin 610 (ví dụ, I610Gfs*45) ⁹
Vị trí axit amin 615 (ví dụ, H615R) ²⁶
Vị trí axit amin 625 (ví dụ, T625Nfs*5) ²⁶
Vị trí axit amin 627 (ví dụ, I627T) ⁷
Vị trí axit amin 636 (ví dụ, E636G) ²
Vị trí axit amin 669 (ví dụ, I669V) ²⁶
Vị trí axit amin 698 (ví dụ, R609H) ⁹
Vị trí axit amins 112 và 698 (ví dụ, I112T+R698H) ⁹
Vị trí axit amin 699 (ví dụ, S699P) ⁹
Vị trí axit amin 766 (ví dụ, G766R) ²⁴
Vị trí axit amin 806 (ví dụ, G806G) ⁵⁵
Vị trí axit amin 824 (ví dụ, G824E) ⁴²
Vị trí axit amin 832 (ví dụ, R832C ^{7,26} , R832H ⁴¹)
Vị trí axit amin 842 (ví dụ, D842G) ²
Vị trí axit amin 859 (ví dụ, T859R) ⁷
Vị trí axit amin 865 (ví dụ, A865V) ⁴⁵
Vị trí axit amin 877 (ví dụ, G877R) ⁵⁶
Vị trí axit amin 893 (ví dụ, A893V) ⁵⁷
Vị trí axit amin 901 (ví dụ, S901R) ¹⁷
Vị trí axit amin 903 (ví dụ, V903G) ⁵⁷
Δ Vị trí axit amin 919 ¹²
Vị trí axit amin 928 (ví dụ, R928X) ^{15,21}
Vị trí axit amin 930 (ví dụ, K930Efs*79 ¹⁰ , K930Efs*49 ²⁶)

Vị trí axit amin 948 (ví dụ, R948C) ^{7,26}
Vị trí axit amin 979 (ví dụ, N979D) ⁷
Vị trí axit amin 982 (ví dụ, G982R) ^{2,7}
Vị trí axit amins 444 và 982 (ví dụ, V444A+G982R) ³⁸
Vị trí axit amin 1001 (ví dụ, R1001R) ⁹
Vị trí axit amin 1003 (ví dụ, G1003R) ²⁴
Vị trí axit amin 1004 (ví dụ, G1004D) ^{2,7}
Vị trí axit amin 1027 (ví dụ, S1027R) ²⁶
Vị trí axit amin 1028 (ví dụ, A1028A) ¹⁰
Vị trí axit amin 1032 (ví dụ, G1032R) ¹²
Vị trí axit amin 1041 (ví dụ, Y1041X) ⁹
Vị trí axit amin 1050 (ví dụ, R1050C) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1053 (ví dụ, Q1053X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1055 (ví dụ, L1055P) ³⁶
Vị trí axit amin 1057 (ví dụ, R1057X) ²
Vị trí axit amin 1058 (ví dụ, Q1058Hfs*38 ⁹ , Q1058fs*38 ¹⁷)
Vị trí axit amin 1061 (ví dụ, I1061Vfs*34) ⁹
Vị trí axit amin 1083 (ví dụ, C1083Y) ⁴⁷
Vị trí axit amin 1090 (ví dụ, R1090X) ²
Vị trí axit amin 1099 (ví dụ, L1099Lfs*38) ²⁶
Vị trí axit amin 1100 (ví dụ, S1100Qfs*38) ¹³
Vị trí axit amin 1110 (ví dụ, A1110E) ⁷
Vị trí axit amin 1116 (ví dụ, G1116R ⁷ , G1116F ^{9,17} , G1116E ³⁶)
Vị trí axit amin 1128 (ví dụ, R1128C) ^{7,13}
Vị trí axit amin 1131 (ví dụ, D1131V) ²⁷
Vị trí axit amin 1144 (ví dụ, S1144R) ⁷
Vị trí axit amin 1153 (ví dụ, R1153C ^{2,7} , R1153H ^{7,26})
Vị trí axit amin 1154 (ví dụ, S1154P) ⁷
Vị trí axit amin 1173 (ví dụ, N1173D) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1192 (ví dụ, A1192Efs*50) ⁹
Vị trí axit amin 1198 (ví dụ, H1198R) ²⁷

Vị trí axit amin 1210 (ví dụ, T1210P ⁷ , T1210F ⁵⁷)
Vị trí axit amin 1211 (ví dụ, N1211D) ⁷
Vị trí axit amin 1212 (ví dụ, V1212F) ³⁶
Vị trí axit amin 1231 (ví dụ, R1231W ⁷ , R1223Q ⁷)
Vị trí axit amin 1232 (ví dụ, A1232D) ¹⁷
Vị trí axit amin 1235 (ví dụ, R1235X) ¹²
Vị trí axit amin 1242 (ví dụ, L1242I) ⁷
Vị trí axit amin 1256 (ví dụ, T1256fs*1296) ⁸³
Vị trí axit amin 1268 (ví dụ, R1268Q) ^{2,7}
Vị trí axit amin 1302 (ví dụ E1302X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1311 (ví dụ, Y1311X) ⁵⁷
Vị trí axit amin 1316 (ví dụ, T1316Lfs*64) ¹⁵
Intron 4 ((+3)A>C) ¹
Đột biến ở vị trí cắt IVS7+1G>A ¹⁴
IVS8+1G>C ⁷⁶
Đột biến ở vị trí cắt IVS9+1G>T ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt IVS13del-13 ⁻⁸ ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt IVS16-8T>G ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt IVS18+1G>A ¹⁴
Đột biến ở vị trí cắt IVS19+2T>C ¹⁴
IVS 23-8 G-A ³⁶
IVS24+5G>A ⁵¹
Đột biến cắt giả định 1198-1G>C ¹⁷
Đột biến cắt giả định 1810-3C>G ¹⁷
Đột biến cắt giả định 2178+1G>A ¹⁷
Đột biến cắt giả định 2344-1G>T ¹⁷
Đột biến cắt giả định 3213+1_3213+2delinsA ¹⁷
c.-24C>A ⁷⁸
c.76 13 G>T ⁹
c.77-19T>A ⁵²
c.90_93delGAAA ¹⁸

c.124G>A ⁶⁹
c.150 +3 A>C ¹⁰
c.249_250insT ¹⁸
c.611+1G>A ⁸⁴
c.611+4A>G ³⁶
c.612-15_-6del110bp 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
xóa bỏ ⁹¹ 1273 1bp
c.1084-2A>G ⁵⁷
c.1445A>G ⁵⁹
c.1587-1589delCTT ³¹
c.1621A>C ⁵⁹
1939delA ¹⁴
c.2081T>A ³¹
2098delA ¹⁶
c.2343+1 G>T ⁸⁰
c.2178+1G>T ³⁶
c.2417G>A ⁷⁸
c.2620C>T ³²
c.2815-8A>G ⁵⁵
c.3003A>G ³⁷
c.3213 +4 A>G ^{9,37}
c.3213 +5 G>A ⁹
c.3268C>T ⁷⁵

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

^A Đột biến ở 'X' biểu thị codon dừng sớm

Tài liệu tham khảo được trích dẫn trong Bảng 4 và 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

- ⁵⁰ Sattler et al., Journal of Hepatology 2017, vol. 66, No. 1, Suppl. S, pp. S177. Meeting Info.: International Liver Congress / 52nd Annual Meeting 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.
- 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.
- 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 the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, ESPGHAN 2016. Athens, Greece. 25 May 2016-28 May 2016.
- ⁶¹ Pauli-Magnus et al., Hepatology 2003, vol. 38, No. 4 Suppl. 1, pp. 518A. print. Meeting Info.: 54th Annual Meeting the American Association for the Study of Liver Disease. Boston, MA, USA. October 24-28, 2003. American Association for the Study of Liver Disease.
- 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.
- 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.
- 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, Supp. SUPPL. 2, pp. 76. Abstract Number: P62. Meeting Info: 1st Congress of the Turkic World Transplantation Society. Astana, Kazakhstan. 20 May 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.
- 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.
- ⁷⁶ Sharma et al., *Indian Journal of Gastroenterology* 2017, vol. 36, No. 1, Supp. 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.
- 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.
- 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 the American-Gastroenterological-Association. Washington, DC, USA. May 19 -24, 2007. Amer Gastroenterol Assoc; Amer Assoc Study Liver Dis; Amer Soc Gastrointestinal 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 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.
- 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 U.S. Patent No. 9,295,677

Theo một số phương án, đột biến ở ABCB11 được chọn từ A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C, và R1268Q.

Sáng chế cũng mô tả các phương pháp điều trị PFIC (ví dụ, PFIC-1 và PFIC-2) ở đối tượng, bao gồm việc tiến hành thử nghiệm trên mẫu thu được từ đối tượng này để xác định đột biến liên quan đến PFIC (ví dụ, đột biến ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 hoặc Myo5b) ở đối tượng này, và đưa (ví dụ, theo cách cụ thể hoặc có chọn lọc) lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, vào đối tượng đã được xác định là có đột biến liên quan đến PFIC này. Theo một số phương án, đột biến này là đột biến ATP8B1 hoặc ABCB11. Ví dụ, đột biến như được

đề cập trong Bảng bất kỳ trong số các Bảng 1-4. Theo một số phương án, đột biến ở ATP8B1 được chọn từ L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, và G1040R. Theo một số phương án, đột biến ở ABCB11 được chọn từ A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C, và R1268Q.

Sáng chế còn mô tả các phương pháp để điều trị PFIC (ví dụ, PFIC-1 và PFIC-2) ở đối tượng cần điều trị, phương pháp này bao gồm: (a) việc phát hiện đột biến liên quan đến PFIC (ví dụ, đột biến ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 hoặc Myo5b) ở đối tượng; và (b) đưa vào đối tượng này lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng. Theo một số phương án, các phương pháp để điều trị PFIC có thể bao gồm việc đưa lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, vào đối tượng có đột biến liên quan đến PFIC (ví dụ, đột biến ATP8B1, ABCB11, ABCB4, TJP2, NR1H4 hoặc Myo5b). Theo một số phương án, đột biến này là đột biến ATP8B1 hoặc ABCB11. Ví dụ, đột biến như được đề cập trong Bảng bất kỳ trong số các Bảng 1-4. Theo một số phương án, đột biến ở ATP8B1 được chọn từ L127P, G308V, T456M, D554N, F529del, I661T, E665X, R930X, R952X, R1014X, và G1040R. Theo một số phương án, đột biến ở ABCB11 được chọn từ A167T, G238V, V284L, E297G, R470Q, R470X, D482G, R487H, A570T, N591S, A865V, G982R, R1153C, và R1268Q.

Theo một số phương án, đối tượng được xác định là có đột biến liên quan đến PFIC hoặc mẫu sinh thiết từ đối tượng này qua việc sử dụng thử nghiệm đã biết bất kỳ, kể cả công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới (NGS). Theo một số phương án, đối tượng được xác định là có đột biến liên quan đến PFIC bằng cách sử dụng xét nghiệm hoặc thử nghiệm đã được cơ quan quản lý phê duyệt, ví dụ như đã được FDA phê duyệt, để nhận diện đột biến liên quan đến PFIC ở đối tượng hoặc mẫu sinh thiết từ đối tượng này hoặc bằng cách thực hiện thử nghiệm bất kỳ trong số các thử nghiệm được mô tả trong phần Ví dụ không mang tính giới hạn dưới đây. Các phương pháp chẩn đoán PFIC bổ sung được mô tả trong tài liệu Gunaydin, M. et al., *Hepat Med.* 2018, vol. 10, p. 95-104, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Theo một số phương án, việc điều trị PFIC (ví dụ, PFIC-1 hoặc PFIC-2) làm giảm nồng độ axit mật trong huyết thanh ở đối tượng. Theo một số phương án, nồng độ

axit mật trong huyết thanh được xác định bằng, ví dụ, thử nghiệm enzym ELISA hoặc các thử nghiệm để xác định tổng lượng các axit mật như được mô tả trong Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo một số phương án, nồng độ axit mật trong huyết thanh có thể giảm, ví dụ, từ 10% tới 40%, từ 20% tới 50%, 30% tới 60%, 40% tới 70%, 50% tới 80%, hoặc nhiều hơn 90% so với nồng độ axit mật trong huyết thanh trước khi tiếp nhận hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, việc điều trị PFIC gồm cả điều trị bệnh ngứa.

Do LBAT được biểu hiện trên các tế bào gan, các chất ức chế LBAT và các chất ức chế kép ASBT/LBAT cần phải có ít nhất một mức sinh khả dụng nhất định và một phần tự do trong máu. Do các hợp chất ức chế LBAT chỉ cần tồn tại từ ruột non tới gan, nên dự kiến rằng sự tiếp xúc toàn thân tương đối thấp của các hợp chất như vậy sẽ là đủ, nhờ đó giảm thiểu nguy cơ tiềm ẩn xuất hiện tác dụng phụ bất kỳ trong phần còn lại của cơ thể. Dự kiến rằng việc ức chế LBAT và ASBT sẽ có ít nhất là các tác dụng phụ trong việc làm giảm nồng độ axit mật trong gan. Cũng dự kiến rằng chất ức chế kép ASBT/LBAT có thể làm giảm nồng độ axit mật mà không gây tiêu chảy, như đôi khi quan sát thấy với các chất ức chế ASBT.

Các hợp chất có hiệu lực ức chế LBAT cao và đủ độ sinh khả dụng được cho là đặc biệt thích hợp để điều trị bệnh viêm gan. Các hợp chất có hiệu lực ức chế ASBT/LBAT kép và đủ độ sinh khả dụng được cho là đặc biệt thích hợp để điều trị viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH).

NASH là bệnh gan mãn tính phổ biến và nghiêm trọng giống như bệnh gan do rượu, nhưng xảy ra ở những người uống ít rượu hoặc không uống rượu. Ở các bệnh nhân mắc NASH, sự tích tụ chất béo trong gan, được gọi là bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD) hoặc gan nhiễm mỡ, và các yếu tố khác như cholesterol LDL cao và tình trạng kháng insulin gây viêm mãn tính ở gan có thể dẫn đến sẹo mô tiến triển, được gọi là xơ hóa, và xơ gan, sau đó là suy gan và tử vong. Ở các bệnh nhân mắc NASH thấy có tổng nồng độ axit mật trong huyết thanh cao hơn đáng kể so với ở các đối tượng khỏe mạnh trong điều kiện nhịn ăn (tăng từ 2,2 tới 2,4 lần ở các bệnh nhân mắc NASH) và tại tất cả các thời điểm sau bữa ăn (tăng từ 1,7 tới 2,2 lần ở các bệnh nhân mắc NASH). Chúng được thúc đẩy bởi sự tăng các axit mật sơ cấp và thứ cấp tiếp hợp với taurin và

glyxin. Các bệnh nhân mắc NASH có độ biến thiên lớn hơn về đặc tính axit mật trong điều kiện nhịn ăn và sau bữa ăn. Các kết quả này cho thấy rằng các bệnh nhân mắc NASH trong điều kiện nhịn ăn và sau bữa ăn có mức độ tiếp xúc cao hơn với các axit mật, gồm cả các loại kỵ nước hơn và gây độc tế bào thứ cấp hơn. Mức độ tiếp xúc cao hơn với các axit mật này có thể liên quan tới tổn thương gan và sinh bệnh học của NAFLD và NASH (Ferslew et al., *Dig Dis Sci.* 2015, vol. 60, p. 3318–3328). Do đó, có khả năng là việc ức chế ASBT và/hoặc LBAT sẽ có lợi cho việc điều trị NASH.

NAFLD đặc trưng bởi tình trạng gan nhiễm mỡ mà không có nguyên nhân thứ phát của bệnh gan nhiễm mỡ như tiêu thụ rượu quá mức, các bệnh gan đã biết khác, hoặc sử dụng lâu dài thuốc tạo mỡ (Chalasani et al., *Hepatology* 2018, vol. 67(1), p. 328-357). NAFLD có thể được phân loại thành bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFL) và viêm gan nhiễm mỡ không do rượu (NASH). Theo Chalasani et al., NAFL được định nghĩa là sự có mặt của $\geq 5\%$ chứng nhiễm mỡ gan mà không có bằng chứng về tổn thương tế bào gan dưới dạng phồng to dạng bóng. NASH được định nghĩa là sự có mặt của $\geq 5\%$ chứng nhiễm mỡ gan và tình trạng viêm với tổn thương tế bào gan (ví dụ, phồng to dạng bóng), có hoặc không có bất kỳ xơ hóa gan nào. NASH cũng thường liên quan tới viêm gan và xơ hóa gan, có thể tiến triển thành xơ gan, bệnh gan giai đoạn cuối, và ung thư biểu mô tế bào gan. Trong khi xơ hóa gan không phải lúc nào cũng có mặt trong NASH, mức độ nghiêm trọng của xơ hóa, khi có mặt, có thể liên quan đến hậu quả lâu dài.

Có nhiều phương pháp tiếp cận được sử dụng để ước định và đánh giá xem một đối tượng có NAFLD hay không, và nếu có thì mức độ nghiêm trọng của bệnh thể nào, gồm cả việc phân biệt NAFLD này là dạng NAFL hay NASH. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của NAFLD có thể được đánh giá bằng cách dùng NAS. Theo một số phương án, việc điều trị NAFLD có thể được đánh giá bằng cách dùng NAS. Theo một số phương án, NAS có thể được xác định như được mô tả trong tài liệu Kleiner et al., *Hepatology*. 2005, 41(6):1313-1321, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Xem, ví dụ, lược đồ NAS đã đơn giản hóa theo tài liệu Kleiner trong Bảng 6.

Bảng 6. Ví dụ về điểm số đánh giá hoạt tính NAFLD (NAS) ở giai đoạn xơ hóa

Đặc điểm	Mức độ	Điểm số
Gan nhiễm mỡ	<5%	0
	5-33%	1
	>33-66%	2
	>66%	3
Viêm tiểu thùy	Không có vùng viêm	0
	<2 vùng viêm/200x	1
	2-4 vùng viêm/200x	2
	>4 vùng viêm/200x	3
Thoái hóa phòng to dạng bóng	Không	0
	Ít	1
	Phòng to dạng bóng nhiều tế bào/rõ rệt	2
Xơ hóa	Không	0
	Xoang gan hoặc quanh tĩnh mạch cửa	1
	Xoang gan & tĩnh mạch cửa/quanh tĩnh mạch cửa	2
	Xơ hóa bắc cầu	3
	Xơ gan	4

Theo một số phương án, NAS được xác định theo cách không xâm lấn, ví dụ như cách được mô tả trong công bố đơn sáng chế Mỹ số 2018/0140219, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo một số phương án, NAS được xác định trên mẫu thử lấy từ đối tượng trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, NAS được xác định trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, điểm số NAS thấp hơn trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng cho thấy có sự điều trị NAFLD (ví dụ, NASH). Ví dụ, điểm số NAS giảm 1, 2, 3, 4, 5, 6, hoặc 7

điểm cho thấy có sự điều trị NAFLD (ví dụ, NASH). Theo một số phương án, điểm số NAS sau khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là 7 hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, điểm số NAS trong khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là 5 hoặc thấp hơn, 4 hoặc thấp hơn, 3 hoặc thấp hơn, hoặc 2 hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, điểm số NAS trong khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là 7 hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, điểm số NAS trong khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là 5 hoặc thấp hơn, 4 hoặc thấp hơn, 3 hoặc thấp hơn, hoặc 2 hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, điểm số NAS sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là 7 hoặc thấp hơn. Theo một số phương án, điểm số NAS sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là 5 hoặc thấp hơn, 4 hoặc thấp hơn, 3 hoặc thấp hơn, hoặc 2 hoặc thấp hơn.

Các phương pháp tiếp cận bổ sung để ước định và đánh giá NASH ở đối tượng gồm xác định một hoặc nhiều chứng nhiễm mỡ ở gan (ví dụ, sự tích tụ mỡ trong gan); viêm gan; dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm gan, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan (ví dụ, dấu ấn huyết thanh và bộ mẫu huyết thanh). Các ví dụ tiếp theo về chỉ số sinh lý của NASH có thể gồm hình thái học gan, độ cứng của gan, và kích thước hoặc khối lượng của gan của đối tượng.

Theo một số phương án, NASH ở đối tượng được chứng minh bằng sự tích tụ của mỡ gan và sự phát hiện thấy dấu ấn sinh học là chỉ dấu của tổn thương gan. Ví dụ, huyết thanh ferritin cao và hiệu giá thấp của các tự kháng thể trong huyết thanh có thể là những đặc điểm chung của NASH.

Theo một số phương án, các phương pháp để đánh giá NASH gồm chụp cộng hưởng từ, bằng quang phổ hoặc bằng tỷ lệ mật độ proton mỡ (MRI-PDFF) để định lượng gan nhiễm mỡ, độ đàn hồi thoáng qua (FIBROSCAN®), gradien áp suất tĩnh mạch gan (HPVG), đo độ cứng gan bằng MRE để chẩn đoán xơ hóa gan và/hoặc xơ gan đáng kể, và đánh giá các đặc điểm mô học của sinh thiết gan. Theo một số phương án, chụp cộng hưởng từ được dùng để phát hiện một hoặc nhiều bệnh viêm gan nhiễm mỡ (NASH-MRI), xơ hóa gan (Fibro-MRI), và gan nhiễm mỡ. Tham khảo, ví dụ, các công bố đơn

sáng chế Mỹ số 2016/146715 và 2005/0215882, được đưa vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Theo một số phương án, việc điều trị NASH có thể bao gồm việc làm giảm một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến NASH; giảm lượng gan nhiễm mỡ; giảm điểm số NAS; giảm viêm gan; giảm nồng độ dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan; và giảm xơ hóa và/hoặc xơ gan, không còn sự tiến triển tiếp của xơ hóa và/hoặc xơ gan, hoặc làm chậm sự tiến triển của xơ hóa và/hoặc xơ gan ở đối tượng sau khi cho dùng một hoặc nhiều liều của hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng.

Theo một số phương án, việc điều trị NASH bao gồm việc làm giảm một hoặc nhiều triệu chứng liên quan đến NASH ở đối tượng. Các triệu chứng điển hình có thể bao gồm một hoặc nhiều chứng gan to, mệt mỏi, đau ở bụng trên bên phải, sưng bụng, mạch máu mở rộng ngay dưới bề mặt da, vú to ở nam giới, lá lách to, lòng bàn tay đỏ, vàng da và ngứa. Theo một số phương án, đối tượng không có triệu chứng. Theo một số phương án, thể trọng của đối tượng không tăng. Theo một số phương án, thể trọng của đối tượng giảm. Theo một số phương án, chỉ số khối cơ thể (BMI) của đối tượng không tăng. Theo một số phương án, chỉ số khối cơ thể (BMI) của đối tượng giảm. Theo một số phương án, tỷ lệ eo và hông (WTH) của đối tượng không tăng. Theo một số phương án, tỷ lệ eo và hông (WTH) của đối tượng giảm.

Theo một số phương án, việc điều trị NASH có thể được đánh giá bằng cách đo gan nhiễm mỡ. Theo một số phương án, việc điều trị NASH bao gồm việc làm giảm gan nhiễm mỡ sau khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, như đã mô tả trên đây. Theo một số phương án, gan nhiễm mỡ được xác định bằng một hoặc nhiều phương pháp được chọn từ nhóm gồm siêu âm, chụp cắt lớp vi tính (CT), chụp cộng hưởng từ, quang phổ cộng hưởng từ (MRS), cộng hưởng từ đàn hồi (MRE), độ đàn hồi thoáng qua (TE) (ví dụ, FIBROSCAN®), đo kích thước hoặc khối lượng gan, hoặc bằng cách sinh thiết gan (tham khảo, ví dụ, 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; và de Lédinghen V, et al., *J Gastroenterol Hepatol.* 2016, vol. 31(4), p. 848-855, được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ). Đối tượng được chẩn đoán mắc NASH có thể có nhiều

hơn khoảng 5% gan nhiễm mỡ, ví dụ, nhiều hơn khoảng 5% tới khoảng 25%, khoảng 25% tới khoảng 45%, khoảng 45% tới khoảng 65%, hoặc nhiều hơn khoảng 65% gan nhiễm mỡ. Theo một số phương án, đối tượng với nhiều hơn khoảng 5% tới khoảng 33% gan nhiễm mỡ có gan nhiễm mỡ giai đoạn 1, đối tượng với khoảng 33% tới khoảng 66% gan nhiễm mỡ có gan nhiễm mỡ giai đoạn 2, và đối tượng với nhiều hơn khoảng 66% gan nhiễm mỡ có gan nhiễm mỡ giai đoạn 3.

Theo một số phương án, lượng gan nhiễm mỡ được xác định trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, lượng gan nhiễm mỡ được xác định trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, sự giảm lượng gan nhiễm mỡ trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho thấy có sự điều trị NASH. Ví dụ, sự giảm lượng gan nhiễm mỡ khoảng 1% tới khoảng 50%, khoảng 25% tới khoảng 75%, hoặc khoảng 50% tới khoảng 100% cho thấy có sự điều trị NASH. Theo một số phương án, sự giảm lượng gan nhiễm mỡ khoảng 5%, khoảng 10%, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%, khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%, khoảng 70%, khoảng 75%, khoảng 80%, khoảng 85%, khoảng 90%, hoặc khoảng 95% cho thấy có sự điều trị NASH.

Theo một số phương án, sự có mặt của viêm gan được xác định bằng một hoặc nhiều phương pháp được chọn từ nhóm gồm dấu ấn sinh học là chỉ dấu của viêm gan và sinh thiết các mẫu gan từ đối tượng. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của viêm gan được xác định bằng cách sinh thiết các mẫu gan lấy từ đối tượng này. Ví dụ, mức độ viêm gan trong mẫu sinh thiết gan có thể được đánh giá như được mô tả trong tài liệu Kleiner et al., *Hepatology* 2005, vol. 41(6), p. 1313-1321 và Brunt et al., *Am J Gastroenterol* 1999, vol. 94, p. 2467-2474, được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của viêm gan được xác định trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của viêm gan được xác định trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, sự giảm về mức độ nghiêm trọng của viêm gan

trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho thấy có sự điều trị NASH. Ví dụ, sự giảm về mức độ nghiêm trọng của viêm gan khoảng 1% tới khoảng 50%, khoảng 25% tới khoảng 75%, hoặc khoảng 50% tới khoảng 100% cho thấy có sự điều trị NASH. Theo một số phương án, sự giảm về mức độ nghiêm trọng của viêm gan khoảng 5%, khoảng 10%, khoảng 15%, khoảng 20%, khoảng 25%, khoảng 30%, khoảng 35%, khoảng 40%, khoảng 45%, khoảng 50%, khoảng 55%, khoảng 60%, khoảng 65%, khoảng 70%, khoảng 75%, khoảng 80%, khoảng 85%, khoảng 90%, hoặc khoảng 95% cho thấy có sự điều trị NASH.

Theo một số phương án, việc điều trị NASH bao gồm việc điều trị xơ hóa và/hoặc xơ gan, ví dụ, làm giảm mức độ nghiêm trọng của xơ hóa, không còn sự tiến triển tiếp của xơ hóa và/hoặc xơ gan, hoặc làm chậm sự tiến triển của xơ hóa và/hoặc xơ gan. Theo một số phương án, sự có mặt của xơ hóa và/hoặc xơ gan được xác định bằng một hoặc nhiều phương pháp được chọn từ nhóm gồm độ đàn hồi thoáng qua (ví dụ, FIBROSCAN®), chỉ dấu không xâm lấn của xơ gan, và các đặc điểm mô học của sinh thiết gan. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng (ví dụ, giai đoạn) của xơ hóa được xác định bằng một hoặc nhiều phương pháp được chọn từ nhóm gồm độ đàn hồi thoáng qua (ví dụ, FIBROSCAN®), hệ chấm điểm xơ hóa, chỉ dấu sinh học của xơ gan (ví dụ, chỉ dấu sinh học không xâm lấn), và gradien áp suất tĩnh mạch gan (HVPG). Các ví dụ không mang tính giới hạn của hệ chấm điểm xơ hóa gồm hệ chấm điểm xơ hóa NAFLD (tham khảo, ví dụ, Angulo et al., *Hepatology* 2007, vol. 45(4), p. 846-54), hệ chấm điểm xơ hóa trong Brunt et al., *Am. J. Gastroenterol.* 1999, vol. 94, p. 2467-2474, hệ chấm điểm xơ hóa trong Kleiner et al., *Hepatology* 2005, vol. 41(6), p. 1313-1321, và hệ chấm điểm xơ hóa ISHAK (tham khảo Ishak et al., *J. Hepatol.* 1995, vol. 22, p. 696-699), nội dung của chúng được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của xơ hóa được xác định trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của xơ hóa được xác định trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, sự giảm về mức độ nghiêm trọng của xơ hóa trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc

muối được dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, cho thấy có sự điều trị NASH. Theo một số phương án, sự giảm về mức độ nghiêm trọng của xơ hóa, không còn sự tiến triển tiếp của xơ hóa và/hoặc xơ gan, hoặc làm chậm sự tiến triển của xơ hóa và/hoặc xơ gan cho thấy có sự điều trị NASH. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của xơ hóa được xác định bằng cách sử dụng hệ chấm điểm như hệ bất kỳ trong số các hệ chấm điểm xơ hóa được mô tả ở đây, ví dụ, điểm số có thể chỉ ra giai đoạn của xơ hóa, ví dụ, giai đoạn 0 (không xơ hóa), giai đoạn 1, giai đoạn 2, giai đoạn 3, và giai đoạn 4 (xơ gan) (tham khảo, ví dụ, Kleiner et al). Theo một số phương án, sự giảm giai đoạn xơ hóa là sự giảm về mức độ nghiêm trọng của xơ hóa. Ví dụ, sự giảm 1, 2, 3, hoặc 4 giai đoạn là sự giảm về mức độ nghiêm trọng của xơ hóa. Theo một số phương án, sự giảm giai đoạn, ví dụ, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 3, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 0, hoặc từ giai đoạn 1 xuống giai đoạn 0 cho thấy có sự điều trị NASH. Theo một số phương án, giai đoạn xơ hóa giảm từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 3, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 0, hoặc từ giai đoạn 1 xuống giai đoạn 0 sau khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, giai đoạn xơ hóa giảm từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 3, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 0, hoặc từ giai đoạn 1 xuống giai đoạn 0 trong khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, giai đoạn xơ hóa giảm từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 3, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 4 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 2, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 3 xuống giai đoạn 0, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 1, từ giai đoạn 2 xuống giai đoạn 0, hoặc từ giai đoạn 1 xuống giai đoạn 0

hoặc từ giai đoạn 1 xuống giai đoạn 0 sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Theo một số phương án, sự có mặt của NASH được xác định bằng một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan hoặc các hệ chấm điểm của chúng. Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của NASH được xác định bằng một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan hoặc các hệ chấm điểm của chúng. Nồng độ dấu ấn sinh học có thể được xác định bằng cách, ví dụ, đo lường, định lượng, và theo dõi mức độ biểu hiện của gen hoặc mRNA mã hóa dấu ấn sinh học này và/hoặc peptit hoặc protein của dấu ấn sinh học này. Các ví dụ không mang tính giới hạn của dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan và/hoặc các hệ chấm điểm của chúng gồm chỉ số tỷ lệ của aspartat aminotransferaza (AST) và tiểu cầu (APRI); tỷ lệ (AAR) của aspartat aminotransferaza (AST) và alanin aminotransferaza (ALT); điểm số FIB-4, dựa trên APRI, nồng độ alanin aminotransferaza (ALT), và tuổi của đối tượng (tham khảo, ví dụ, McPherson et al., Gut 2010, vol. 59(9), p. 1265-9, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ); axit hyaluronic; xytokin gây viêm; bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm α 2-macroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, bilirubin, gamma glutamyl transpeptidaza (GGT) kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng để tạo ra thước đo xơ hóa và hoạt tính viêm hoại tử ở gan (ví dụ, FIBROTEST®, FIBROSURE®), bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm bilirubin, gamma-glutamyltransferaza, axit hyaluronic, α 2-macroglobulin kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng (ví dụ, HEPAScore®; xem, ví dụ, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), và bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm chất ức chế mô metalloproteinaza-1, axit hyaluronic, và α 2-macroglobulin (ví dụ, FIBROSPECT®); bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm chất ức chế mô metalloproteinaza 1 (TIMP-1), propeptit có đầu cuối amino của procollagen typ III (PIIINP) và axit hyaluronic (HA) (ví dụ, điểm số xơ hóa gan tăng cường (ELF), tham khảo, ví dụ, Lichtinghagen R, et al., J Hepatol. 2013 Aug;59(2):236-42, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một số phương án, sự có mặt của xơ hóa được xác định bằng một hoặc nhiều điểm số FIB-4, bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm α 2-macroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, bilirubin, gamma glutamyl

transpeptidaza (GGT) kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng để tạo ra thước đo xơ hóa và hoạt tính viêm hoại tử ở gan (ví dụ, FIBROTEST®, FIBROSURE®), bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm bilirubin, gamma-glutamyltransferaza, axit hyaluronic, α 2-macroglobulin kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng (ví dụ, HEPAScore®; tham khảo, ví dụ, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873), và bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm chất ức chế mô metalloproteinaza-1, axit hyaluronic, và α 2-macroglobulin (ví dụ, FIBROSPECT®); và bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm chất ức chế mô metalloproteinaza 1 (TIMP-1), propeptit có đầu cuối amino của procollagen typ III (PIIINP) và axit hyaluronic (HA) (ví dụ, điểm số xơ hóa gan tăng cường (ELF)).

Theo một số phương án, nồng độ của aspartat aminotransferaza (AST) không tăng. Theo một số phương án, nồng độ của aspartat aminotransferaza (AST) giảm. Theo một số phương án, nồng độ của alanin aminotransferaza (ALT) không tăng. Theo một số phương án, nồng độ của alanin aminotransferaza (ALT) giảm. Theo một số phương án, “nồng độ” của enzym dùng để chỉ hàm lượng của enzym này, ví dụ, trong máu. Ví dụ, nồng độ của AST hoặc ALT có thể được biểu hiện bằng đơn vị/L.

Theo một số phương án, mức độ nghiêm trọng của xơ hóa được xác định bằng một hoặc nhiều điểm số FIB-4, bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm α 2-macroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, bilirubin, gamma glutamyl transpeptidaza (GGT) kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng để tạo ra thước đo xơ hóa và hoạt tính viêm hoại tử ở gan (ví dụ, FIBROTEST®, FIBROSURE®), bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm bilirubin, gamma-glutamyltransferaza, axit hyaluronic, α 2-macroglobulin kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng (ví dụ, HEPAScore®; tham khảo, ví dụ, Adams et al., Clin. Chem. 2005, vol. 51(10), p. 1867-1873, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ), và bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm chất ức chế mô metalloproteinaza-1, axit hyaluronic, và α 2-macroglobulin (ví dụ, FIBROSPECT®); và bảng mẫu chỉ dấu sinh học gồm chất ức chế mô metalloproteinazas 1 (TIMP-1), propeptit có đầu cuối amino của procollagen typ III (PIIINP) và axit hyaluronic (HA) (ví dụ, điểm số xơ hóa gan tăng cường (ELF)).

Theo một số phương án, mức độ viêm gan được xác định bằng nồng độ của chỉ dấu sinh học viêm gan, ví dụ, xytokin gây viêm. Các ví dụ không mang tính giới hạn của dấu ấn sinh học là chỉ dấu của viêm gan gồm interleukin-(IL) 6, interleukin-(IL) 1 β , yếu

tổ hoại tử khối u (TNF)- α , yếu tố sinh trưởng chuyển đổi (TGF)- β , protein có ái lực hóa học với bạch cầu đơn nhân (MCP)-1, protein phản ứng C (CRP), PAI-1, và các dạng đồng phân của collagen như Colla1, Colla2, và Col4a1 (tham khảo, ví dụ, Neuman, et al., Can. J. Gastroenterol. Hepatol. 2014, vol. 28(11), p. 607-618 và patent Mỹ số 9,872,844, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Viêm gan cũng có thể được đánh giá bằng cách thay đổi thâm nhiễm đại thực bào, ví dụ, bằng cách đo sự thay đổi của mức độ biểu hiện CD68. Theo một số phương án, viêm gan có thể được xác định bằng cách đo hoặc theo dõi nồng độ trong huyết thanh hoặc mức lưu thông của một hoặc nhiều interleukin-(IL) 6, interleukin-(IL) 1 β , yếu tố hoại tử khối u (TNF)- α , yếu tố sinh trưởng chuyển đổi (TGF)- β , protein có ái lực hóa học với bạch cầu đơn nhân (MCP)-1, và protein phản ứng C (CRP).

Theo một số phương án, nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan được xác định trên mẫu thử lấy từ đối tượng trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng. Theo một số phương án, nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan được xác định trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng. Theo một số phương án, sự giảm nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan trong khoảng thời gian hoặc sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, so với trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, cho thấy có sự điều trị NASH. Ví dụ, sự giảm nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan ít nhất khoảng 5%, ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 55%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 65%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, hoặc ít nhất khoảng 99% cho thấy có sự điều trị NASH. Theo một số phương án, mức giảm nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan sau khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, là ít nhất

khoảng 5%, ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 55%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 65%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, hoặc ít nhất khoảng 99%. Theo một số phương án, nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan trong khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là ít nhất khoảng 5%, ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 55%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 65%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, hoặc ít nhất khoảng 99%. Theo một số phương án, nồng độ của một hoặc nhiều dấu ấn sinh học là chỉ dấu của một hoặc nhiều tổn thương gan, viêm, xơ hóa gan, và/hoặc chai gan sau khoảng thời gian cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, là ít nhất khoảng 5%, ít nhất khoảng 10%, ít nhất khoảng 15%, ít nhất khoảng 20%, ít nhất khoảng 25%, ít nhất khoảng 30%, ít nhất khoảng 35%, ít nhất khoảng 40%, ít nhất khoảng 45%, ít nhất khoảng 50%, ít nhất khoảng 55%, ít nhất khoảng 60%, ít nhất khoảng 65%, ít nhất khoảng 70%, ít nhất khoảng 75%, ít nhất khoảng 80%, ít nhất khoảng 85%, ít nhất khoảng 90%, ít nhất khoảng 95%, hoặc ít nhất khoảng 99%.

Theo một số phương án, việc điều trị NASH làm giảm nồng độ axit mật trong huyết thanh ở đối tượng. Theo một số phương án, nồng độ axit mật trong huyết thanh được xác định bằng, ví dụ, thử nghiệm enzym ELISA hoặc các thử nghiệm để xác định tổng lượng các axit mật như được mô tả trong Danese et al., PLoS One. 2017, vol. 12(6): e0179200, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ. Theo một số phương án, nồng độ axit mật trong huyết thanh có thể giảm, ví dụ, từ 10% tới 40%, từ 20% tới 50%, 30% tới 60%, 40% tới 70%, 50% tới 80%, hoặc nhiều hơn 90% so với nồng độ axit mật trong huyết thanh trước khi cho dùng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng. Theo một số phương án, NASH này là NASH với chứng ứ mật đi kèm. Trong chứng ứ mật, quá trình giải phóng mật, gồm cả các axit mật, từ gan bị nghẽn. Các axit mật có thể gây ra tổn thương tế bào gan (tham khảo, ví dụ, Perez MJ, Briz O. World J.

Gastroenterol. 2009, vol. 15(14), p. 1677-1689) có khả năng dẫn đến hoặc làm tăng sự tiến triển của xơ hóa (ví dụ, xơ gan) và làm tăng nguy cơ ung thư biểu mô tế bào gan (tham khảo, ví dụ, Sorrentino P et al., *Dig. Dis. Sci.* 2005, vol. 50(6), p. 1130-1135 và Satapathy SK and Sanyal AJ. *Semin. Liver Dis.* 2015, vol. 35(3), p. 221-235, được kết hợp vào đây bằng cách viện dẫn toàn bộ). Theo một số phương án, việc điều trị NASH gồm cả điều trị bệnh ngứa. Theo một số phương án, việc điều trị NASH với chứng ứ mật đi kèm gồm cả điều trị bệnh ngứa. Theo một số phương án, đối tượng mắc NASH với chứng ứ mật đi kèm có bệnh ngứa.

Các chỉ dấu sinh học điển hình của NASH được liệt kê trong Bảng 7.

Bảng 7. Các chỉ dấu sinh học của NASH điển hình

Chỉ dấu sinh học của xơ hóa gan

Chỉ số tỷ lệ (APRI) của aspartat aminotransferaza (AST) và tiểu cầu

Tỷ lệ (AAR) của aspartat aminotransferaza (AST) và alanin aminotransferaza (ALT)

Điểm số¹ FIB-4

Axit hyaluronic

Xytokin gây viêm

Bảng mẫu gồm α 2-macroglobulin, haptoglobin, apolipoprotein A1, bilirubin, gamma glutamyl transpeptidaza (GGT) kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng để tạo ra thước đo xơ hóa và hoạt tính viêm hoại tử ở gan (ví dụ, FIBROTEST®, FIBROSURE®)

Bảng mẫu gồm bilirubin, gamma-glutamyltransferaza, axit hyaluronic, α 2-macroglobulin kết hợp với độ tuổi và giới tính của đối tượng (ví dụ, HEPAScore®²)

Bảng mẫu gồm chất ức chế mô metalloproteinaza-1, axit hyaluronic, và α 2-macroglobulin (ví dụ, FIBROSPECT®)

Bảng mẫu gồm chất ức chế mô metalloproteinaza 1 (TIMP-1), propeptit có đầu cuối amino của procollagen typ III (PIIINP) và axit hyaluronic (HA) (ví dụ, điểm số xơ hóa gan tăng cường (ELF)³)

Chỉ dấu sinh học^{4,5} của viêm gan

Interleukin-(IL) 6

Interleukin-(IL) 1 β Yếu tố hoại tử khối u (TNF)- α Yếu tố sinh trưởng chuyển đổi (TGF)- β

Protein có ái lực hóa học với bạch cầu đơn nhân (MCP)-1

protein phản ứng C (CRP)

PAI-1

Các dạng đồng phân của collagen (ví dụ, Col1a1, Col1a2, và Col4a1)

Thay đổi thâm nhiễm đại thực bào (ví dụ, thay đổi mức độ biểu hiện CD68)

*Tài liệu tham khảo được trích dẫn trong Bảng 7*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 Patent Mỹ số 9,872,844

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể có tỷ lệ tự do cao hơn trong huyết tương. Theo một số phương án, tỷ lệ tự do này là lớn hơn khoảng 0,2%, như lớn hơn khoảng 0,4%, như lớn hơn khoảng 0,6%, như lớn hơn khoảng 0,8%, như lớn hơn khoảng 1,0%, như lớn hơn khoảng 1,25%, như lớn hơn khoảng 1,5%, như lớn hơn khoảng 1,75%, như lớn hơn khoảng 2,0%, như lớn hơn khoảng 2,5%, như lớn hơn khoảng 3%, như lớn hơn khoảng 4%, như lớn hơn khoảng 5%, như lớn hơn khoảng 7,5%, như lớn hơn khoảng 10%, hoặc như lớn hơn khoảng 20%.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể được bài tiết qua nước tiểu. Theo một số phương án, tỷ lệ hợp chất này được bài tiết qua nước tiểu là lớn hơn khoảng 0,2%, như lớn hơn khoảng 0,4%, như lớn hơn khoảng 0,6%, như

lớn hơn khoảng 0,8%, như lớn hơn khoảng 1,0%, như lớn hơn khoảng 2%, như lớn hơn khoảng 3%, như lớn hơn khoảng 5%, như lớn hơn khoảng 7,5%, như lớn hơn khoảng 10%, như lớn hơn khoảng 15%, như lớn hơn khoảng 20%, như lớn hơn khoảng 30%, hoặc như lớn hơn khoảng 50%.

Sau khi được hấp thu từ ruột non, một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể được tuần hoàn qua hệ tuần hoàn ruột-gan. Theo một số phương án, tỷ lệ hợp chất này được tuần hoàn qua hệ tuần hoàn ruột-gan là lớn hơn khoảng 0,1%, như lớn hơn khoảng 0,2%, như lớn hơn khoảng 0,3%, như lớn hơn khoảng 0,5%, như lớn hơn khoảng 1,0%, như lớn hơn khoảng 1,5%, như lớn hơn khoảng 2%, như lớn hơn khoảng 3%, như lớn hơn khoảng 5%, như lớn hơn khoảng 7%, như lớn hơn khoảng 10%, như lớn hơn khoảng 15%, như lớn hơn khoảng 20%, như lớn hơn khoảng 30% hoặc như lớn hơn khoảng 50%.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể khiến thận bài tiết các muối mật. Theo một số phương án, tỷ lệ các axit mật lưu thông được bài tiết qua đường thận là lớn hơn khoảng 1%, như lớn hơn khoảng 2%, như lớn hơn khoảng 5%, như lớn hơn khoảng 7%, như lớn hơn khoảng 10%, như lớn hơn khoảng 15%, như lớn hơn khoảng 20%, hoặc như lớn hơn khoảng 25%.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể có khả năng thẩm thấu được cải thiện hoặc tối ưu. Khả năng thẩm thấu có thể được đo ở các tế bào Caco2, và các giá trị Papp (apparent permeability = khả năng thẩm thấu biểu kiến) được đo bằng đơn vị cm/s. Theo một số phương án, khả năng thẩm thấu này lớn hơn ít nhất khoảng $0,1 \times 10^{-6}$ cm/s, như lớn hơn khoảng $0,2 \times 10^{-6}$ cm/s, như lớn hơn khoảng $0,4 \times 10^{-6}$ cm/s, như lớn hơn khoảng $0,7 \times 10^{-6}$ cm/s, như lớn hơn khoảng $1,0 \times 10^{-6}$ cm/s, như lớn hơn khoảng 2×10^{-6} cm/s, như lớn hơn khoảng 3×10^{-6} cm/s, như lớn hơn khoảng 5×10^{-6} cm/s, như lớn hơn khoảng 7×10^{-6} cm/s, như lớn hơn khoảng 10×10^{-6} cm/s, như lớn hơn khoảng 15×10^{-6} cm/s.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể có độ sinh khả dụng được cải thiện hoặc tối ưu. Theo một số phương án, độ sinh khả dụng đường uống này lớn hơn khoảng 5%, như lớn hơn khoảng 7%, như lớn hơn khoảng 10%, như lớn hơn khoảng 15%, như lớn hơn khoảng 20%, như lớn hơn khoảng 30%, như lớn hơn khoảng 40%, như lớn hơn khoảng 50 %, như lớn hơn khoảng 60 %, như lớn hơn

khoảng 70% hoặc như lớn hơn khoảng 80%. Trong các phương án khác, độ sinh khả dụng đường uống nằm trong khoảng 10 và 90%, như trong khoảng 20 và khoảng 80%, như trong khoảng 30 và khoảng 70% hoặc như trong khoảng 40 và khoảng 60%.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể là cơ chất của các chất vận chuyển có liên quan trong thận.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể làm tăng nồng độ của các axit mật trong ruột non, trong gan và trong huyết thanh nhưng không gây ra tác dụng tiêu hóa bất lợi.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể làm giảm nồng độ của các axit mật trong gan mà không gây ra các rối loạn dạ dày-ruột như tiêu chảy.

Trong bản mô tả này, các thuật ngữ "việc điều trị", "điều trị" và "được điều trị" được dùng để chỉ việc đảo ngược, giảm bớt, trì hoãn sự khởi phát hoặc ức chế sự tiến triển của bệnh hoặc rối loạn, hoặc một hoặc nhiều triệu chứng của chúng, như đã nêu trên. Theo một số phương án, việc điều trị có thể được áp dụng sau khi một hoặc nhiều triệu chứng đã phát triển. Trong các phương án khác, việc điều trị có thể được áp dụng khi không có triệu chứng. Ví dụ, việc điều trị có thể được áp dụng cho một cá nhân nhạy cảm trước khi khởi phát các triệu chứng (ví dụ, trong bối cảnh có tiền sử các triệu chứng và/hoặc do các yếu tố di truyền hoặc các yếu tố nhạy cảm khác). Việc điều trị cũng có thể được tiếp tục sau khi các triệu chứng đã được giải quyết, ví dụ để ngăn ngừa hoặc trì hoãn sự tái phát của chúng.

Muối được dụng thích hợp của hợp chất theo sáng chế này là, ví dụ, muối cộng bazơ của hợp chất theo sáng chế mà có đủ tính axit, như muối kim loại kiềm (ví dụ, muối natri hoặc kali), muối kim loại kiềm thổ (ví dụ, muối canxi hoặc magie), muối amoni, hoặc muối với bazơ hữu cơ có thể tạo ra cation chấp nhận được về mặt sinh lý, ví dụ như muối với metylamin, đimetylamin, trimetylamin, piperidin, morpholin hoặc tris-(2-hydroxyetyl)amin.

Một số hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, có thể có các tâm bất đối xứng và/hoặc các tâm đồng phân hình học (các chất đồng phân E- và Z-). Cần hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các chất đồng phân quang học, các chất đồng phân không đối quang và chất đồng phân hình học mà có hoạt tính ức chế ASBT và/hoặc

LBAT. Sáng chế cũng đề xuất bất kỳ và tất cả các dạng hồ biến của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, mà có hoạt tính ức chế ASBT và/hoặc LBAT. Một số hợp chất có công thức (I) nhất định, hoặc muối được dụng của chúng, có thể tồn tại ở dạng solvat cũng như không solvat, ví dụ như dạng hydrat. Cần phải hiểu rằng sáng chế bao hàm tất cả các dạng solvat mà có hoạt tính ức chế ASBT và/hoặc LBAT.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất được phẩm chứa lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và một hoặc nhiều tá được dụng. Các tá được này có thể ví dụ là các chất độn, chất kết dính, chất rã, tá được chảy và chất bôi trơn. Nói chung, được phẩm có thể được bào chế theo cách thông thường bằng cách sử dụng các tá được thông thường.

Ví dụ về các chất độn thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, đicanxi phosphat dihydrat, canxi sulfat, lactoza (như lactoza monohydrat), sucroza, mannitol, sorbitol, xenluloza, xenluloza dạng vi tinh thể, tinh bột khô, tinh bột thủy phân và tinh bột tiền gelatin hóa. Theo một số phương án nhất định, chất độn là mannitol và/hoặc xenluloza dạng vi tinh thể.

Ví dụ về chất kết dính thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tinh bột, tinh bột tiền gelatin hóa, gelatin, đường (như sucroza, glucoza, đextroza, lactoza và sorbitol), polyetylen glycol, sáp ong, gôm tự nhiên và tổng hợp (như gôm acaxia và gôm tragacan), natri alginat, các dẫn xuất xenluloza (như hydroxypropylmetyl xenluloza (hoặc hypromelloza), hydroxypropyl xenluloza và etyl xenluloza) và polyme tổng hợp (như copolyme của axit acrylic và axit methacrylic, copolyme axit methacrylic, copolyme methyl metacrylat, copolyme aminoalkyl metacrylat, copolyme axit polyacrylic/axit polymethacrylic và polyvinylpyrrolidon (povidon)). Theo một số phương án nhất định, chất kết dính là hydroxypropylmetyl xenluloza (hypromelloza).

Ví dụ về các chất rã thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, tinh bột khô, tinh bột biến tính (như tinh bột tiền gelatin hóa (một phần), tinh bột natri glycolat và tinh bột natri carboxymetyl), axit alginic, các dẫn xuất xenluloza (như natri carboxymetyl xenluloza, hydroxypropyl xenluloza, và hydroxypropyl xenluloza (L-HPC)) được thể thấp và polyme được tạo liên kết ngang (như carmelloza, natri croscarmelloza, canxi carmelloza và PVP liên kết ngang (crospovidon)). Theo một số phương án nhất định, chất rã là natri croscarmelloza.

Ví dụ về các tá dược chảy và chất bôi trơn thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, bột talc, magie stearat, canxi stearat, axit stearic, glyxeryl behenat, silic đioxyt dạng keo, silic đioxit dạng lỏng, magie silicat tổng hợp, silic oxit dạng hạt mịn, tinh bột, natri lauryl sulfat, axit boric, magie oxit, sáp ong (như sáp cacauba), dầu được hydro hóa, polyetylen glycol, natri benzoat, polyetylen glycol, và dầu khoáng. Theo một số phương án nhất định, tá dược chảy hoặc chất bôi trơn là magie stearat hoặc silic đioxyt dạng keo.

Dược phẩm thường được bao bằng một hoặc nhiều lớp bao. Các lớp bao tan trong ruột hoặc các lớp bao để giải phóng chậm hoặc hướng đích các hợp chất có công thức (I), hoặc muối dược dụng của chúng, cũng được dự định. Các lớp bao này có thể chứa một hoặc nhiều chất tạo màng bao, và có thể tùy ý chứa các chất dẻo hóa và/hoặc chất tạo màu (hoặc chất màu).

Ví dụ về các chất tạo màng bao thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, polyme trên cơ sở xenluloza (như etylxenluloza, hydroxypropylmetyl-xenluloza (hoặc hypromelloza), hydroxypropylxenluloza, axetat phtalat xenluloza, axetat suxinat xenluloza, hydroxypropyl metylaxetat suxinat xenluloza và hydroxypropyl metylxenluloza phtalat), polyme trên cơ sở vinyl (như rượu polyvinyl) và polyme trên cơ sở axit acrylic và các dẫn xuất của chúng (như copolyme của axit acrylic và axit methacrylic, copolyme axit methacrylic, copolyme metyl metacrylat, copolyme aminoalkyl metacrylat, copolyme axit polyacrylic/axit polymethacrylic). Theo một số phương án nhất định, chất tạo màng bao là hydroxypropylmetylxenluloza. Trong các phương án khác, chất tạo màng bao là rượu polyvinyl.

Ví dụ về các chất dẻo hóa thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, trietyl xitrat, glyxeryl triaxetat, tributyl xitrat, dietyl phtalat, axetyl tributyl xitrat, đibutyl phtalat, đibutyl sebacat và polyetylen glycol. Theo một số phương án nhất định, chất dẻo hóa là polyetylen glycol.

Ví dụ về các chất tạo màu thích hợp bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, titan đioxit, các oxit sắt (như các oxit sắt có màu vàng, màu nâu, đỏ hoặc đen) và bari sulfat.

Dược phẩm theo sáng chế có thể có dạng thích hợp để dùng qua đường miệng, để tiêm ngoài đường ruột (gồm tiêm tĩnh mạch, dưới da, trong cơ và trong mạch), để dùng

khu trú như ở trực tràng. Theo một phương án được ưu tiên, dược phẩm này có dạng thích hợp để dùng qua đường miệng, như viên nén hoặc viên nang.

Liều lượng cần thiết để điều trị bệnh hoặc điều trị dự phòng phụ thuộc vào đường dùng thuốc, mức độ nghiêm trọng của bệnh, độ tuổi và thể trạng của người bệnh và các yếu tố khác thường được xem xét bởi bác sĩ điều trị khi xác định chế độ thích hợp và mức liều lượng cho người bệnh cụ thể.

Lượng hợp chất cần dùng sẽ khác nhau đối với người bệnh được điều trị, và có thể dao động trong khoảng từ 1 $\mu\text{g/kg}$ thể trọng tới khoảng 50 mg/kg thể trọng mỗi ngày. Dạng liều đơn vị, như viên nén hoặc viên nang, thường chứa khoảng từ 1 tới khoảng 250 mg hoạt chất, như khoảng từ 1 tới khoảng 100 mg, hoặc như khoảng từ 1 tới khoảng 50 mg, hoặc như khoảng từ 1 tới khoảng 20 mg, ví dụ khoảng 2,5 mg, hoặc khoảng 5 mg, hoặc khoảng 10 mg, hoặc khoảng 15 mg hoạt chất. Liều hằng ngày có thể được dùng dưới dạng một liều duy nhất hoặc được chia thành một, hai, ba hoặc nhiều liều đơn vị. Liều dùng hằng ngày qua đường miệng của chất điều tiết axit mật tốt hơn là nằm trong khoảng từ 0,1 tới khoảng 250 mg, tốt hơn nữa là nằm trong khoảng từ 1 tới khoảng 100 mg, như nằm trong khoảng từ 1 tới khoảng 5 mg, như nằm trong khoảng từ 1 tới khoảng 10 mg, như nằm trong khoảng từ 1 tới khoảng 15 mg, hoặc như nằm trong khoảng từ 1 tới khoảng 20 mg.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để dùng làm thuốc. Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để làm thuốc.

Theo một khía cạnh khác, sáng chế đề xuất hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để dùng trong điều trị hoặc phòng ngừa bệnh bất kỳ trong số các bệnh được đề cập trong bản mô tả này. Sáng chế còn đề cập đến việc sử dụng hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, để bào chế thuốc điều trị hoặc phòng ngừa bệnh bất kỳ trong số các bệnh được đề cập trong bản mô tả này. Sáng chế còn mô tả phương pháp điều trị hoặc ngăn ngừa bệnh bất kỳ trong số các bệnh được đề cập trong bản mô tả này ở đối tượng, như ở người, bao gồm việc đưa vào đối tượng cần được điều trị hoặc phòng ngừa lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng.

Trị liệu kết hợp

Theo một khía cạnh của sáng chế, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được cho dùng kết hợp với ít nhất một hoạt chất có hoạt tính trị liệu khác, như với một, hai, ba hoặc nhiều hoạt chất có hoạt tính trị liệu khác. Hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, và ít nhất một hoạt chất có hoạt tính trị liệu khác có thể được dùng đồng thời, lần lượt hoặc riêng biệt. Các hoạt chất có hoạt tính trị liệu thích hợp để kết hợp với các hợp chất có công thức (I) bao gồm, nhưng không chỉ giới hạn ở, các hoạt chất đã biết mà có thể được sử dụng để điều trị bất kỳ tình trạng bệnh, rối loạn và bệnh nêu trên.

Theo một phương án, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế ASBT khác. Các chất ức chế ASBT thích hợp được bộc lộ trong WO 93/16055, WO 94/18183, WO 94/18184, WO 96/05188, WO 96/08484, WO 96/16051, WO 97/33882, WO 98/03818, WO 98/07449, WO 98/40375, WO 99/35135, WO 99/64409, WO 99/64410, WO 00/47568, WO 00/61568, WO 00/38725, WO 00/38726, WO 00/38727, WO 00/38728, WO 00/38729, WO 01/66533, WO 01/68096, WO 02/32428, WO 02/50051, WO 03/020710, WO 03/022286, WO 03/022825, WO 03/022830, WO 03/061663, WO 03/091232, WO 03/106482, WO 2004/006899, WO 2004/076430, WO 2007/009655, WO 2007/009656, WO 2011/137135, DE 19825804, EP 864582, EP 489423, EP 549967, EP 573848, EP 624593, EP 624594, EP 624595, EP 624596, EP 0864582, EP 1173205 và EP 1535913, all được kết hợp vào bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng kết hợp với chất kết dính axit mật (còn được gọi là chất cô lập axit mật, hoặc nhựa axit mật), như colesevelam, cholestyramin hoặc cholestipol. Theo một phương án được ưu tiên của dạng kết hợp như vậy, chất kết dính axit mật được bào chế để giải phóng ở kết tràng. Ví dụ về các chế phẩm này được bộc lộ, ví dụ, trong WO 2017/138877, WO 2017/138878, WO 2019/032026 và WO 2019/032027, tất cả được kết hợp vào trong bản mô tả này bằng cách viện dẫn toàn bộ.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dụng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế DPP-IV, gồm các gliptin như sitagliptin,

vildagliptin, saxagliptin, linagliptin, gemigliptin, anagliptin, teneligliptin, alogliptin, trelagliptin, omarigliptin, evogliptin, gosogliptin và dutogliptin, hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế HMG CoA reductaza, như fluvastatin, lovastatin, pravastatin, simvastatin, atorvastatin, pitavastatin cerivastatin, mevastatin, rosuvastatin, bervastatin hoặc dalvastatin, hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế hấp thu cholesterol như ezetimibe, hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận PPAR alpha, gồm các fibrate như clofibrate, bezafibrate, ciprofibrate, clinofibrate, clofibrade, fenofibrate, gemfibrozil, ronifibrate và simfibrate, hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận PPAR gamma, gồm các thiazolidinedion như pioglitazon, rosiglitazon và lobeglitazone, hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận kép PPAR alpha/gamma, gồm các glitazar như saroglitazar, aleglitazar, muraglitazar hoặc tesaglitazar, hoặc muối được dùng của chúng.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận kép PPAR alpha/delta, như elafibranor.

Theo một phương án khác nữa, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận pan PPAR (tức là chất chủ vận PPAR mà có hoạt tính trong tất cả các phân nhóm: α , γ và δ), như IVA337.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với các chất điều tiết thụ thể farnesoid X (FXR), gồm các chất chủ vận FXR như cafestol, axit chenodeoxycholic, axit 6 α -etyl-chenodeoxycholic (axit obeticholic; INT-747), fexaramine, tropifexor, cilofexor và MET409.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất điều tiết thụ thể TGR5, gồm các chất chủ vận TGR5 như axit 6 α -etyl-23(S)-methylcholic (INT-777).

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận kép FXR/TGR5 như INT-767.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với axit ursodeoxycholic (UDCA). Theo một phương án khác nữa, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với axit nor-ursodeoxycholic (nor-UDCA).

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất điều tiết FGF19, như NGM282.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận FGF21, như BMS-986036.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế integrin, như PLN-74809 và PLN-1474.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế CCR2/CCR5, như cenicriviroc.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế caspaza proteaza, như emricasan.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế galectin-3, như GR-MD-02.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế stearoyl-CoA desaturaza (SCD), như aramchol (axit arachidyl amido cholanoic).

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế kinaza 1 điều hòa tín hiệu gây chết theo chương trình (ASK1), như selonsertib.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế LOXL2, như simtuzumab.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế ACC, như GS-0976.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể- β hocmon tuyến giáp, như MGL3196.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận GLP-1 như liraglutide.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với các chất chủ vận thụ thể kép peptit giống glucagon và glucagon, như SAR425899.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế mang pyruvat ty thể, như MSDC-0602K.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chống oxi hóa, như vitamin E.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế SGLT1, chất ức chế SGLT2 hoặc chất ức chế kép SGLT1 và SGLT2. Ví dụ về các hợp chất như vậy là dapagliflozin, sotagliflozin, canagliflozin, empagliflozin, LIK066 và SGL5213.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế α -acylglycerol O-acyltransferase 2 (DGAT2), như DGAT2RX và PF-06865571.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế syntaza axit béo (FASN), như TVB-2640.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất hoạt hóa protein kinaza AMP đã được hoạt hóa (AMPK), như PXL-770.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận thụ thể glucocorticoid (GR), chất đối vận thụ thể mineralocorticoid (MR), hoặc chất đối vận kép GR/MR. Ví dụ về các hợp chất như vậy là MT-3995 và CORT-118335.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận thụ thể 1 cannabinoid (CB1), như IM102.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với Klothoß (KLB) và chất hoạt hóa thụ thể yếu tố sinh trưởng nguyên bào sợi (FGFR), như MK-3655 (trước đây được gọi là NGM-313).

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế phối tử chemokine (mô típ c-c) 24 (CCL24), như CM101.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận A3, như PBF-1650.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận thụ thể P2x7, như SGM 1019.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với các chất chủ vận thụ thể P2Y13, như CER-209.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với oxysterol sulfat hóa, như Dur-928.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận thụ thể leukotriene D4 (LTD4), như MN-001.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế tế bào T diệt tự nhiên loại 1 (NKT1), như GRI-0621.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với hợp chất kháng lipopolysaccharit (LPS), như IMM-124E.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế VAP1, như BI1467335.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể A3 adenosin, như CF-102.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất hoạt hóa SIRT-1, như NS-20.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể 1 axit nicotinic, như ARI-3037MO.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận TLR4, như JKB-121.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế ketohexokinaza, như PF-06835919.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất chủ vận thụ thể adiponectin, như ADP-335.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế autotaxin, như PAT-505 và PF8380.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất đối vận thụ thể 3 chemokine (mô típ c-c) (CCR3), như bertilimumab.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất kích thích kênh clorua, như cobiprostone và lubiprostone.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế protein 47 sốc nhiệt (HSP47), như ND-L02-s0201.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế yếu tố phiên mã protein liên kết yếu tố điều hòa sterol 2 (SREBP), như CAT-2003 và MDV-4463.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với biguanidin, như metformin.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với insulin.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế glycogen phosphorylaza và/hoặc chất ức chế glucoza-6-phosphataza.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với sulfonylurea, như glipizid, glibenklamid và glimepirid.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với meglitinide, như repaglinide, nateglinide và ormiglitinide.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế glucosidaza, như acarbose hoặc miglitol.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế squalene syntaza, như TAK-475.

Theo một phương án khác, các hợp chất có công thức (I), hoặc muối được dùng của chúng, được dùng kết hợp với chất ức chế PTPB1, như trodusquemine, ertiprotafib, JTT-551 và claramine.

Điều chế hợp chất

Các hợp chất theo sáng chế có thể được điều chế dưới dạng axit tự do hoặc muối được dùng của chúng bằng cách quy trình được mô tả dưới đây. Trong suốt phần mô tả dưới đây về các quá trình như vậy cần hiểu rằng, khi thích hợp, các nhóm bảo vệ phù hợp sẽ được thêm vào, và sau đó được loại ra khỏi các chất phản ứng và sản phẩm trung gian khác theo cách dễ hiểu bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực tổng hợp hữu cơ. Các phương pháp thông thường để sử dụng các nhóm bảo vệ như vậy cũng như ví dụ về các nhóm bảo vệ thích hợp được mô tả chẳng hạn trong *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis* by P.G.M Wutz and T.W. Greene, 4th Edition, John Wiley & Sons, Hoboken, 2006.

Các phương pháp chung

Tất cả các dung môi được sử dụng đều có độ tinh khiết phân tích. Các dung môi khan có bán trên thị trường thường được sử dụng cho các phản ứng. Các nguyên liệu ban đầu có thể mua từ các nguồn thương mại sources hoặc được điều chế theo các phương

pháp được mô tả trong tài liệu. Hợp chất 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxybenzyl)-7-(methylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit có thể được điều chế như được mô tả trong WO 03/022286 (phương pháp 24). Nhiệt độ trong phòng là 20 - 25 °C. Thành phần hỗn hợp dung môi được thể hiện dưới dạng tỷ lệ phần trăm thể tích hoặc tỷ lệ thể tích.

LCMS (sắc ký lỏng - phổ khối):

Tên thiết bị: Agilent 1290 infinity II.

Phương pháp A: Pha động: A: 0,1% HCOOH trong H₂O: ACN (95:5), B: ACN; tốc độ chảy: 1,5mL/phút; cột: ZORBAX XDB C-18 (50 x 4,6 mm) 3,5 μM.

Phương pháp B: Pha động: A: 10 mM NH₄HCO₃ trong nước, B: ACN; tốc độ chảy: 1,2mL/phút; cột: XBridge C8 (50 x 4,6 mm), 3,5 μM.

Phương pháp C: Pha động: A: 0,1% HCOOH trong nước: ACN (95:5), B: ACN; tốc độ chảy: 1,5mL/phút; cột: ATLANTIS dC18 (50 x 4,6 mm), 5 μM.

Phương pháp D: Pha động: A: 10 mM NH₄OAc trong nước, B: ACN; tốc độ chảy: 1,2mL/phút; cột: Zorbax Extend C18 (50 x 4,6mm) 5 μM.

Phương pháp E: Pha động: A: 0,1% TFA trong nước: ACN (95:5), B: 0,1% TFA trong ACN; tốc độ chảy: 1,5mL/phút; cột: XBridge C8 (50 x 4,6 mm), 3,5 μM.

Phương pháp F: Pha động: A: 0,1% TFA trong nước, B: 0,1% TFA trong ACN; tốc độ chảy: 0,8mL/phút; cột: ZORBAX ECLIPSE PLUS C18 (50 x 2,1 mm), 1,8 μM.

Phương pháp G: Pha động: A: 0,1% TFA trong nước, B: 0,1% TFA trong ACN; tốc độ chảy: 0,8mL/phút; cột: Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 50 mm), 1,7 μm.

UPLC(sắc ký lỏng siêu hiệu năng):

Tên thiết bị: waters Acquity I Class

Phương pháp A: Pha động: A: 0,1% HCOOH trong nước, B: 0,1% HCOOH trong ACN; Tốc độ chảy: 0,8mL/phút; Cột: Acquity UPLC HSS T3 (2,1 x 50) mm; 1,8 μm.

HPLC (sắc ký lỏng hiệu năng cao):

Tên thiết bị: Các thiết bị dòng Agilent 1260 Infinity II nối với bộ dò UV maxplot).

Phương pháp A: Pha động: A: 10 mM NH₄HCO₃ trong nước, B: ACN; tốc độ chảy: 1,0mL/phút; cột: XBridge C8 (50 x 4,6 mm, 3,5 μm).

Phương pháp B: Pha động: A: 0,1% TFA trong nước, B: 0,1% TFA trong ACN; tốc độ chảy: 2,0mL/phút; cột: XBridge C8 (50 x 4,6 mm, 3,5 μm).

Phương pháp C: Pha động: A: 10 mM NH₄OAc trong nước mili-q, B: ACN; tốc độ chảy: 1,0mL/phút; cột: Phenomenex Gemini C18 (150 x 4,6 mm, 3,0 μm).

Phương pháp D: Pha động: A: 0,1% TFA trong nước, B: ACN; tốc độ chảy: 1,0mL/phút; cột: ATLANTIS dC18 (250 x 4,6 mm, 5,0 μm).

HPLC bất đối xứng:

Tên thiết bị: Agilent 1260 Infinity II

Phương pháp A: Pha động: A: 0,1% TFA trong *n*-hexan; B: etanol, tốc độ chảy: 1,0mL/phút; Cột: CHIRALPAK IA (250 x 4,6 mm, 5,0 μm).

SFC bất đối xứng:

Tên thiết bị: PIC SFC 10 (phân tích)

Tỷ số giữa CO₂ và đồng dung môi nằm trong khoảng từ 60:40 tới 80:20

Phương pháp A: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: YMC Amylose-SA (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp B: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiralpak AD-H (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp C: Pha động: 20 mM amoniac trong metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: YMC Cellulose-SC (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp D: Pha động: metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Lux A1 (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp E: Pha động: 0,5% isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: Lux C4.

Phương pháp F: Pha động: 0,5% isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: YMC Cellulose-SC.

Phương pháp G: Pha động: 0,5% isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Lux A1.

Phương pháp H: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Lux A1 (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp I: Pha động: 0,5% isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiral CCS (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp J: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: YMC Cellulose-SC AD-H (250 x 4,6 mm, 5 μm).

Phương pháp K: Pha động: 0,5% Isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 4mL/phút; cột: (R,R)-Whelk-01 (250 x 4,6 mm, 5 μ m).

Phương pháp L: Pha động: 0,5% Isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiralcel OX-H (250 x 4,6 mm, 5 μ m).

Phương pháp M: Pha động: 0,5% Isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: YMC Cellulose-SC (250 x 4,6 mm, 5 μ m).

Phương pháp N: Pha động: metanol; tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: Chiralcel OX-H (250 x 4,6 mm, 5 μ m).

HPLC điều chế:

Tên thiết bị: Agilent 1290 Infinity II

Phương pháp A: Pha động: A: 0,1% TFA trong nước; Pha động; B: 0,1% TFA trong CAN; tốc độ chảy: 2,0mL/phút; Cột: X-Bridge C8 (50 X 4,6 mm, 3,5 μ m).

Phương pháp B: Pha động: A: 10 mM NH_4OAc trong nước; B: ACN; tốc độ chảy: 35mL/phút; cột: X select C18 (30 x 150 mm, 5 μ m).

Phương pháp C: Pha động: A: 10 mM NH_4HCO_3 trong nước; B: ACN; tốc độ chảy: 1,0mL/phút; cột: XBridge C8 (50 x 4,6 mm, 3,5 μ m).

Phương pháp D: Pha động: A: 0,1% HCOOH trong nước; B: ACN; tốc độ chảy: 1,0mL/phút; cột: X-select C18 (30 x 150 mm, 5 μ m).

SFC điều chế bất đối xứng:

Tên thiết bị: PIC SFC 100 và PSC SFC 400

Tỷ số giữa CO_2 và đồng dung môi nằm trong khoảng từ 60:40 tới 80:20

Phương pháp A: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: YMC Amylose-SA (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp B: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiralpak AD-H (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp C: Pha động: 20 mM amoniac trong metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: YMC Cellulose-SC (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp D: Pha động: metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiral CCS (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp E: Pha động: metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Lux A1 (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp F: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Lux A1 (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp G: Pha động: 0,5% isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiral CCS (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp H: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA, tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: YMC Amylose-SC (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp J: Pha động: 0,5% isopropylamin trong IPA; tốc độ chảy: 3mL/phút; cột: Chiralcel OX-H (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp K: Pha động: 0,5% isopropylamin trong metanol; tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: YMC Cellulose-SC (250 x 30 mm, 5 μ m).

Phương pháp L: Pha động: metanol; tốc độ chảy: 5mL/phút; cột: Chiralcel OX-H (250 x 30 mm, 5 μ m).

HPLC điều chế bất đối xứng:

Tên thiết bị: Agilent 1260 Infinity II

Phương pháp A: Pha động: A: 0,1% TFA trong *n*-hexan; B: etanol; tốc độ chảy: 15mL/phút; Cột: CHIRALPAK IA (250 x 19 mm, 5,0 μ m).

Các chữ viết tắt

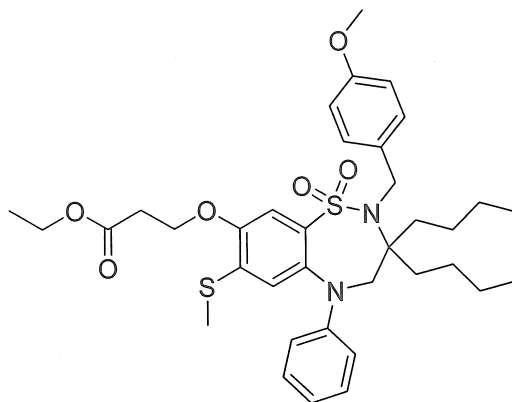
ACN	axetonitril
DCM	điclometan
DMAP	4-đimetylaminpyridin
DMF	đimetylformamit
IPA	isopropyl rượu
LCMS	sắc ký lỏng - phổ khối
HPLC	sắc ký lỏng hiệu năng cao
PE	ete dầu mỏ
SFC	sắc ký lỏng siêu tới hạn
TFA	axit trifloaxetic
THF	tetrahydrofuran
TLC	phương pháp sắc ký lớp mỏng
UPLC	sắc ký lỏng siêu hiệu năng

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sáng chế sẽ được mô tả bằng các ví dụ không mang tính giới hạn sau đây. Tất cả các tài liệu và tài liệu tham khảo được kết hợp bằng cách viện dẫn.

Chất trung gian 1

Etyl 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoat

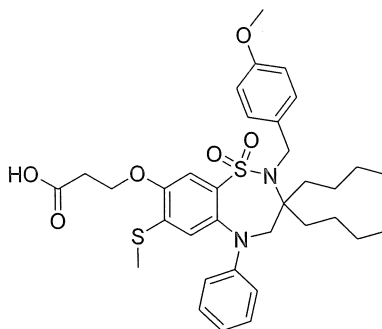


DMAP (257mg, 2,11mmol) được bổ sung vào vào hỗn dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (12g, 21,1mmol) trong etyl acrylat (80ml) ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong ống kín trong 72 giờ ở 100°C. Tiến trình của phản ứng được theo dõi bằng phương pháp TLC, cho thấy sự biến đổi không hoàn toàn (~40%) của chất phản ứng ban đầu. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi và sấy khô trong chân không để tạo ra hợp chất danh định thô, hợp chất này được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 15g (chất gồm thô, có màu nâu).

LCMS: (phương pháp A) 669,3 ($M^+ + H$), thời gian lưu 3,66 phút, 36,45% (tối đa).

Chất trung gian 2

Axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic



Chế phẩm 1:

Bổ sung từng giọt HCl (6N, 200ml) vào dung dịch đã khuấy chứa etyl 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxibenzyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoat (chất trung gian 1; 40g, 59,79mmol) trong 1,4-dioxan (200ml) ở nhiệt độ phòng và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 80°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp LCMS), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước đá lạnh (500ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 200ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và làm bay hơi trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (dung môi rửa giải: EtOAc/PE với lượng nằm trong khoảng từ 20-70%; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 39% (15g, chất gồm có màu nâu).

LCMS: (phương pháp E) 641,3 (M⁺+H), thời gian lưu 2,93 phút, 75,38% (tối đa).

Chế phẩm 2:

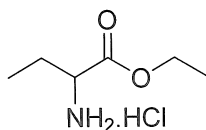
Kali *tert*-butoxit (99mg, 0,88mmol) được bổ sung vào hỗn dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxibenzyl)-7-(methylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (500mg, 0,88mmol) trong THF (5ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 10 phút ở nhiệt độ phòng. Sau đó, β-propiolacton (76mg, 1,05mmol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được axit hóa bằng HCl 1,5N ở 0°C và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 10ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và làm bay hơi trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột nhanh (dung môi rửa giải: 10-50% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 53% (300mg, chất rắn có màu trắng).

LCMS: (Phương pháp D) 641.3 (M⁺⁺ H), thời gian lưu 3,48 phút, 96,63% (tối đa).

LCMS: (phương pháp D) 641,3 (M⁺+H), thời gian lưu 3,48 phút, 96,63% (tối đa).

Chất trung gian 3

Etyl 2-aminobutanoat hydroclorua

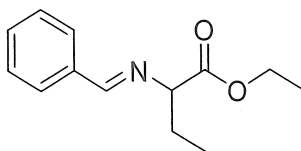


Thionyl clorua (78ml, 1,07mol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa axit 2-aminobutanoic (100g, 0,97mol) trong etanol (750ml) ở 0°C. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 80°C. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định thô, hợp chất này được dùng được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 93% (152g, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,66 (bs, 3H), 4,25-4,16 (m, 2H), 3,98-3,85 (m, 1H), 1,84 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H), 1,23 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H), 0,92 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Chất trung gian 4

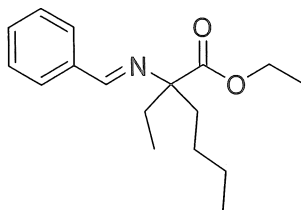
Etyl (*E*)-2-(benzylid eneamino) butanoat



Triethyl amin (152ml, 1,09mol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa etyl 2-aminobutanoat hydroclorua (chất trung gian 3; 152g, 0,91mol) trong DCM (900ml) ở 0°C trong 30 phút. Magiê sulfat (98g, 0,82mol) được bổ sung từng phần vào hỗn hợp phản ứng ở 0°C. Sau đó, benzaldehyt (84ml, 0,82mol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 20 phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và dịch lọc được cô đặc trong chân không. Hòa tan sản phẩm thô thu được trong ete dầu mỏ (1000ml) và lọc lần nữa qua xelit. Sau đó, dịch lọc được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định. Chất thô này được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 90% (180g, chất lỏng có màu nâu nhạt).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,40 (s, 1H), 7,79-7,76 (m, 2H), 7,49-7,47 (m, 3H), 4,16-4,10 (m, 2H), 3,98-3,95 (m, 1H), 1,92-1,89 (m, 1H), 1,79-1,74 (m, 1H), 1,19 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 0,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H).

Chất trung gian 5

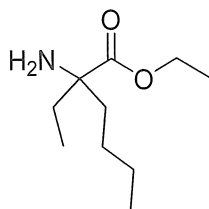
Etyl (*E*)-2-(benzylideneamino)-2-ethylhexanoat

Etyl (*E*)-2-(benzylideneamino)butanoat (chất trung gian 4; 180g, 0,82mol) trong DMF (800ml) được bổ sung từ từ vào dung dịch đã khuấy chứa NaH (60%; 32,8g, 0,82mol) trong DMF (100ml) ở 0°C trong 30 phút. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng. *n*-Butyl iodua (93ml, 0,82mol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở 0°C và hỗn hợp này được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng 2-propanol (100ml) ở 0°C và sau đó được hòa tan bằng nước (1000ml). Lớp nước được chiết bằng ete dầu mỏ (1000ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (200ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không và dùng chất thô thu được cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 88% (200g, chất lỏng có màu vàng).

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

Chất trung gian 6

Etyl 2-amino-2-ethylhexanoat



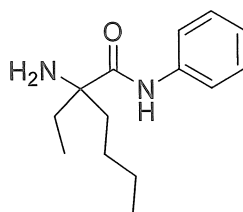
HCl loãng (1000ml, 1,5 N) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa etyl (*E*)-2-(benzylideneamino)-2-ethylhexanoat (chất trung gian 5; 200g, 0,73mol) trong ete dầu mỏ (500ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), lớp hữu cơ được tách ra và lớp nước được rửa bằng EtOAc (2 x 100ml). Sau đó, lớp nước được bazơ hóa (độ pH ~8,5) bằng cách sử dụng natri bicarbonat rắn (200 g) và được chiết bằng EtOAc (2 x 200ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 15ml). Làm khô phần hữu cơ hòa hợp

bằng Na_2SO_4 khan và cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định. Chất thô này được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 80% (110g, chất lỏng có màu vàng nhạt).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 4,08 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 1,68 - 1,00 (m, 13H), 0,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H), 0,77 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H).

Chất trung gian 7

2-amino-2-etyl-N-phenylhexanamit

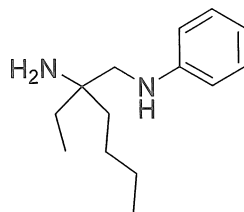


Bổ sung từng giọt $n\text{-BuLi}$ (2,6M trong hexan; 205ml, 534mmol) vào dung dịch đã khuấy chứa anilin (48,3ml, 534mmol) trong THF (250ml) ở -78°C trong 30 phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 45 phút ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -25°C đến -30°C . Sau đó, etyl 2-amino-2-ethylhexanoat (chất trung gian 6; 50g, 267mmol) trong THF (250ml) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở -78°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở -78°C . Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng nước (500ml) ở -78°C . Hỗn hợp phản ứng được chiết bằng EtOAc (2 x 250ml) và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 15ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định dưới dạng thô. Hòa tan sản phẩm thô này trong ete dầu mỏ (1000ml). Phần hữu cơ được rửa bằng 30% metanol trong nước (2 x 250ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không và dùng chất thô thu được cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 66g (chất lỏng thô có màu nâu).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,64 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,30 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,05 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H), 6,55 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H), 1,76-1,07 (m, 10H), 0,86-0,77 (m, 6H).

Chất trung gian 8

2-ethyl-N1-phenylhexan-1,2-điamin

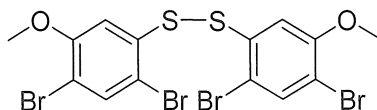


Boran đimetylsulfit (2M trong THF, 253ml, 0,51mol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 2-amino-2-ethyl-*N*-phenylhexanamit (chất trung gian 7; 66g, 0,28mol) trong THF (600ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 70°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng metanol (300ml) ở 0°C. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 2 giờ ở 70°C. Hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không và hòa tan cạn thu được trong EtOAc (1000ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 150ml), được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 40% EtOAc trong hexan; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 82% (50g, chất lỏng có màu nâu).

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

Chất trung gian 9

1,2-Bis(2,4-đibromo-5-metoxyphenyl)disulfan



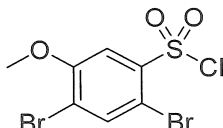
Bổ sung từng giọt brom (73ml, 1,4mol) vào dung dịch đã khuấy chứa 3-metoxybenzenthionol (100g, 0,7mol) trong metanol (1000ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Hỗn hợp phản ứng được làm bay hơi trong chân không và pha loãng chất thô thu được bằng EtOAc (2000ml) và rửa chất thô này bằng nước (2 x 500ml). Lớp hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô đặc trong chân không. Hòa tan sản phẩm thô thu được trong axit axetic băng (600ml), bổ sung từng giọt brom (20ml) ở nhiệt độ phòng và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt

độ phòng. Lọc chất rắn thu được, nghiền nhỏ chất rắn này bằng DCM và sấy trong chân không để tạo ra hợp chất danh định tinh khiết. Hiệu suất: 37% (78g, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,69 (s, 2H), 7,17 (s, 2H), 3,84 (s, 6H).

Chất trung gian 10

2,4-đibromo-5-metoxysulfonyl clorua

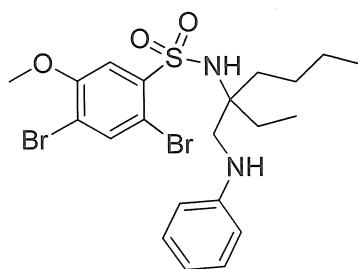


Sulfonyl clorua (13,6ml, 168,35mmol) được bổ sung từng giọt vào hỗn dịch đã khuấy chứa 1,2-bis(2,4-đibromo-5-metoxyphenyl)disulfan (chất trung gian 9; 20,0g, 33,67mmol) và kali nitrat (17,02g, 168,35mmol) trong axetonitril (200ml) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được rót vào đá đã được đập nhỏ và lọc bỏ chất rắn thu được. Rửa chất rắn này bằng nước và sấy trong chân không để tạo ra hợp chất danh định tinh khiết. Hiệu suất: 91% (22,5g, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,05 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 4,01 (s, 3H).

Chất trung gian 11

2,4-đibromo-5-metoxy-N-(3-((phenylamino)methyl)heptan-3-yl)benzen-sulfonamid



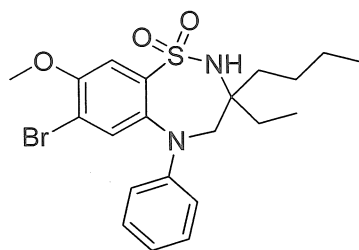
2,4-đibromo-5-metoxysulfonyl clorua (chất trung gian 10; 10,5g, 28,91mmol) và triethylamin (9,3ml, 67,02mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 2-etyl-N1-phenylhexan-1,2-điamin (chất trung gian 8; 4,9g; 22,34mmol) trong THF (10ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (50ml). Lọc hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 15ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không và tinh chế sản phẩm

thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 10% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 59% (7,2g, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 8,01 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,03 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 6,54 - 6,46 (m, 3H), 4,80 (t, J = 5,1 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,07-2,96 (m, 2H), 1,66-1,41 (m, 4H), 1,15-0,95 (m, 4H), 0,78-0,69 (m, 6H).

Chất trung gian 12

7-bromo-3-butyl-3-ethyl-8-methoxy-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit

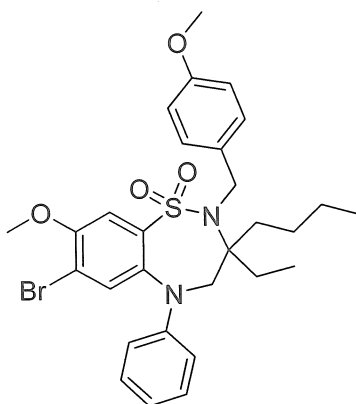


Kali carbonat (3,62g, 26,2mmol) và bột đồng (834mg, 13,1mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 2,4-đibromo-5-methoxy-*N*-(3-((phenylamino)metyl)heptan-3-yl)benzensulfonamit (chất trung gian 11; 7,2g, 13,1mmol) trong DMF (50ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 24 giờ ở 150°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và được rửa bằng EtOAc (25ml). Phần dịch lọc được cô đặc trong chân không và tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 20% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 83% (5,1g, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,43-7,30 (m, 4H), 7,15-7,13 (m, 2H), 7,03-7,01 (m, 2H), 4,00-3,60 (m, 5H), 1,62-1,34 (m, 4H), 1,08-0,95 (m, 4H), 0,74-0,71 (m, 6H). LCMS: (phương pháp A) 467,0 (M^+), thời gian lưu 3,06 phút, 95,31% (tối đa).

Chất trung gian 13

7-bromo-3-butyl-3-etyl-8-metoxi-2-(4-metoxibenzyl)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit

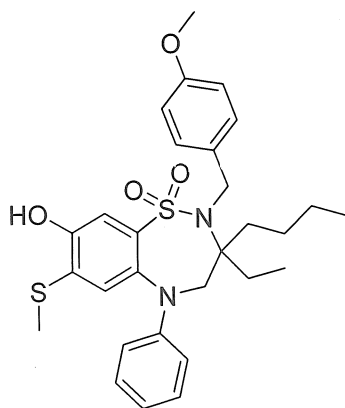


Cs₂CO₃ (27,8g, 85,5mmol) và p-metoxibenzyl bromua (7,98ml, 39,5mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 7-bromo-3-butyl-3-etyl-8-metoxi-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (chất trung gian 12; 20,0g, 42,7mmol) trong *N*-metyl-2-pyrrolidon (100ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (200ml) và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 50ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 10% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 64% (16g, chất rắn có màu trắng).

LCMS: (phương pháp A) 587,2 (M⁺), thời gian lưu 3,51 phút, 92,94% (tối đa).

Chất trung gian 14

3-butyl-3-etyl-8-hydroxy-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit

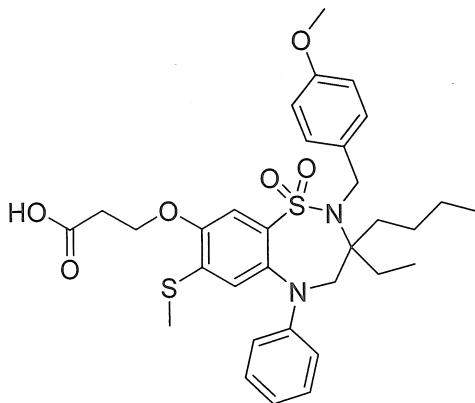


Natri thiometoxit (9,5g, 136,1mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 7-bromo-3-butyl-3-etyl-8-metoxi-2-(4-metoxibenzyl)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (chất trung gian 13; 16,0g, 27,2mmol) trong DMF (120ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 60°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp LCMS), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng EtOAc (200ml) và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 50ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, sau đó cô đặc trong chân không và tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 10% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 65% (9,2g, chất rắn có màu trắng).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,37 (bs, 1H), 7,31-7,22 (m, 5H), 7,01-6,65 (m, 6H), 4,32-4,13 (m, 2H), 4,10-3,90 (m, 2H), 3,74 (s, 3H), 2,15 (s, 3H), 1,62-1,34 (m, 4H), 1,08-0,98 (m, 4H), 0,74-0,65 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 541,2 (M⁺+H), thời gian lưu 2,86 phút, 93,67% (tối đa).

Chất trung gian 15

Axit 3-((3-butyl-3-etyl-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic



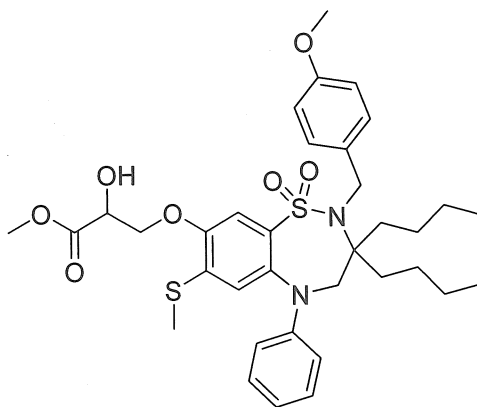
Kali *tert*-butoxit (208mg, 1,85mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3-butyl-3-etyl-8-hydroxy-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (chất trung gian 14; 1g, 1,85mmol) trong THF (3ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 15 phút. Sau đó, bổ sung từng giọt dung dịch β-propiolacton (148mg, 2,03mmol) trong THF (2ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 5ml) và

sau đó được hòa tan bằng nước (5ml). Lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 20ml) và lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (20ml) và nước muối (20ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc, cô đặc trong chân không và tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 35% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 48% (550mg, chất rắn có màu trắng).

LCMS: (phương pháp A) 613,3 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 3,04 phút, 91,99% (tối đa).

Chất trung gian 16

Metyl 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat

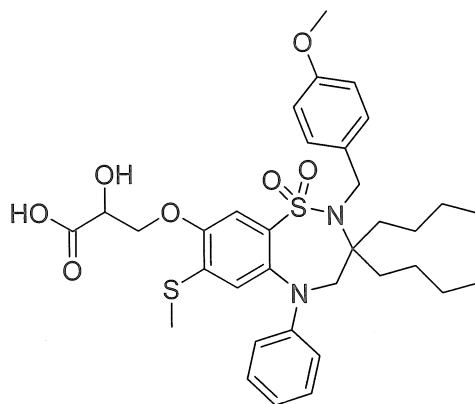


Cs_2CO_3 (0,57g, 1,76mmol) và metyl-2,3-epoxypropanoat (0,18g, 1,76mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (500mg, 0,87mmol) trong DMF (10ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 12 giờ ở 50°C . Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng nước (10ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 15ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (15ml) và nước muối (15ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 20% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 33% (200mg, chất gồm không màu).

LCMS: (phương pháp A) 671,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 3,32 phút, 44,28% (tối đa).

Chất trung gian 17

Axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic

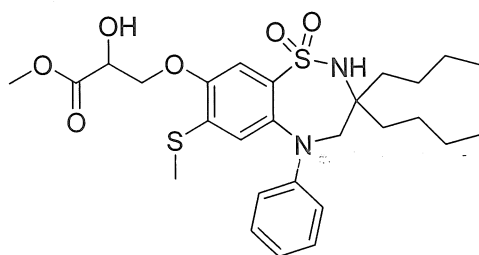


HCl loãng (6N, 3ml) được bổ sung vào dung dịch methyl 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat (chất trung gian 16; 200mg, 0,31mmol) trong 1,4-dioxan (3ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 80°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước rất lạnh (5ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 10ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Dùng chất thô thu được cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 200 mg (chất gồm thô, không màu).

LCMS: (phương pháp A) 657,2 (M⁺+H), thời gian lưu 3,0 phút, 36,70% (tối đa).

Chất trung gian 18

Methyl 3-((3,3-đibutyl-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat



Cs₂CO₃ (0,92g, 0,003mmol) và methyl-2,3-epoxypropanoat (1,28g, 0,0126mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-8-hydroxy-7-(methylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (0,63g, 0,002mmol) trong

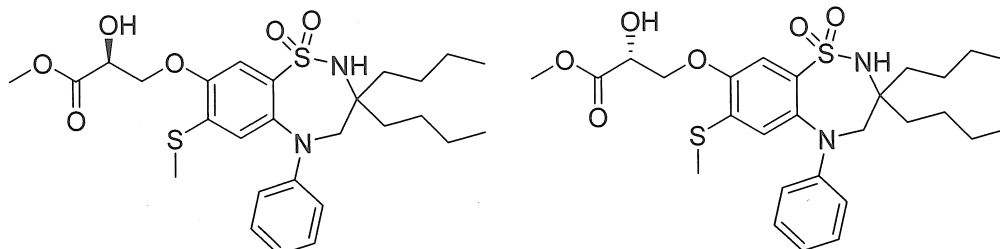
DMF (9ml); bổ sung từng phần với 3 lượng bằng nhau trong 72 giờ) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 72 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 20ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 50ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (20ml) và nước muối (20ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 25% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 28% (220mg, chất rắn có màu trắng).

LCMS: (phương pháp E) 550,8 (M⁺+H), thời gian lưu 3,22 phút, 92,74% (tối đa).

HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 6,15 phút, 94,48% (tối đa).

Chất trung gian 19

Metyl (S)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat và metyl (R)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat



Hai chất đồng phân đối ảnh của metyl 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat triệt quang (chất trung gian 18; 216mg, 0,39mmol) được tách bằng phương pháp SFC bất đối xứng (phương pháp A). Chất này được cô đặc trong chân không ở 40°C. Phần giải hấp thứ nhất tương ứng với chất đồng phân đối ảnh 1 và phần giải hấp thứ hai tương ứng với chất đồng phân đối ảnh 2. Cấu hình tuyệt đối của hai chất đồng phân đối ảnh này là chưa biết.

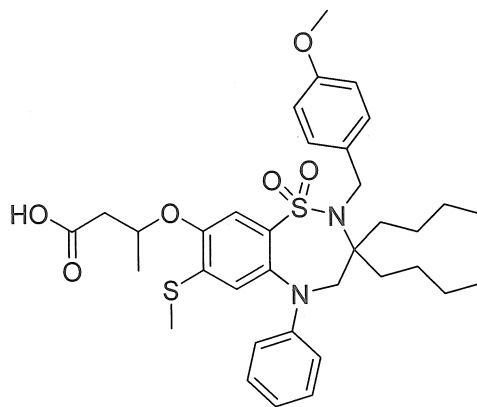
Sau đó, mỗi phần trong số hai phần này được xử lý riêng biệt để tinh chế thêm. Axit hóa cạn thu được bằng HCl loãng (1,5N, pH~4) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (3 X 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không ở 40°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh tinh khiết của hợp chất danh định.

Chất đồng phân đối ảnh 1: Hiệu suất: 46% (100mg, chất gồm không màu). LCMS: (phương pháp E) 551,2 ($M^+ + H$), thời gian lưu 2,77 phút, 98,09% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp A) thời gian lưu 3,58 phút, 99,10% (tối đa)

Chất đồng phân đối ảnh 2: Hiệu suất: 41% (90mg, chất gồm không màu). LCMS: (phương pháp E) 551,1 ($M^+ + H$), thời gian lưu 2,77 phút, 91,29% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp A) thời gian lưu 4,59 phút, 99,24% (tối đa)

Chất trung gian 20

Axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic

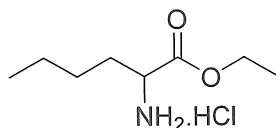


Kali *tert*-butoxit (65mg, 0,58mmol) và β -butyrolacton (68mg, 0,79mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (300mg, 0,52mmol) trong THF (10ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 60°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 5ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 10ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 40% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 72% (250mg, chất gồm không màu).

LCMS: (phương pháp E) 655,3 ($M^+ + H$), thời gian lưu 3,03 phút, 89,11% (tối đa).

Chất trung gian 21

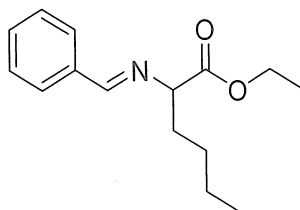
Etyl 2-aminohexanoat hydroclorua



Thionyl clorua (60,8ml, 0,84mol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa DL-Norloxin (100g, 0,76mol) trong etanol (1l) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 80°C. Sau khi phản ứng kết thúc, hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định thô, hợp chất này được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 97% (145g, chất rắn, nhớt, có màu nâu).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,80 (s, 3H), 4,33-4,23 (m, 2H), 4,09-4,07 (m, 1H), 2,09-2,04 (m, 2H), 1,61-1,56 (m, 1H), 1,48-1,33 (m, 6H), 1,03-0,88 (m, 3H).

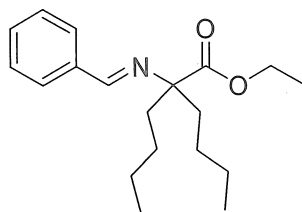
Chất trung gian 22

Etyl (*E*)-2-(benzylideneamino)hexanoat

Triethylamin (124ml, 1,2mol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa etyl 2-aminohexanoat hydroclorua (chất trung gian 21; 145g, 0,74mol) trong DCM (1,5l) ở 0°C trong 30 phút. Sau đó, magiê sulfat (89,2g, 0,74mol) được bổ sung từng phần vào hỗn hợp phản ứng ở 0°C. Sau đó, benzaldehyt (75,6ml, 0,74mol) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở 0°C trong 20 phút và sau đó hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và dịch lọc được cô đặc trong chân không. Hòa tan sản phẩm thô thu được trong ete dầu mỏ (1000ml), được lọc lần nữa qua xelit và dịch lọc được cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định. Chất thô này được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 98% (180g, chất lỏng có màu nâu).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 8,30 (s, 1H), 7,82-7,80 (m, 2H), 7,47-7,42 (m, 3H), 4,26-4,20 (m, 2H), 3,99-3,95 (m, 1H), 2,06-2,00 (m, 1H), 1,96-1,89 (m, 1H), 1,40-1,24 (m, 7H), 0,95-0,91 (m, 3H).

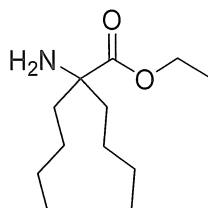
Chất trung gian 23

Etyl (*E*)-2-(benzylideneamino)-2-butylhexanoat

Dung dịch etyl (*E*)-2-(benzylideneamino) hexanoat (chất trung gian 22; 180g, 0,73mol) trong DMF (250ml) được bổ sung từ từ vào dung dịch đã khuấy chứa NaH (60%, 29,1g, 0,73mol) trong DMF (250ml) ở 0°C trong 30 phút. Hỗn hợp phản ứng được khuấy 1,5 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau đó, dung dịch *n*-butyl iodua (82,7ml, 0,73mol) trong DMF (250ml) được bổ sung ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước (1000ml) và lớp nước được chiết bằng ete dầu mỏ (1000ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước muối (200ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không và dùng chất thô thu được cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 95% (210g, chất lỏng có màu nâu).

Chất trung gian 24

Etyl 2-amino-2-butylhexanoat



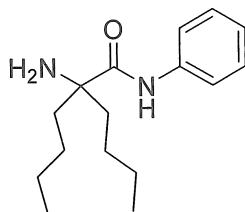
HCl loãng (1000ml, 1,5 N) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa etyl (*E*)-2-(benzylideneamino)-2-butylhexanoat (chất trung gian 23; 210g, 0,76mol) trong ete dầu mỏ (1000ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy mạnh trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), lớp hữu cơ được tách ra và được rửa bằng EtOAc (2 x 100ml). Sau đó, lớp nước được bazơ hóa (độ pH ~10) bằng cách sử dụng dung dịch natri hydroxit và được chiết bằng DCM (2 x 1000ml). Phần hữu cơ hóa hợp được rửa bằng nước (2 x 1000ml), nước muối (1000ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không để tạo

ra hợp chất danh định, hợp chất này được dùng cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 52% (85g, chất lỏng có màu nâu).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 4,11-4,04 (m, 2H), 1,78-1,61 (m, 4H), 1,60-1,51 (m, 3H), 1,50-1,22 (m, 7H), 1,20-0,99 (m, 3H), 0,95-0,75 (m, 6H).

Chất trung gian 25

2-amino-2-butyl-N-phenylhexanamit

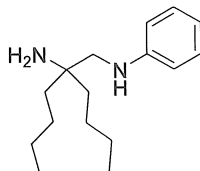


Bổ sung từng giọt *n*-BuLi (2,6M trong hexan, 250,7ml, 627mmol) vào dung dịch đã khuấy chứa anilin (19,1ml, 209mmol) trong THF (250ml) ở -78°C trong 30 phút và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 45 phút ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -25°C đến -30°C . Sau đó, dung dịch ethyl 2-amino-2-butylhexanoat (chất trung gian 24; 45g, 209mmol) trong THF (200ml) được bổ sung vào hỗn hợp phản ứng ở -78°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ đó. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng làm nguội bằng isopropanol (100ml) -78°C và sau đó nước rất lạnh (500ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Phần nước được chiết bằng EtOAc (2 x 250ml) và lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (2 x 50ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và cô đặc trong chân không để tạo ra hợp chất danh định dưới dạng thô. Hòa tan chất thô thu được trong ete dầu mỏ (1000ml), rửa bằng metanol 30% trong nước (2 x 250ml) và làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không và dùng chất thô thu được cho bước tiếp theo mà không cần tinh chế thêm. Hiệu suất: 60g (chất lỏng thô có màu nâu).

LCMS: (phương pháp A) 263,3 (M^+), thời gian lưu 1,29 phút, 95,84% (tối đa).

Chất trung gian 26

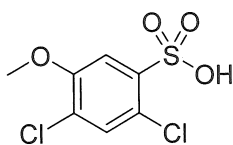
2-butyl-N1-phenylhexan-1,2-điamin



Phức boran đimetyl sulfua (2M trong THF, 476ml, 0,95mol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 2-amino-2-butyl-N-phenylhexanamit (chất trung gian 25; 100g, 0,38mol) trong THF (1l) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 70°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng metanol (300ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 2 giờ ở 70°C. Sau đó, hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không. Hòa tan cặn thu được trong EtOAc (1000ml) và lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 300ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được cô đặc trong chân không và tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 0-25% EtOAc trong hexan; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 39% (37g, chất lỏng có màu nâu).

Chất trung gian 27

Axit 2,4-điclo-5-metoxybenzensulfonic

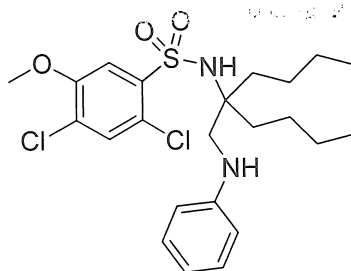


2,4-đicloanisol (20g, 113mmol) được bổ sung từng phần vào dung dịch đã khuấy chứa axit closulfonic (60ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ 0 đến 10°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được rót lên đá đã được đập nhỏ, khuấy mạnh và lọc chất rắn thu được. Chất rắn này được rửa vài lần bằng nước rất lạnh (50ml), ete dầu mỏ (50ml) và sau đó sấy trong chân không để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 70% (19g, chất rắn có màu trắng nhạt).

LCMS: (phương pháp A) 255,0 (M⁺-H), thời gian lưu 2,66 phút, 96,06% (tối đa).

Chất trung gian 28

2,4-điclo-5-metoxy-N-(5-((phenylamino)metyl)nonan-5-yl)benzensulfonamit

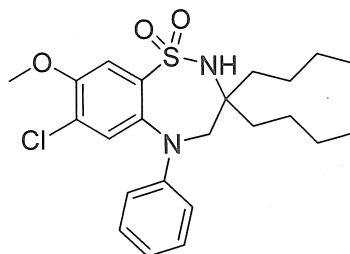


Dung dịch axit 2,4-điclo-5-metoxysulfonic (chất trung gian 27; 10g, 41,5mmol) trong SOCl_2 (20ml) được đun nóng trong 12 giờ ở 70°C . Sau khi các chất ban đầu phản ứng hết, hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không và hòa tan cạn thu được trong THF (50ml). Và sau đó 2-butyl-N1-phenyl-hexan-1,2-điamin(chất trung gian 26; 12,4g, 49,9mmol) được bổ sung vào dung dịch triethylamin (17ml, 124,7mmol) trong THF (100ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 4 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng nước rất lạnh (30ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 100ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (100ml) và nước muối (100ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 25-35% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 40% (8g, chất rắn có màu trắng nhạt).

LCMS: (phương pháp E) 487,1 ($\text{M}^+\text{+H}$), thời gian lưu 2,93 phút, 43,66% (tối đa).

Chất trung gian 29

3,3-đibutyl-7-clo-8-metoxy-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit

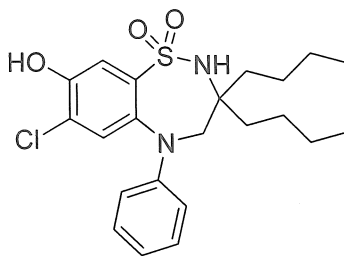


K_2CO_3 khan (2,26g, 16,42mmol) và bột đồng (0,52g, 8,21mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 2,4-điclo-5-metoxy-N-((phenylamino)metyl)nonan-5-yl)benzensulfonamit (chất trung gian 28; 4g, 8,21mmol) trong DMF (20ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 120°C . Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được lọc qua xelit và miếng xelit này được rửa bằng DCM (10ml). Dịch lọc được cô đặc trong chân không và tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 2-20% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 24% (900mg, chất rắn có màu trắng nhạt).

LCMS: (phương pháp E) 451,1 ($\text{M}^+\text{+H}$), thời gian lưu 2,96 phút, 34,15% (tối đa).

Chất trung gian 30

3,3-đibutyl-7-clo-8-hydroxy-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit

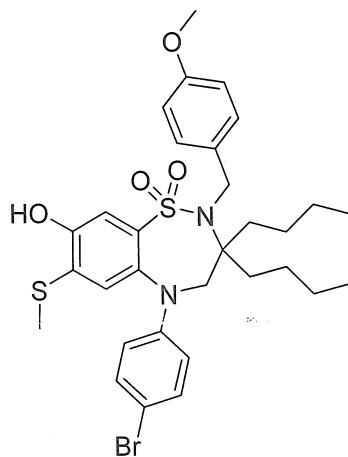


BBr_3 (1M trong DCM; 4ml, 4mmol) được bổ sung vào dung dịch 3,3-đibutyl-7-clo-8-metoxi-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (chất trung gian 29; 0,9g, 1,2mmol) trong DCM (4ml) ở -78°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ nằm trong khoảng từ -10°C đến 0°C . Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm lạnh bằng nước rất lạnh (10ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 0-20% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 22% (195mg, chất gồm có màu vàng).

LCMS: (phương pháp E) 437,1 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,80 phút, 53,01% (tối đa).

Chất trung gian 31

5-(4-bromophenyl)-3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit



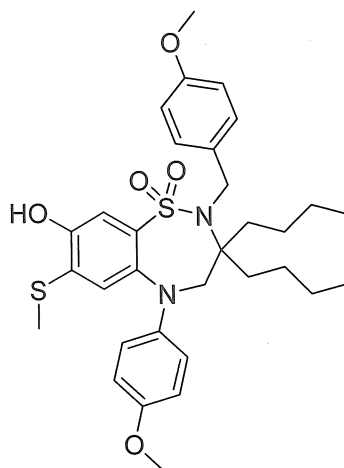
Dung dịch N-bromosuccinimide (1,03g, 5,80mmol) trong DMF (12ml) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-

5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (3g, 5,27mmol) trong DMF (18ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được rót vào nước rất lạnh (20ml), được khuấy và lọc. Tinh chế chất rắn thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 25% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 82% (2,8g, chất rắn có màu trắng).

LCMS: (phương pháp B) 648,2 ($M^+ + 2$), thời gian lưu 4,65 phút, 67,27% (tối đa).

Chất trung gian 32

3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxymethyl)-5-(4-metoxyphenyl)-7-(methylthio)-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit

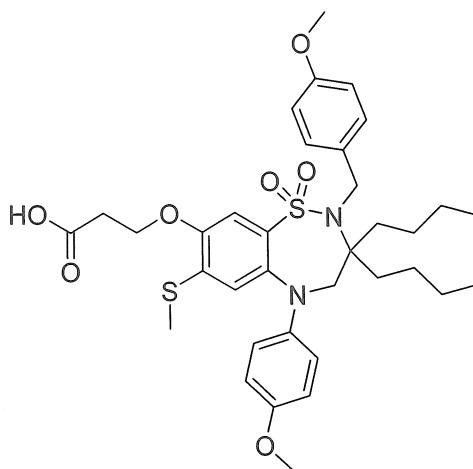


Đồng (I) bromua (44mg, 0,31mmol) được bổ sung vào dung dịch 5-(4-bromophenyl)-3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (chất trung gian 31; 2,0g, 3,09mmol) trong DMF (20ml) ở 0°C, sau đó dung dịch natri metoxit mới chuẩn bị (được chuẩn bị *in situ* bằng cách bổ sung natri (0,35g, 15,4mmol) vào metanol khô (10ml)). Sau đó, hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 24 giờ ở 100°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp UPLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 10ml) và lớp nước được chiết bằng hỗn hợp bao gồm EtOAc và PE (2 x 30ml) với tỷ lệ 1:1. Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (50ml) và nước muối (50ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 20% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 81% (1,5g, chất rắn màu vàng nhạt).

LCMS: (phương pháp E) 599,3 ($M^+ + H$), thời gian lưu 3,38 phút, 99,50% (tối đa).

Chất trung gian 33

Axit 3-(((3,3-đibutyl-2-(4-metoxybenzyl)-5-(4-metoxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic

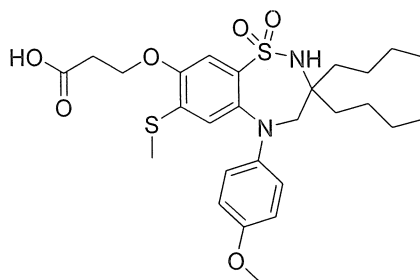


Kali *tert*-butoxit (326mg, 2,9mmol) được bổ sung vào dung dịch 3,3-đibutyl-8-hydroxy-2-(4-metoxybenzyl)-5-(4-metoxyphenyl)-7-(methylthio)-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (chất trung gian 32; 1,5g, 2,64mmol) trong THF (20ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 10 phút ở 0°C. Sau đó, β -propiolacton (209mg, 2,9mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 20ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 30ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (30ml) và nước muối (30ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 0-70% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 48% (850mg, chất rắn có màu trắng). .

LCMS: (phương pháp E) 670,8 (M⁺+H), thời gian lưu 3,37 phút, 94,99% (tối đa).

Chất trung gian 34

Axit 3-(((3,3-đibutyl-5-(4-metoxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic

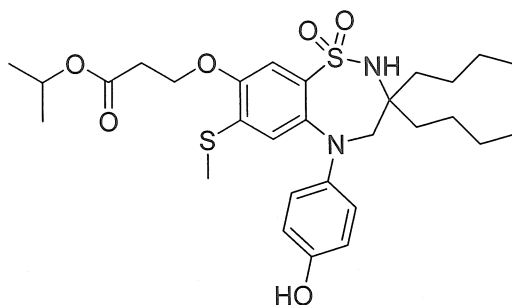


Triphenylamin (621mg, 2,54mmol) được bổ sung vào dung dịch axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-5-(4-metoxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic (chất trung gian 33; 850mg, 1,27mmol) trong toluen (10ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 10 phút ở 0°C. Sau đó, TFA (1,9ml, 25,4mmol) được bổ sung và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 0-5% MeOH/DCM; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 92% (650mg, chất rắn có màu trắng nhạt).

LCMS: (phương pháp E) 550,8 ($M^+ + H$), thời gian lưu 3,24 phút, 94,98% (tối đa).

Chất trung gian 35

Isopropyl 3-((3,3-đibutyl-5-(4-hydroxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoat



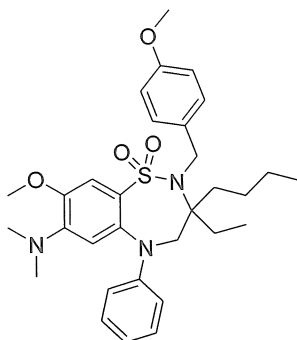
BBr_3 (1,1ml, 1,09mmol) được bổ sung vào dung dịch axit 3-((3,3-đibutyl-5-(4-metoxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic (chất trung gian 34; 300mg, 0,54mmol) trong DCM (10ml) ở -78°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 2 giờ ở -30°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được theo dõi bằng phương pháp UPLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng rượu isopropyl và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 0-5% MeOH/DCM; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 150 mg (chất rắn có màu trắng nhạt).

LCMS: (phương pháp A) 578,8 ($M^+ + H$), thời gian lưu 2,88 phút, 83,38% (tối đa).

(Lưu ý: trong quá trình dừng phản ứng bằng rượu isopropyl, sản phẩm este hóa của hợp chất mong muốn đã được quan sát, được chỉ ra bằng phương pháp LCMS)

Chất trung gian 36

3-butyl-7-(dimethylamino)-3-ethyl-8-metoxi-2-(4-metoxibenzyl)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit

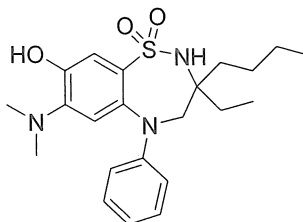


Natri *tert*-butoxit (1,2g, 12,6mmol), xantphos (0,073g, 0,13mmol) và Pd_2dba_3 (0,058g, 0,06mmol) được bổ sung vào dung dịch đã được khử khí chứa 7-bromo-3-butyl-3-ethyl-8-metoxi-2-(4-metoxibenzyl)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (chất trung gian 13; 3,5g, 6,34mmol) trong 1,4-dioxan (35ml) và dung dịch này được khử khí trong 10 phút trong khí N_2 . Bổ sung *N,N*-dimetylamin (3,5ml, 31,7mmol) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 48 giờ ở 100°C . Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được cô đặc và pha loãng cạn thu được bằng EtOAc (75ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 75ml) và nước muối (75ml), được làm khô bằng Na_2SO_4 khan và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 30% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 40% (1,4g, chất gồm có màu nâu).

^1H NMR (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: (phương pháp E) 552,1 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,80 phút, 81,8% (tối đa).

Chất trung gian 37

3-butyl-7-(dimethylamino)-3-ethyl-8-hydroxy-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit

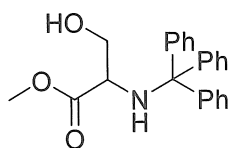


Natri metoxit (0,5g, 6,32mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3-butyl-7-(dimethylamino)-3-etyl-8-metoxy-2-(4-metoxybenzyl)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiäzepin 1,1-đioxit (chất trung gian 36; 0,7g, 1,22mmol) trong DMF (10ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 100°C. Sau khi kết thúc phản ứng (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC và LCMS), hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không và pha loãng cạn thu được bằng EtOAc (20ml). Lớp hữu cơ được rửa bằng nước (2 x 20ml) và nước muối (20ml), được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và cô đặc trong chân không. Tinh chế sản phẩm thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 70% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 60% (0,4g, chất rắn có màu trắng nhạt).

LCMS: (phương pháp E) 418,2 (M⁺+H), thời gian lưu 2,14 phút, 88,9% (tối đa).

Chất trung gian 38

Metyl tritylserinat

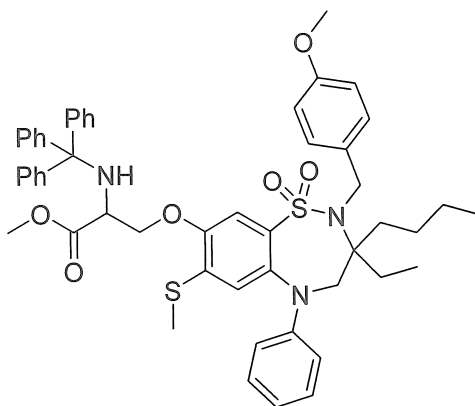


Trietylamin (2ml, 1,50mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa metyl serinat hydroclorua (0,65g, 0,5mmol) trong DCM (10ml) và hỗn hợp phản ứng được làm lạnh đến 0°C. Sau đó, bổ sung trityl clorua (1,67g, 0,6mmol) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng nước (10ml) và lớp nước được chiết bằng DCM (2 x 10ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 7% EtOAc /PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 33% (0,7g, chất rắn có màu trắng).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7,54-7,50 (m, 6H), 7,32-7,27 (m, 6H), 7,24-7,20 (m, 3H), 3,74-3,72 (m, 1H), 3,62-3,51 (m, 2H), 3,33 (s, 3H), 3,00 (bs, 1H), 2,33 (bs, 1H).

Chất trung gian 39

Metyl *O*-(3-butyl-3-etyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)-*N*-tritylserinat

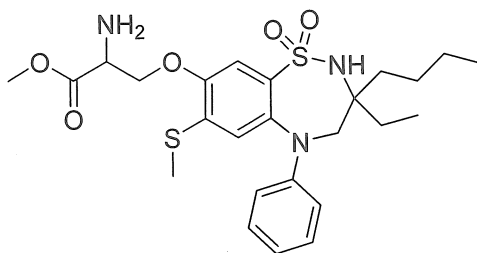


Triphenylphosphin (388mg, 1,48mmol) và methyl tritylserinat (chất trung gian 38; 333mg, 0,88mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3-butyl-3-etyl-8-hydroxy-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-dioxit (chất trung gian 14; 400mg, 0,74mmol) trong toluen (10ml) ở 0°C. Hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 5 phút, sau đó bổ sung từng giọt DIAD (225mg, 1,11mmol) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 3 giờ ở 120°C. Sau khi kết thúc phản ứng (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không. Pha loãng cặn thu được bằng nước (10ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 10ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 10-25% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 99% (660mg, chất rắn có màu trắng nhạt).

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

Chất trung gian 40

Metyl *O*-(3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiázepin-8-yl)serinat

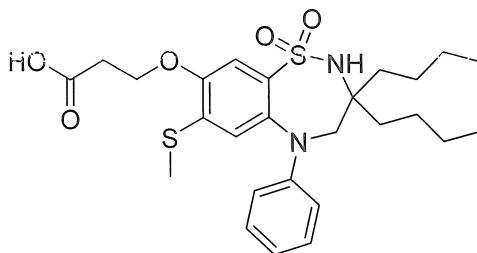


Triphenylamin (166mg, 0,67mmol) và TFA (774mg, 6,78mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa metyl *O*-(3-butyl-3-etyl-2-(4-metoxibenzyl)-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiázepin-8-yl)-*N*-tritylserinat (chất trung gian 39; 300mg, 0,44mmol) trong toluen (5ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được rót vào nước rất lạnh (10ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 10ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml). Sau đó, phần hữu cơ được làm khô bằng Na₂SO₄ khan, được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 25% MeOH/DCM; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 79% (140mg, chất rắn có màu xanh lá cây).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,36-7,29 (m, 4H), 7,20-7,14 (m, 2H), 7,02-6,98 (m, 1H), 6,52 (s, 1H), 4,42 (s, 1H), 4,33 (s, 2H), 3,78-3,72 (m, 5H), 2,08 (s, 3H), 1,40-1,35 (m, 2H), 1,28-1,24 (m, 2H), 1,20-1,15 (m, 3H), 1,13-1,08 (m, 3H), 1,04-0,97 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 522,3 (M⁺+H), thời gian lưu 2,51 phút, 92,42% (tối đa).

Ví dụ 1

Axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiázepin-8-yl)oxy)propanoic

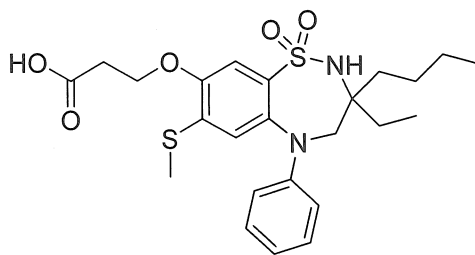


TFA (45ml) và triethylsilan (45ml) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic (chất trung gian 2; 15g, 23,41mmol) trong DCM khô (150ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp LCMS), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước đá (25ml). Lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 100ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được làm khô bằng Na₂SO₄ khan và làm bay hơi trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp HPLC điều chế (Prep-HPLC - phương pháp D) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 47% (5,8g, chất rắn có màu trắng nhạt).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,44 (bs, 1H), 7,29 - 7,19 (m, 4H), 7,18 - 7,02 (m, 2H), 6,98 - 6,89 (m, 1H), 6,58 - 6,54 (m, 1H), 4,22 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,95 - 3,72 (m, 2H), 2,70 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,53 - 1,24 (m, 6H), 1,08 - 1,01 (m, 6H), 0,77 - 0,73 (m, 6H). LCMS: (phương pháp D) 521,3 (M⁺+H), thời gian lưu 2,92 phút, 99,24% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 6,22 phút, 98,91% (tối đa).

Ví dụ 2

Axit 3-((3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic

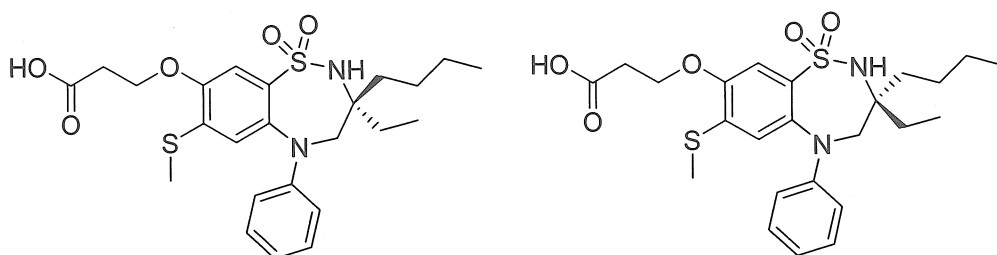


TFA (2ml) và triethylsilan (2ml) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa axit 3-((3-butyl-3-etyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic (chất trung gian 15; 550mg, 0,9mmol) trong DCM (6ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 20-60% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 67% (300mg, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, CD_3OD): δ 7,34-7,30 (m, 3H), 7,17 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,02 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H), 6,62 (s, 1H), 4,30 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,89 (s, 2H), 2,81 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,85-1,58 (m, 2H), 1,56-1,41 (m, 2H), 1,40-1,25 (m, 1H), 1,23-0,95 (m, 3H), 1,07-0,79 (m, 6H). LCMS: (phương pháp A) 493,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,65 phút, 94,21% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 5,62 phút, 94,00% (tối đa).

Các ví dụ 3 và 4

Axit (S)-3-((3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic và axit (R)-3-((3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic



Hai chất đồng phân đối ảnh của axit 3-((3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic triệt quang (300mg, 0,61mmol) được tách bằng phương pháp SFC bất đối xứng (phương pháp F). Chất này được cô đặc trong chân không ở 40°C . Phần giải hấp thứ nhất tương ứng với chất đồng phân đối ảnh 1 và phần giải hấp thứ hai tương ứng với chất đồng phân đối ảnh 2. Cấu hình tuyệt đối của hai chất đồng phân đối ảnh này là chưa biết.

Sau đó, mỗi phần trong số hai phần này được xử lý riêng biệt để tinh chế thêm. Axit hóa cạn thu được bằng HCl loãng (1,5N, pH~4) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (3 x 15ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (15ml) và nước muối (15ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không ở 40°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh tinh khiết của hợp chất danh định.

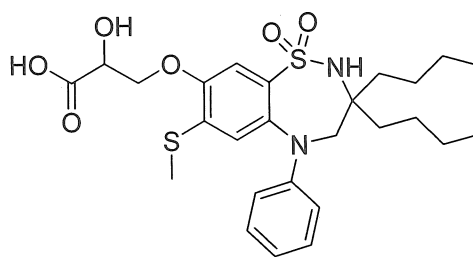
Chất đồng phân đối ảnh 1: Hiệu suất: 25% (75mg, chất rắn có màu nâu nhạt). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,42 (s, 1H), 7,28-7,20 (m, 4H), 7,09-7,07 (m, 1H), 6,93 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,59 (s, 1H), 4,23 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,77-2,69 (m, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,73-1,59 (m, 1H), 1,56-1,47 (m, 1H), 1,41-1,32 (m, 2H), 1,12-1,28 (m, 2H), 1,10-0,97 (m, 3H), 0,76 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H). LCMS: (phương pháp E) 493,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,54 phút, 95,95% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu

5,62 phút, 95,16% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp H) thời gian lưu 5,11 phút, 98,47% (tối đa).

Chất đồng phân đối ảnh 2: Hiệu suất: 33% (100mg, chất rắn có màu nâu nhạt). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 12,39 (s, 1H), 7,27-7,19 (m, 4H), 7,06 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H), 6,92 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,22 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,70 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 2,08 (s, 3H), 1,71-1,57 (m, 1H), 1,56-1,45 (m, 1H), 1,44-1,31 (m, 2H), 1,29-1,17 (m, 1H), 1,14-0,88 (m, 3H), 0,75-0,71 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 493,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,54 phút, 93,60% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 5,62 phút, 92,78% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp H) thời gian lưu 5,91 phút, 97,35% (tối đa).

Ví dụ 5

Axit 3-((3,3-đibutyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic



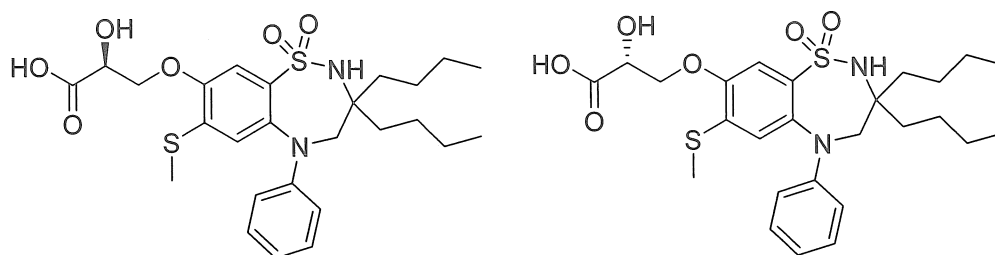
TFA (0,6ml, 3 vol) và triethylsilan (0,6ml, 3 vol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxibenzy)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic (chất trung gian 17; 200mg, 0,3mmol) trong DCM (10ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 16 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng nước rất lạnh (5ml) và lớp nước được chiết bằng DCM (2 x 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc, cô đặc trong chân không và tinh chế chất thô thu được bằng HPLC điều chế (phương pháp A) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 11% (18mg, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,29-7,21 (m, 4H), 7,19-7,01 (m, 2H), 6,93 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 4,35-4,17 (m, 1H), 4,03-3,91 (m, 2H), 3,51-3,35 (m, 2H), 2,10 (s, 3H), 1,56-0,97 (m, 12H), 0,75 (t, $J = 6,4$ Hz, 6H). LCMS: (phương pháp A)

537,3 ($M^+ + H$), thời gian lưu 2,73 phút, 94,57% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 5,79 phút, 96,65% (tối đa).

Các ví dụ 6 và 7

Axit (S)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic và axit (R)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic



HCl loãng (6N, 3ml) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa chất đồng phân đối ảnh 1 của methyl 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoat (chất trung gian 19; 90mg, 0,16mmol) trong 1,4-đioxan (2ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 16 giờ ở 75°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước rất lạnh (2ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (5ml) và nước muối (5ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc, cô đặc trong chân không và nghiền nhỏ chất thô thu được bằng ete dầu mỏ để tạo ra chất đồng phân đối ảnh 1 của hợp chất danh định.

Chất đồng phân đối ảnh 2 của hợp chất danh định thu được từ cùng một phương pháp, bắt đầu từ 80mg chất đồng phân đối ảnh 2 của chất trung gian 19. Cấu hình tuyệt đối của hai chất đồng phân đối ảnh này là chưa biết. .

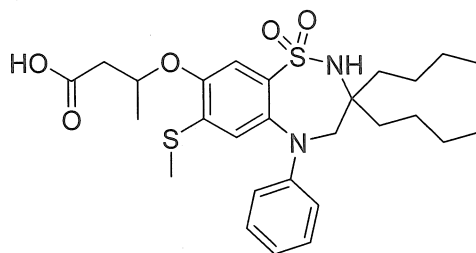
Chất đồng phân đối ảnh 1: Hiệu suất: 79% (70mg, chất rắn có màu trắng). 1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 12,74 (t, 1H), 7,26-7,22 (m, 4H), 7,13-7,11 (m, 2H), 6,95 (t, J = 6,8 Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,35-4,33 (m, 1H), 4,24-4,15 (m, 2H), 3,78 (bs, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 2H), 1,31-1,20 (m, 2H), 1,19-0,95 (m, 6H), 0,75 (t, J = 6,4 Hz, 6H). LCMS: (phương pháp D) 537,2 ($M^+ + H$), thời gian lưu 2,86 phút,

93,83% (tối đa). HPLC: (phương pháp A) thời gian lưu 5,43 phút, 93,28% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp H) thời gian lưu 3,34 phút, 100% (tối đa).

Chất đồng phân đối ảnh 2: Hiệu suất: 64% (50mg, chất rắn có màu trắng). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,30-7,22 (m, 4H), 7,13-7,11 (m, 2H), 6,97-6,95 (m, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,27-4,22 (m, 2H), 4,16-4,12 (m, 1H), 3,83 (bs, 2H), 2,09 (s, 3H), 1,53-1,51 (m, 2H), 1,41-1,33 (m, 2H), 1,31-1,20 (m, 2H), 1,19-0,95 (m, 6H), 0,75 (t, $J = 6,8$ Hz, 6H). LCMS: (phương pháp D) 537,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,86 phút, 96,22% (tối đa). HPLC: (phương pháp A) thời gian lưu 5,45 phút, 95,09% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp H) thời gian lưu 1,85 phút, 100% (tối đa).

Ví dụ 8

Axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiázepin-8-yl)oxy)butanoic

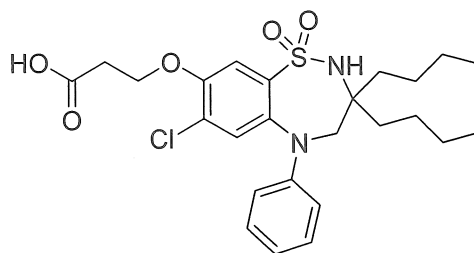


TFA (0,75ml, 3 vol) và trietylsilan (0,75ml, 3 vol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa axit 3-((3,3-đibutyl-2-(4-metoxymethyl)-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiázepin-8-yl)oxy)butanoic (chất trung gian 20; 250mg, 0,38mmol) trong DCM (10ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng nước rất lạnh (5ml) và lớp nước được chiết bằng DCM (2 x 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc, cô đặc trong chân không và tinh chế chất thô thu được bằng HPLC điều chế (phương pháp A) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 24% (50mg, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 7,34-7,18 (m, 4H), 7,15-7,05 (m, 2H), 6,97-6,88 (m, 1H), 6,53 (s, 1H), 4,75-4,72 (m, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,55-2,50 (m, 2H), 2,06 (s, 3H), 1,62-1,45 (m, 2H), 1,44-1,34 (m, 2H), 1,32-1,28 (m, 5H), 1,25-0,90 (m, 6H), 0,75-0,72 (m, 6H). LCMS: (phương pháp A) 535,3 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,95 phút, 98,47% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 6,29 phút, 96,34% (tối đa).

Ví dụ 9

Axit 3-((3,3-đibutyl-7-clo-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothia-diazepin-8-yl)oxy)propanoic

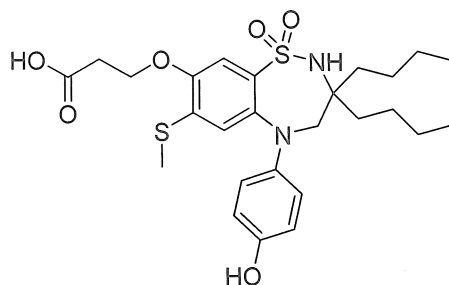


Kali *tert*-butoxit (56mg, 0,5mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3,3-đibutyl-7-clo-8-hydroxy-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (chất trung gian 30; 200mg, 0,45mmol) trong THF (3ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 15 phút. Sau đó, bổ sung từng giọt dung dịch β -propiolacton (32mg, 0,45mmol) trong THF (1ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 6 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 2ml) và sau đó được hòa tan bằng nước (2ml). Lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 5ml) và lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (5ml) và nước muối (5ml). Phần hữu cơ được làm khô bằng Na_2SO_4 khan, được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 3% MeOH/DCM; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 20% (45mg, chất rắn có màu trắng).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,30 (bs, 1H), 7,62-7,43 (m, 1H), 7,40-7,27 (m, 3H), 7,26-7,12 (m, 2H), 7,09-6,98 (m, 1H), 6,80 (s, 1H), 4,25 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,87 (bs, 2H), 2,72 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 1,56-1,45 (m, 2H), 1,44-1,31 (m, 2H), 1,29-1,19 (m, 2H), 1,15-0,91 (m, 6H), 0,89-0,72 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 509,1 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,78 phút, 96,38% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 6,18 phút, 96,38% (tối đa).

Ví dụ 10

Axit 3-((3,3-đibutyl-5-(4-hydroxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic

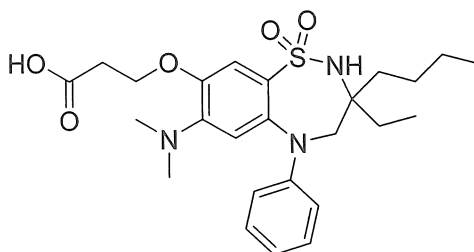


HCl loãng (6N, 4ml) được bổ sung vào dung dịch isopropyl 3-((3,3-đibutyl-5-(4-hydroxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoat (chất trung gian 35; 120mg, 0,20mmol) trong 1,4-dioxan (2ml) và hỗn hợp phản ứng được đun nóng trong 12 giờ ở 70°C. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được pha loãng bằng nước rất lạnh (5ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (5ml) và nước muối (5ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 40-50% EtOAc/PE; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 54% (60mg, chất rắn có màu trắng).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,37 (s, 1H), 9,30 (s, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,09-7,06 (m, 3H), 6,76 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,26 (s, 1H), 4,16 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 3,87 (s, 2H), 2,67 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,00 (s, 3H), 1,59-1,35 (m, 4H), 1,33-1,07 (m, 4H), 1,06-0,81 (m, 4H), 0,74 (t, *J* = 6,8 Hz, 6H). LCMS: (phương pháp E) 537,2 (M⁺+H), thời gian lưu 2,37 phút, 98,62% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 5,22 phút, 98,80% (tối đa).

Ví dụ 11

Axit 3-((3-butyl-7-(đimethylamino)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic

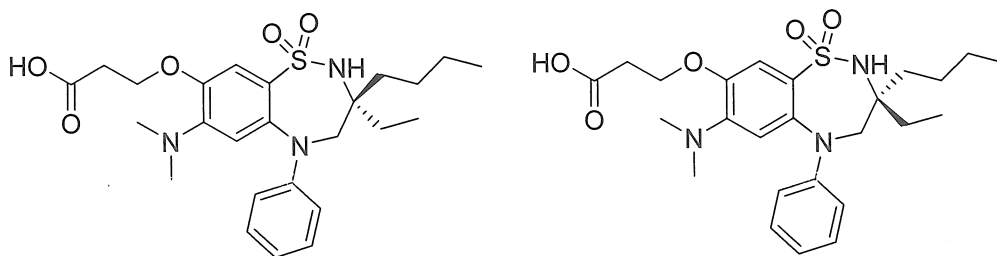


Kali *tert*-butoxit (177mg, 1,58mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa 3-butyl-7-(đimethylamino)-3-etyl-8-hydroxy-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin 1,1-đioxit (chất trung gian 37; 600mg, 1,43mmol) trong THF (3ml) ở 0°C và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 15 phút. Sau đó, bổ sung từng giọt dung dịch β -propiolacton (103mg, 1,43mmol) trong THF (2ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 3 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 5ml) và được pha loãng bằng nước (5ml). Lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 20ml) và lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (20ml) và nước muối (20ml) và được làm khô bằng Na_2SO_4 khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 3-5% MeOH/DCM; silicagel: 230-400 mesh) và tinh chế chất thu được bằng HPLC điều chế (phương pháp A) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 6% (42mg, chất rắn có màu trắng nhạt).

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 12,41 (s, 1H), 7,25 (t, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,14-6,97 (m, 4H), 6,90 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,16 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 3,79 (s, 2H), 2,79-2,72 (m, 2H), 2,52 (s, 6H), 1,71-1,47 (m, 2H), 1,46-1,33 (m, 2H), 1,32-1,17 (m, 2H), 1,11-0,97 (m, 2H), 0,76-0,67 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 490,2 ($\text{M}^+ + \text{H}$), thời gian lưu 2,41 phút, 98,92% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 4,28 phút, 99,05% (tối đa).

Các ví dụ 12 và 13

Axit (S)-3-((3-butyl-7-(đimethylamino)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic và axit (R)-3-((3-butyl-7-(đimethylamino)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic



Hai chất đồng phân đối ảnh của axit 3-((3-butyl-7-(đimethylamino)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic triệt quang (Ví dụ 11; 65mg, 0,13mmol) được tách bằng phương pháp SFC bất đối xứng

(phương pháp I). Chất này được cô đặc trong chân không ở 40°C. Phần giải hấp thứ nhất tương ứng với chất đồng phân đối ảnh 1 và phần giải hấp thứ hai tương ứng với chất đồng phân đối ảnh 2. Cấu hình tuyệt đối của hai chất đồng phân đối ảnh này là chưa biết.

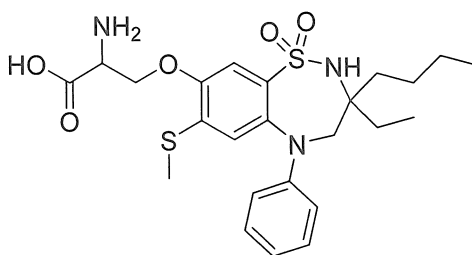
Sau đó, mỗi phần trong số hai phần này được xử lý riêng biệt để tinh chế thêm. Axit hóa cặn thu được bằng HCl loãng (1,5N, pH~4) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (3 x 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (10ml) và nước muối (10ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không ở 40°C để tạo ra chất đồng phân đối ảnh tinh khiết của hợp chất danh định.

Chất đồng phân đối ảnh 1: Hiệu suất: 6% (5mg, chất rắn có màu trắng nhạt). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,40 (s, 1H), 7,25 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,15 (s, 1H), 7,08-7,02 (m, 3H), 6,91 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,16 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,80 (bs, 2H), 2,79-2,71 (m, 2H), 2,58 (s, 6H), 1,71-1,59 (m, 1H), 1,58-1,45 (m, 1H), 1,44-1,32 (m, 2H), 1,29-1,15 (m, 1H), 1,14-0,91 (m, 3H), 0,79-0,69 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 490,1 (M⁺+H), thời gian lưu 2,39 phút, 98,52% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 4,32 phút, 98,57% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp M) thời gian lưu 3,09 phút, 98,77% (tối đa).

Chất đồng phân đối ảnh 2: AS0649: Hiệu suất: 5% (7mg, chất rắn có màu trắng nhạt). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 12,40 (s, 1H), 7,25 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,15 (s, 1H), 7,08-7,03 (m, 3H), 6,91 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 4,16 (t, *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,80 (bs, 2H), 2,79-2,71 (m, 2H), 2,58 (s, 6H), 1,71-1,59 (m, 1H), 1,58-1,45 (m, 1H), 1,44-1,31 (m, 2H), 1,29-1,14 (m, 1H), 1,14-0,91 (m, 3H), 0,79-0,69 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 489,9 (M⁺+H), thời gian lưu 2,38 phút, 99,66% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 4,28 phút, 98,43% (tối đa). Phương pháp SFC bất đối xứng: (phương pháp M) thời gian lưu 4,25 phút, 97,61% (tối đa).

Ví dụ 14

O-(3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serin



Lithi hydroxit (23mg, 0,53mmol) được bổ sung vào dung dịch đã khuấy chứa methyl *O*-(3-butyl-3-ethyl-7-(methylthio)-1,1-dioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serinat (chất trung gian 40; 140mg, 0,27mmol) trong 1,4-dioxan (2ml) và hỗn hợp phản ứng được khuấy trong 1 giờ ở nhiệt độ phòng. Sau khi phản ứng kết thúc (như được kiểm tra bằng phương pháp TLC), hỗn hợp phản ứng được làm nguội bằng HCl loãng (1,5N, 2ml) và lớp nước được chiết bằng EtOAc (2 x 5ml). Lớp hữu cơ đã hóa hợp được rửa bằng nước (5ml) và nước muối (5ml) và được làm khô bằng Na₂SO₄ khan. Phần hữu cơ được lọc và cô đặc trong chân không. Tinh chế chất thô thu được bằng phương pháp sắc ký cột Isolera (dung môi rửa giải: 28% MeOH/DCM; silicagel: 230-400 mesh) để tạo ra hợp chất danh định. Hiệu suất: 31% (42mg, chất rắn có màu trắng nhạt).

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,85 (s, 2H), 7,29 (t, *J* = 6,4 Hz, 3H), 7,11 (d, *J* = 6,0 Hz, 2H), 6,97 (t, *J* = 6,8 Hz, 1H), 6,56 (s, 1H), 4,37 - 4,34 (m, 1H), 4,20 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,89 (s, 1H), 3,63 (s, 1H), 3,10 - 3,05 (m, 1H), 2,10 (s, 3H), 1,63 - 1,63 (m, 8H), 1,05 - 0,72 (m, 6H). LCMS: (phương pháp E) 508,3 (M⁺+H), thời gian lưu 2,39 phút, 98,34% (tối đa). HPLC: (phương pháp B) thời gian lưu 4,58 phút, 97,26s% (tối đa).

Thử nghiệm sinh học

Quy trình thử nghiệm IBAT (h/m)

10.000 tế bào (tế bào IBAT biểu hiện quá mức của người hoặc của chuột) được cấy vào đĩa 96 giếng (Corning CLS3809) trong 200μl môi trường MEM-alpha (Gibco 12571-063) được bổ sung FBS (Gibco 10438026) với lượng 10%, chứa Puromyxin (Gibco A1113803) (10μg/ml) và được ủ ở 37°C trong 5% CO₂ trong 48 giờ. Sau khi ủ, môi trường được gạn bỏ khỏi giếng và tế bào được rửa hai lần bằng môi trường MEM-alpha cơ bản (không chứa FBS) với lượng 300μl. Mỗi lần gạn bỏ môi trường MEM-alpha cơ bản, các đĩa được gõ nhẹ lên khăn giấy để đảm bảo loại bỏ tối đa môi trường còn sót lại.

Các dung dịch loãng để kiểm hãm thử nghiệm (nồng độ thử nghiệm cao nhất là 10μM, pha loãng nối tiếp 3 lần, 10 dung dịch) đã pha trong DMSO (Sigma D2650) được bổ sung vào hỗn hợp ủ (duy trì nồng độ cuối cùng của DMSO là 0,2%) chứa axit 3H-taurocholic 0,25μM (ARC ART-1368) và axit taurocholic lạnh với nồng độ 5μM (Sigma T4009). Sau đó, bổ sung hỗn hợp ủ chứa chất kiểm hãm thử nghiệm với lượng 50μl vào

các giếng này (lặp lại hai lần) và các đĩa này được ủ trong 20 phút trong tủ ấm CO₂ ở 37°C. Sau khi ủ, phản ứng này được dừng lại bằng cách giữ các đĩa này trên hỗn hợp nước đá trong 2-3 phút và sau đó hỗn hợp ủ được hút hoàn toàn khỏi giếng. Các giếng này được rửa hai lần bằng axit taurocholic 1mM được hòa tan trong HBSS (Gibco 14175079) (độ pH=7,4) có bổ sung dung dịch đệm HEPES (Gibco 15630080) (10 mM) đã được làm lạnh, không dán nhãn với lượng 250µl. Các đĩa này được gõ nhẹ lên khăn giấy sau mỗi lần rửa để đảm bảo bỏ tối đa dung dịch đệm khóa.

MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) được bổ sung vào các giếng này với lượng 100µl và giữ qua đêm ở nhiệt độ phòng trước khi đọc các đĩa này trong máy đếm TopCount NXT™ Microplate Scintillation and Luminescence của PerkinElmer theo quy trình thử nghiệm 3H (thời gian đọc được đặt ở 120 giây cho mỗi giếng).

Quy trình thử nghiệm LBAT (h/m)

20.000 tế bào (tế bào LBAT biểu hiện quá mức của người hoặc của chuột) được cấy vào đĩa 96 giếng (Corning CLS3809) trong 100µl môi trường MEM-alpha (Gibco 12571-063) được bổ sung FBS (Gibco 10438026) với lượng 10%, chứa Genetixin (Gibco 10131-027) (1 mg/ml) và được ủ ở 37°C trong 5% CO₂ trong 24 giờ. Sau khi ủ, môi trường được gạn bỏ khỏi giếng và tế bào được rửa hai lần bằng môi trường MEM-alpha cơ bản (không chứa FBS) với lượng 300µl. Mỗi lần sau khi gạn bỏ môi trường MEM-alpha cơ bản, các đĩa được gõ nhẹ lên khăn giấy để đảm bảo loại bỏ tối đa môi trường còn sót lại.

Đối với LBAT của người, chuẩn bị hỗn hợp ủ bằng cách bổ sung các dung dịch kim hãm thử nghiệm đã được pha loãng (pha loãng nối tiếp 3 lần trong DMSO (Sigma D2650), 10 dung dịch) trong MEM-alpha (không chứa FBS), chứa axit 3H-taurocholic (ARC ART-1368) 0,3µM và axit taurocholic lạnh (Sigma T4009) 7,5µM (duy trì nồng độ cuối cùng của DMSO là 0,2%). Đối với LBAT của chuột, chuẩn bị hỗn hợp ủ bằng cách bổ sung các dung dịch kim hãm thử nghiệm đã được pha loãng (pha loãng nối tiếp 3 lần trong DMSO, 10 dung dịch) trong MEM-alpha (không chứa FBS) chứa axit 3H-taurocholic 0,3µM và axit taurocholic lạnh 25µM (duy trì nồng độ cuối cùng của DMSO là 0,2%).

Sau đó, bổ sung hỗn hợp ủ chứa chất kim hãm thử nghiệm với lượng 50µl vào các giếng này (lặp lại hai lần) và các đĩa này được ủ trong 20 phút trong tủ ấm CO₂ ở 37°C. Sau khi ủ, phản ứng này được dừng lại bằng cách giữ các đĩa này trên hỗn hợp nước đá

trong 2-3 phút và sau đó hỗn hợp ủ này được hút hoàn toàn khỏi giếng. Các giếng này được rửa hai lần bằng axit taurocholic 1mM được hòa tan trong HBSS (Gibco 14175079) (độ pH=7,4) có bổ sung dung dịch đệm HEPES (Gibco 15630080) (10 mM) đã được làm lạnh, không dán nhãn với lượng 250 μ l. Các đĩa này được gõ nhẹ lên khăn giấy sau mỗi lần rửa để đảm bảo bỏ tối đa dung dịch đệm khóa.

MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) được bổ sung vào các giếng này với lượng 100 μ l và giữ qua đêm ở nhiệt độ phòng trước khi đọc các đĩa này trong máy đếm TopCount NXT™ Microplate Scintillation and Luminescence của PerkinElmer theo quy trình thử nghiệm 3H (thời gian đọc được đặt ở 120 giây cho mỗi giếng, với hướng đặt đĩa bình thường).

Thử nghiệm tính thấm hai chiều (tế bào Caco-2)

Tế bào Caco-2 (Evotec) được cấy với mật độ 70.000 tế bào/giếng trong đĩa chèn nuôi cấy tế bào 24 giếng Millicell® và được giữ trong tủ ẩm (37°C, 5% CO₂, 95% RH) trong 21 ngày, có thay môi trường vào các ngày thay môi trường.

Dung dịch gốc (10 mM) của hợp chất thử nghiệm, atenolol (chất đánh dấu độ thấm thấp), propranolol (chất đánh dấu độ thấm thấp cao) và digoxin (cơ chất dùng cho con đường vận chuyển P-gp) đã được chuẩn bị trong dimethylsulfoxit (DMSO). Dung dịch gốc của chất trung gian (1mM) được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc 10mM với lượng 10 μ l với DMSO nguyên chất với lượng 90 μ l. Dung dịch gốc hoạt động (10 μ M) được chuẩn bị bằng cách pha loãng 50 μ l dung dịch có nồng độ 1mM với 4950 μ l dung dịch đệm FaSSIF. Sau khi bổ sung các hợp chất vào FaSSIF, các mẫu được xử lý bằng sóng siêu âm trong 2 giờ và ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 30 phút ở 37°C. Sử dụng trực tiếp dịch nổi thu được trong thử nghiệm này với lượng 4ml. Nồng độ DMSO cuối cùng trong các thử nghiệm vận chuyển là 1%.

Ở ngày thử nghiệm, lớp đơn Caco-2 được rửa hai lần bằng dung dịch đệm vận chuyển (HBSS, pH 7,4) và được ủ trước trong 30 phút (37°C, 5% CO₂, 95% RH) trong tủ ẩm. Các lớp đơn có trị số điện trở xuyên biểu mô (TEER) lớn hơn 350 ohm.cm² được chọn cho thử nghiệm này.

Thử nghiệm này được thực hiện theo hướng hấp thụ (A2B) và hướng tiết (B2A). Các thử nghiệm vận chuyển được bắt đầu bằng cách bổ sung dung dịch đệm thử nghiệm vận chuyển (dung dịch đệm FaSSIF đã pha trong HBSS) chứa các hợp chất vào buồng cho (buồng ở đỉnh A-B; buồng ở đáy bên B-A) ở hai giếng giống nhau (n=2). Dung dịch

đệm HBSS không chứa thuốc (độ pH=7,4), chứa albumin huyết thanh bò (bovine serum albumin - BSA) với lượng 1% được đưa vào buồng nhận (A-B-ở đáy bên; B-A- ở đỉnh). Lượng trong các buồng ở đỉnh và ở đáy bên lần lượt là 0,4 và 0,8ml. Sau khi bổ sung dung dịch định lượng, các đĩa được ủ trong tủ ấm trong 120 phút ở 37°C. Sau 120 phút, mẫu cho và mẫu nhận được thu nhận và chất nền thích hợp với (1:1, 30µl mẫu nghiên cứu + 30µl dung dịch đệm trống) dung dịch đệm đối lập. Chất nền mẫu định lượng thích hợp với (1:1, 30µl mẫu nghiên cứu + 30µl dung dịch đệm trống) dung dịch đệm đối lập. Các mẫu được xử lý bằng cách bổ sung axetonitril chứa chất nội chuẩn (60µl mẫu nghiên cứu + 200µl axetonitril chứa chất nội chuẩn -Tolbutamide, 500 ng/ml). Các mẫu được tạo dòng xoáy và ly tâm ở tốc độ 4000 vòng/phút trong 10 phút. Pha loãng 100µl dịch nổi thu được bằng nước với lượng 100µl và chuyển dịch nổi này vào 96 đĩa giếng mới. Lượng hợp chất trong các mẫu này được phân tích phương pháp bằng sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS), sử dụng phương pháp phân tích sinh học ở mức độ phát hiện, nếu có thể.

Độ thấm thấu biểu kiến trung bình (P_{app} , $\times 10^{-6}$ cm/giây) của hợp chất thử nghiệm, atenolol, propranolol và digoxin được tính như sau:

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

trong đó dq/dt = tốc độ vận chuyển (tốc độ vận chuyển hợp chất trong buồng nhận), C_0 = lượng ban đầu trong buồng cho, A = diện tích bề mặt của màng lọc hữu hiệu.

Quy trình thử nghiệm dựa vào HepaRG

Ống bảo quản lạnh chứa các tế bào HepaRG đã biệt hóa (Biopredic International HPR116080) được rã đông trong môi trường rã đông/cấy trải HepaRG/dùng cho mục đích chung (Biopredic International ADD670C) đã bổ sung Glutamax (Gibco 35050061) 200mM theo quy trình được cung cấp bởi Biopredic International. Cấy 70.000 tế bào trong mỗi giếng vào đĩa 96 giếng (Corning CLS3809) trong 100µl môi trường rã đông/cấy trải HepaRG/dùng cho mục đích chung đã bổ sung Glutamax 200mM và được ủ ở 37°C trong 5% CO₂ trong 24 giờ. Sau khi ủ, môi trường nuôi cấy này được thay thế bằng môi trường duy trì HepaRG /trao đổi chất (Biopredic International ADD620C) và được ủ trong 6 ngày với việc bổ sung môi trường duy trì/trao đổi chất HepaRG mới sau mỗi 48 giờ. Tại thời điểm ủ 7 ngày sau khi cấy, gạn bỏ môi trường ủ khỏi các giếng và tế bào được rửa hai lần bằng môi trường cơ bản E của William (Gibco 12551032) với

lượng 250 μ l. Mỗi lần sau khi gạn bỏ môi trường cơ bản E của William, các đĩa này được gỡ nhẹ lên khăn giấy để đảm bảo loại bỏ tối đa môi trường còn sót lại.

Chuẩn bị hỗn hợp ủ bằng cách bổ sung các dung dịch kim hãm thử nghiệm đã được pha loãng (pha loãng nối tiếp 3 lần trong DMSO (Sigma D2650)) trong môi trường E của William (môi trường cơ bản) chứa axit 3H-taurocholic (ARC ART-1368) 0,3 μ M và axit taurocholic lạnh (Sigma T4009) 7,5 μ M (duy trì nồng độ cuối cùng của DMSO là 0,2%), Sau đó, hỗn hợp ủ chứa chất kim hãm thử nghiệm với lượng 50 μ l được bổ sung vào các giếng này (lặp lại hai lần) và các đĩa này được ủ trong 30 phút trong tủ ấm 5% CO₂ ở 37°C. Sau khi ủ, phản ứng này được dừng lại bằng cách giữ các đĩa này trên hỗn hợp nước đá trong thời gian từ 2-3 phút và sau đó hỗn hợp ủ này được hút hoàn toàn khỏi giếng. Các giếng này được rửa hai lần bằng 250 μ axit taurocholic lạnh 1mM không dán nhãn, được hòa tan trong HBSS (Gibco 14175079) (độ pH=7,4) có bổ sung chất đệm HEPES (Gibco 15630080) (10mM). Các đĩa này được gỡ nhẹ lên khăn giấy sau mỗi lần rửa nhằm đảm bảo loại bỏ tối đa dung dịch đệm khóa.

MicroScint-20 (PerkinElmer 6013621) được bổ sung vào các giếng này với lượng 100 μ l và giữ qua đêm ở nhiệt độ phòng trước khi đọc các đĩa này trong máy đếm TopCount NXT™ Microplate Scintillation and Luminescence của PerkinElmer theo quy trình thử nghiệm 3H (thời gian đọc được đặt ở 120 giây cho mỗi giếng, với hướng đặt đĩa bình thường).

Chuẩn bị các dung dịch loãng chứa hợp chất thử nghiệm

Tất cả các hợp chất thử nghiệm được cung cấp ở dạng bột ở nhiệt độ phòng. Dung dịch DMSO gốc 10mM chứa hợp chất thử nghiệm đã được chuẩn bị, chia thành các phần nhỏ và được bảo quản ở -20°C. Từ dung dịch DMSO gốc 10mM chứa các hợp chất này, dung dịch pha loãng nối tiếp 3 lần trong DMSO đã được chuẩn bị để có tổng cộng 10 dung dịch pha loãng chứa hợp chất thử nghiệm. Dung dịch pha loãng trong DMSO với lượng 0,5 μ l được bổ sung vào 250 μ l môi trường cơ bản không chứa FBS, chứa axit 3H-taurocholic và axit taurocholic lạnh để chuẩn bị hỗn hợp ủ.

Nghiên cứu sinh khả dụng

Chuột đực (C57BL/6 hoặc CD1) hoặc chuột Wistar 8-9 tuần tuổi đã được sử dụng. Đối với mỗi hợp chất thử nghiệm, hai nhóm, mỗi nhóm gồm 3 con chuột đã được sử dụng. Một nhóm được tiêm tĩnh mạch với liều duy nhất là 1mg/kg (tá được lỏng là 100% DMSO) qua tĩnh mạch đuôi và nhóm còn lại được uống liều duy nhất là 10mg/kg thông

qua ống bơm thức ăn. Nhóm uống một liều duy nhất được cho nhịn ăn qua đêm. Các mẫu máu được thu thập vào thời điểm 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 và 24 giờ sau khi tiêm tĩnh mạch và vào thời điểm 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 và 24 giờ sau khi uống. Các mẫu máu được lấy từ tĩnh mạch hiển. EDTA 0,2% được sử dụng làm chất chống đông máu. Các mẫu được phân tích bằng phương pháp phân tích sinh học ở mức độ phát hiện được phát triển để ước tính hợp chất thử nghiệm trong huyết tương bằng cách sử dụng hệ thống LC-MS/MS.

Kết quả

Dữ liệu sinh học đối với các hợp chất của các ví dụ được trình bày trong bảng 8 dưới đây.

Bảng 8

Ví dụ	hLBAT IC ₅₀ (nM)	hIBAT IC ₅₀ (nM)	Độ thấm thấu (Caco-2)		Sinh khả dụng (%)
			P _{app} A2B (x 10 ⁻⁶ cm/sec)	ER	
1	2908	7	9,2	0,9	34 (C57BL/6) 59 (CD1) 98 (muối Na ⁺ ; chuột)
2	736	4			
3	283	23			
4	3654	2	7,6	2,4	45 (CD1) 90 (chuột)
5	1882	5	1,0	4,2	
6	3658	14			
7	2225	2	0,4	1,9	
8	2633	12	9,5	0,5	
9	1617	21	10,0	0,5	
10	7205	2	2,1	3,1	
11	1175	3	13,1	1,2	
12	2222	3	14,2	1,1	
13	2222	15			
14	342	6	0,0		

Mô hình PD: Đánh giá hợp chất thử nghiệm trên lượng axit mật tổng số của ở chuột đực C57BL/6.

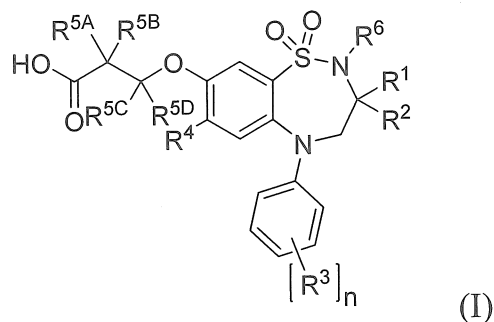
Chuột C57BL/6N Tac 8-9 tuần tuổi được sử dụng để nghiên cứu tác dụng của chất điều biến axit mật đối với lượng axit mật. Sau khi kết thúc giai đoạn cách ly kiểm dịch và thích nghi, chuột được chia ngẫu nhiên thành x nhóm thử nghiệm, dựa trên khối lượng cơ thể: (i) đối chứng tá được lỏng và (ii) hợp chất thử nghiệm y mg/kg, dùng đường uống, mỗi ngày một lần. Chuột được điều trị bằng hợp chất thử nghiệm trong 7 ngày. Vào ngày nghiên cứu thứ 5, chuột được nhốt riêng lẻ trong các lồng mới. Vào ngày thứ 7, phân được thu thập từ mỗi lồng, sau đó lấy máu từ mỗi con chuột qua đường sau hốc mắt. Chuột được gây chết để lấy gan và đoạn hồi tràng cuối từ mỗi con chuột nhằm phân tích thêm. Khối lượng cơ thể và mức tiêu thụ thức ăn được đo hai lần mỗi tuần. Bộ mẫu lipid huyết thanh được phân tích trong các mẫu huyết thanh ở ngày thứ 7. Axit mật tổng số trong huyết thanh được đo trong các mẫu huyết thanh này ở ngày thứ 7. Sự bài tiết mật vào phân được đo trong mẫu phân ở ngày thứ 7. Sự biểu hiện của CYP7A1 và SHP trong gan được định lượng trong các mẫu gan ở ngày thứ 7. Triglycerit và cholesterol tổng số trong gan được phân tích trong các mẫu gan ở ngày thứ 7.

Mô hình axit mật trong nước tiểu: Đánh giá tác dụng của các hợp chất thử nghiệm đối với lượng axit mật trong nước tiểu ở chuột đực C57BL/6.

Chuột C57BL/6N Tac 8-9 tuần tuổi được sử dụng để nghiên cứu tác dụng của chất điều biến axit mật đối với lượng axit mật. Sau khi kết thúc giai đoạn cách ly kiểm dịch và thích nghi, chuột được chia ngẫu nhiên thành x nhóm thử nghiệm, dựa trên khối lượng cơ thể: (i) đối chứng tá được lỏng và (ii) hợp chất thử nghiệm y mg/kg, dùng đường uống, mỗi ngày một lần. Chuột được điều trị bằng hợp chất thử nghiệm trong 7 ngày. Vào ngày nghiên cứu thứ 6, chuột được chuyển sang lồng trao đổi chất. Vào ngày thứ 7, phân và nước tiểu được thu thập từ mỗi lồng trao đổi chất, sau đó lấy máu từ mỗi con chuột qua đường sau hốc mắt. Mỗi con chuột được gây chết để lấy thận nhằm phân tích thêm. Khối lượng cơ thể được đo hai lần mỗi tuần. Axit mật tổng số trong huyết thanh được đo trong các mẫu huyết thanh ở ngày thứ 7. Sự bài tiết axit mật trong phân được đo trong mẫu phân ở ngày thứ 7. Sự bài tiết axit mật vào nước tiểu được đo trong mẫu nước tiểu ở ngày thứ 7. Sự biểu hiện của ASBT, OSTa, OSTAb và MRP2 trong thận được định lượng trong các mẫu thận ở ngày thứ 7.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Hợp chất có công thức (I)



trong đó:

mỗi R^1 và R^2 độc lập là C_{1-4} alkyl;

R^3 được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} haloalkyl, C_{1-4} alkoxy, C_{1-4} haloalkoxy, xyano, nitro, amino, N -(C_{1-4} alkyl)amino, N,N -di(C_{1-4} alkyl)amino và N -(aryl- C_{1-4} alkyl)amino;

n là số nguyên bằng 1, 2 hoặc 3;

R^4 được chọn từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, xyano, C_{1-4} alkyl, C_{3-6} xycloalkyl, C_{1-4} alkoxy, C_{3-6} xycloalkyloxy, C_{1-4} alkylthio, C_{3-6} xycloalkylthio, amino, N -(C_{1-4} alkyl)amino và N,N -di(C_{1-4} alkyl)amino;

mỗi R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} và R^{5D} được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino và C_{1-4} alkyl; và

R^6 được chọn từ nhóm gồm hydro và C_{1-4} alkyl;
hoặc muối được dụng của chúng.

2. Hợp chất theo điểm 1, trong đó R^1 là n-butyl.
3. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R^2 là n-butyl.
4. Hợp chất theo điểm 1 hoặc 2, trong đó R^2 là etyl.
5. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 4, trong đó R^3 được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino, xyano, C_{1-4} haloalkyl, C_{1-4} alkoxy và C_{1-4} haloalkoxy.

6. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 5, trong đó R^4 được chọn từ nhóm gồm halogen, hydroxy, xyano, C_{1-4} alkyl, C_{1-4} alkoxy, C_{1-4} alkylthio, amino, N -(C_{1-4} alkyl)amino và N,N -di(C_{1-4} alkyl)amino.
7. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 6, trong đó mỗi R^{5A} và R^{5B} được chọn độc lập từ nhóm gồm hydro, halogen, hydroxy, amino và metyl.
8. Hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 7, trong đó R^6 là hydro hoặc metyl.
9. Hợp chất theo điểm 1, được chọn từ nhóm gồm:
 - axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-benzo-1,2,5-thiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;
 - axit 3-((3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;
 - axit (S)-3-((3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;
 - axit (R)-3-((3-butyl-3-etyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;
 - axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic;
 - axit (S)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic;
 - axit (R)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)-2-hydroxypropanoic;
 - axit 3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic;
 - axit (S)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic;
 - axit (R)-3-((3,3-đibutyl-7-(metylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)butanoic;
 - axit 3-((3,3-đibutyl-7-clo-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit 3-((3,3-đibutyl-5-(4-hydroxyphenyl)-7-(methylthio)-1,1-đioxido-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit 3-((3-Butyl-7-(đimetylamin)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit (S)-3-((3-butyl-7-(đimetylamin)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

axit (R)-3-((3-butyl-7-(đimetylamin)-3-etyl-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)oxy)propanoic;

O-(3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serin;

(S)-O-((R)-3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serin;

(R)-O-((R)-3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serin;

(S)-O-((S)-3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serin; và

(R)-O-((S)-3-butyl-3-etyl-7-(methylthio)-1,1-đioxido-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1,2,5-benzothiadiazepin-8-yl)serin;

hoặc muối được dụng của chúng.

10. Dược phẩm, chứa lượng hữu hiệu trị liệu của hợp chất theo điểm bất kỳ trong số các điểm từ 1 đến 9, và một hoặc nhiều tá dược được dụng.

SEQUENCE LISTING

<110> ALBIREO AB
 <120> HỢP CHẤT BENZOTHIADIAZEPIN VÀ DƯỢC PHẨM CHỨA HỢP CHẤT NÀY
 <130> NP0461WO
 <150> IN 201911004690
 <151> 2019-02-06
 <150> SE 1950464-6
 <151> 2019-04-12
 <150> IN 201911049981
 <151> 2019-12-04
 <160> 4
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 1251
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 1
 Met Ser Thr Glu Arg Asp Ser Glu Thr Thr Phe Asp Glu Asp Ser Gln
 1 5 10 15
 Pro Asn Asp Glu Val Val Pro Tyr Ser Asp Asp Glu Thr Glu Asp Glu
 20 25 30
 Leu Asp Asp Gln Gly Ser Ala Val Glu Pro Glu Gln Asn Arg Val Asn
 35 40 45
 Arg Glu Ala Glu Glu Asn Arg Glu Pro Phe Arg Lys Glu Cys Thr Trp
 50 55 60
 Gln Val Lys Ala Asn Asp Arg Lys Tyr His Glu Gln Pro His Phe Met
 65 70 75 80
 Asn Thr Lys Phe Leu Cys Ile Lys Glu Ser Lys Tyr Ala Asn Asn Ala
 85 90 95
 Ile Lys Thr Tyr Lys Tyr Asn Ala Phe Thr Phe Ile Pro Met Asn Leu
 100 105 110
 Phe Glu Gln Phe Lys Arg Ala Ala Asn Leu Tyr Phe Leu Ala Leu Leu
 115 120 125
 Ile Leu Gln Ala Val Pro Gln Ile Ser Thr Leu Ala Trp Tyr Thr Thr
 130 135 140
 Leu Val Pro Leu Leu Val Val Leu Gly Val Thr Ala Ile Lys Asp Leu
 145 150 155 160
 Val Asp Asp Val Ala Arg His Lys Met Asp Lys Glu Ile Asn Asn Arg
 165 170 175
 Thr Cys Glu Val Ile Lys Asp Gly Arg Phe Lys Val Ala Lys Trp Lys
 180 185 190

Glu Ile Gln Val Gly Asp Val Ile Arg Leu Lys Lys Asn Asp Phe Val
 195 200 205
 Pro Ala Asp Ile Leu Leu Leu Ser Ser Ser Glu Pro Asn Ser Leu Cys
 210 215 220
 Tyr Val Glu Thr Ala Glu Leu Asp Gly Glu Thr Asn Leu Lys Phe Lys
 225 230 235 240
 Met Ser Leu Glu Ile Thr Asp Gln Tyr Leu Gln Arg Glu Asp Thr Leu
 245 250 255
 Ala Thr Phe Asp Gly Phe Ile Glu Cys Glu Glu Pro Asn Asn Arg Leu
 260 265 270
 Asp Lys Phe Thr Gly Thr Leu Phe Trp Arg Asn Thr Ser Phe Pro Leu
 275 280 285
 Asp Ala Asp Lys Ile Leu Leu Arg Gly Cys Val Ile Arg Asn Thr Asp
 290 295 300
 Phe Cys His Gly Leu Val Ile Phe Ala Gly Ala Asp Thr Lys Ile Met
 305 310 315 320
 Lys Asn Ser Gly Lys Thr Arg Phe Lys Arg Thr Lys Ile Asp Tyr Leu
 325 330 335
 Met Asn Tyr Met Val Tyr Thr Ile Phe Val Val Leu Ile Leu Leu Ser
 340 345 350
 Ala Gly Leu Ala Ile Gly His Ala Tyr Trp Glu Ala Gln Val Gly Asn
 355 360 365
 Ser Ser Trp Tyr Leu Tyr Asp Gly Glu Asp Asp Thr Pro Ser Tyr Arg
 370 375 380
 Gly Phe Leu Ile Phe Trp Gly Tyr Ile Ile Val Leu Asn Thr Met Val
 385 390 395 400
 Pro Ile Ser Leu Tyr Val Ser Val Glu Val Ile Arg Leu Gly Gln Ser
 405 410 415
 His Phe Ile Asn Trp Asp Leu Gln Met Tyr Tyr Ala Glu Lys Asp Thr
 420 425 430
 Pro Ala Lys Ala Arg Thr Thr Thr Leu Asn Glu Gln Leu Gly Gln Ile
 435 440 445
 His Tyr Ile Phe Ser Asp Lys Thr Gly Thr Leu Thr Gln Asn Ile Met
 450 455 460
 Thr Phe Lys Lys Cys Cys Ile Asn Gly Gln Ile Tyr Gly Asp His Arg
 465 470 475 480
 Asp Ala Ser Gln His Asn His Asn Lys Ile Glu Gln Val Asp Phe Ser
 485 490 495

Trp Asn Thr Tyr Ala Asp Gly Lys Leu Ala Phe Tyr Asp His Tyr Leu
 500 505 510
 Ile Glu Gln Ile Gln Ser Gly Lys Glu Pro Glu Val Arg Gln Phe Phe
 515 520 525
 Phe Leu Leu Ala Val Cys His Thr Val Met Val Asp Arg Thr Asp Gly
 530 535 540
 Gln Leu Asn Tyr Gln Ala Ala Ser Pro Asp Glu Gly Ala Leu Val Asn
 545 550 555 560
 Ala Ala Arg Asn Phe Gly Phe Ala Phe Leu Ala Arg Thr Gln Asn Thr
 565 570 575
 Ile Thr Ile Ser Glu Leu Gly Thr Glu Arg Thr Tyr Asn Val Leu Ala
 580 585 590
 Ile Leu Asp Phe Asn Ser Asp Arg Lys Arg Met Ser Ile Ile Val Arg
 595 600 605
 Thr Pro Glu Gly Asn Ile Lys Leu Tyr Cys Lys Gly Ala Asp Thr Val
 610 615 620
 Ile Tyr Glu Arg Leu His Arg Met Asn Pro Thr Lys Gln Glu Thr Gln
 625 630 635 640
 Asp Ala Leu Asp Ile Phe Ala Asn Glu Thr Leu Arg Thr Leu Cys Leu
 645 650 655
 Cys Tyr Lys Glu Ile Glu Glu Lys Glu Phe Thr Glu Trp Asn Lys Lys
 660 665 670
 Phe Met Ala Ala Ser Val Ala Ser Thr Asn Arg Asp Glu Ala Leu Asp
 675 680 685
 Lys Val Tyr Glu Glu Ile Glu Lys Asp Leu Ile Leu Leu Gly Ala Thr
 690 695 700
 Ala Ile Glu Asp Lys Leu Gln Asp Gly Val Pro Glu Thr Ile Ser Lys
 705 710 715 720
 Leu Ala Lys Ala Asp Ile Lys Ile Trp Val Leu Thr Gly Asp Lys Lys
 725 730 735
 Glu Thr Ala Glu Asn Ile Gly Phe Ala Cys Glu Leu Leu Thr Glu Asp
 740 745 750
 Thr Thr Ile Cys Tyr Gly Glu Asp Ile Asn Ser Leu Leu His Ala Arg
 755 760 765
 Met Glu Asn Gln Arg Asn Arg Gly Gly Val Tyr Ala Lys Phe Ala Pro
 770 775 780
 Pro Val Gln Glu Ser Phe Phe Pro Pro Gly Gly Asn Arg Ala Leu Ile
 785 790 795 800

Ile Thr Gly Ser Trp Leu Asn Glu Ile Leu Leu Glu Lys Lys Thr Lys
 805 810 815
 Arg Asn Lys Ile Leu Lys Leu Lys Phe Pro Arg Thr Glu Glu Glu Arg
 820 825 830
 Arg Met Arg Thr Gln Ser Lys Arg Arg Leu Glu Ala Lys Lys Glu Gln
 835 840 845
 Arg Gln Lys Asn Phe Val Asp Leu Ala Cys Glu Cys Ser Ala Val Ile
 850 855 860
 Cys Cys Arg Val Thr Pro Lys Gln Lys Ala Met Val Val Asp Leu Val
 865 870 875 880
 Lys Arg Tyr Lys Lys Ala Ile Thr Leu Ala Ile Gly Asp Gly Ala Asn
 885 890 895
 Asp Val Asn Met Ile Lys Thr Ala His Ile Gly Val Gly Ile Ser Gly
 900 905 910
 Gln Glu Gly Met Gln Ala Val Met Ser Ser Asp Tyr Ser Phe Ala Gln
 915 920 925
 Phe Arg Tyr Leu Gln Arg Leu Leu Leu Val His Gly Arg Trp Ser Tyr
 930 935 940
 Ile Arg Met Cys Lys Phe Leu Arg Tyr Phe Phe Tyr Lys Asn Phe Ala
 945 950 955 960
 Phe Thr Leu Val His Phe Trp Tyr Ser Phe Phe Asn Gly Tyr Ser Ala
 965 970 975
 Gln Thr Ala Tyr Glu Asp Trp Phe Ile Thr Leu Tyr Asn Val Leu Tyr
 980 985 990
 Thr Ser Leu Pro Val Leu Leu Met Gly Leu Leu Asp Gln Asp Val Ser
 995 1000 1005
 Asp Lys Leu Ser Leu Arg Phe Pro Gly Leu Tyr Ile Val Gly Gln
 1010 1015 1020
 Arg Asp Leu Leu Phe Asn Tyr Lys Arg Phe Phe Val Ser Leu Leu
 1025 1030 1035
 His Gly Val Leu Thr Ser Met Ile Leu Phe Phe Ile Pro Leu Gly
 1040 1045 1050
 Ala Tyr Leu Gln Thr Val Gly Gln Asp Gly Glu Ala Pro Ser Asp
 1055 1060 1065
 Tyr Gln Ser Phe Ala Val Thr Ile Ala Ser Ala Leu Val Ile Thr
 1070 1075 1080
 Val Asn Phe Gln Ile Gly Leu Asp Thr Ser Tyr Trp Thr Phe Val
 1085 1090 1095

Asn Ala Phe Ser Ile Phe Gly Ser Ile Ala Leu Tyr Phe Gly Ile
1100 1105 1110

Met Phe Asp Phe His Ser Ala Gly Ile His Val Leu Phe Pro Ser
1115 1120 1125

Ala Phe Gln Phe Thr Gly Thr Ala Ser Asn Ala Leu Arg Gln Pro
1130 1135 1140

Tyr Ile Trp Leu Thr Ile Ile Leu Ala Val Ala Val Cys Leu Leu
1145 1150 1155

Pro Val Val Ala Ile Arg Phe Leu Ser Met Thr Ile Trp Pro Ser
1160 1165 1170

Glu Ser Asp Lys Ile Gln Lys His Arg Lys Arg Leu Lys Ala Glu
1175 1180 1185

Glu Gln Trp Gln Arg Arg Gln Gln Val Phe Arg Arg Gly Val Ser
1190 1195 1200

Thr Arg Arg Ser Ala Tyr Ala Phe Ser His Gln Arg Gly Tyr Ala
1205 1210 1215

Asp Leu Ile Ser Ser Gly Arg Ser Ile Arg Lys Lys Arg Ser Pro
1220 1225 1230

Leu Asp Ala Ile Val Ala Asp Gly Thr Ala Glu Tyr Arg Arg Thr
1235 1240 1245

Gly Asp Ser
1250

<210> 2
<211> 3756
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<400> 2
atgagtacag aaagagactc agaaacgaca tttagcaggg attctcagcc taatgacgaa 60
gtggttccct acagtgatga tgaacagaa gatgaacttg atgaccaggg gtctgctgtt 120
gaaccagaac aaaaccgagt caacagggaa gcagaggaga accgggagcc attcagaaaa 180
gaatgtacat ggcaagtcaa agcaaacgat cgcaagtacc acgaacaacc tcactttatg 240
aacacaaaat tcttgtgtat taaggagagt aaatatgcga ataatgcaat taaaacatac 300
aagtacaacg catttacctt tataccaatg aatctgtttg agcagtttaa gagagcagcc 360
aatttatatt tcctggctct tcttatctta caggcagttc ctcaaattct taccctggct 420
tggtacacca cactagtgcc cctgcttggt gtgctgggag tcaactgcaat caaagacctg 480
gtggacgatg tggctcgcca taaaatggat aaggaaatca acaataggac gtgtgaagtc 540
attaaggatg gcaggttcaa agttgctaag tggaaagaaa ttcaagttgg agacgtcatt 600
cgtctgaaaa aaaatgattt tgttccagct gacattctcc tgctgtctag ctctgagcct 660
aacagcctct gctatgtgga aacagcagaa ctggatggag aaaccaattt aaaatttaag 720
atgtcacttg aaatcacaga ccagtacctc caaagagaag atacattggc tacatttgat 780
ggttttattg aatgtgaaga acccaataac agactagata agtttacagg aacactattt 840

tgagaaaca caagttttcc ttggatgct gataaaattt tgttacgtgg ctgtgtaatt	900
aggaacaccg atttctgcc cggcttagtc atttttgcag gtgctgacac taaaataatg	960
aagaatagtg ggaaaaccag atttaaaaga actaaaattg attacttgat gaactacatg	1020
gtttacacga tctttgttgt tcttattctg ctttctgctg gtcttgccat cggccatgct	1080
tattgggaag cacagggtgg caattcctct tggtaacctct atgatggaga agacgatata	1140
ccctcctacc gtggattcct catTTTTctgg ggctatatca ttgttctcaa caccatggta	1200
cccatctctc tctatgtcag cgtggaagtg attcgtcttg gacagagtca cttcatcaac	1260
tgggacctgc aaatgtacta tgctgagaag gacacacccg caaaagctag aaccaccaca	1320
ctcaatgaac agctcgggca gatccattat atcttctctg ataagacggg gacactcaca	1380
caaaatatca tgacctttaa aaagtgtgt atcaacgggc agatatatgg ggaccatcgg	1440
gatgcctctc aacacaacca caacaaaata gagcaagttg attttagctg gaatacatat	1500
gctgatggga agcttgcat ttagtaccac tatcttattg agcaaatcca gtcagggaaa	1560
gagccagaag tacgacagtt cttcttcttg ctcgcagttt gccacacagt catggtggat	1620
aggactgatg gtcagctcaa ctaccaggca gcctctccc atgaagggtgc cctggtaaac	1680
gctgccagga actttggctt tgccttcctc gccaggaccc agaaccacat caccatcagt	1740
gaactgggca ctgaaaggac ttacaatgtt cttgccattt tggacttcaa cagtgaccgg	1800
aagcgaatgt ctatcattgt aagaaccca gaaggcaata tcaagcttta ctgtaaaggt	1860
gctgacactg ttatttatga acggttacat cgaatgaatc ctactaagca agaaacacag	1920
gatgccctgg atatctttgc aaatgaaact cttagaaccc tatgcctttg ctacaaggaa	1980
attgaagaaa aagaatttac agaatggaat aaaaagtta tggctgccag tgtggcctcc	2040
accaaccggg acgaagctct ggataaagta tatgaggaga ttgaaaaaga cttaattctc	2100
ctgggagcta cagctattga agacaagcta caggatggag ttccagaaac catttcaaaa	2160
cttgcaaaag ctgacattaa gatctgggtg cttactggag acaaaaagga aactgctgaa	2220
aatataggat ttgcttgtga acttctgact gaagacacca ccatctgcta tggggaggat	2280
attaattctc ttcttcatgc aaggatggaa aaccagagga atagaggtgg cgtctacgca	2340
aagtttgac ctctgtgca ggaatctttt ttccacccg gtggaaaccg tgccttaatc	2400
atcactgggt cttggttgaa tgaaattctt ctcgagaaaa agaccaagag aaataagatt	2460
ctgaagctga agttcccaag aacagaagaa gaaagacgga tgcggaccca aagtaaaagg	2520
aggctagaag ctaagaaaga gcagcggcag aaaaactttg tggacctggc ctgcgagtgc	2580
agcgcagtca tctgtgccg cgtcaccccc aagcagaagg ccatggtggt ggacctggtg	2640
aagaggtaca agaaagccat cacgtggcc atcggagatg gggccaatga cgtgaacatg	2700
atcaaaaactg ccacattgg cgttggaata agtggaacaag aaggaatgca agctgtcatg	2760
tcgagtgact attcctttgc tcagttccga tatctgcaga ggctactgct ggtgcatggc	2820
cgatggtctt acataaggat gtgcaagtgc ctacgatact tcttttataa aaactttgcc	2880
tttactttgg ttcatTTctg gtactccttc ttcaatggct actctgcgca gactgcatac	2940
gaggattggt tcatcaccct ctacaacgtg ctgtacacca gcctgcccgt gtcctcatg	3000
gggctgctcg accaggatgt gagtgacaaa ctgagcctcc gattccctgg gttatacata	3060
gtgggacaaa gagacttact attcaactat aagagattct ttgtaagctt gttgcatggg	3120

```

gtcctaacat cgatgatcct cttcttcata cctcttgag cttatctgca aaccgtaggg 3180
caggatggag aggcaccttc cgactaccag tcttttgccg tcaccattgc ctctgctctt 3240
gtaataacag tcaatttcca gattggcttg gatacttctt attggacttt tgtgaatgct 3300
ttttcaattt ttggaagcat tgcactttat ttggcatca tgtttgactt tcatagtgtc 3360
ggaatacatg ttctctttcc atctgcattt caatttacag gcacagcttc aaacgctctg 3420
agacagccat acatttggtt aactatcatc ctggctgttg ctgtgtgctt actaccgctc 3480
gttgccattc gattcctgtc aatgaccatc tggccatcag aaagtataa gatccagaag 3540
catcgcaagc ggttgaaggc ggaggagcag tggcagcgac ggcagcaggt gttccgccgg 3600
ggcgtgtcaa cgcggcgctc ggccacgcc ttctcgacc agcggggcta cgcggacctc 3660
atctcctccg ggcgcagcat ccgcaagaag cgctcgccgc ttgatgcat cgtggcggat 3720
ggcaccgcgg agtacaggcg caccggggac agctga 3756

```

```

<210> 3
<211> 1321
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```
<400> 3
```

```

Met Ser Asp Ser Val Ile Leu Arg Ser Ile Lys Lys Phe Gly Glu Glu
1           5           10           15

```

```

Asn Asp Gly Phe Glu Ser Asp Lys Ser Tyr Asn Asn Asp Lys Lys Ser
          20           25           30

```

```

Arg Leu Gln Asp Glu Lys Lys Gly Asp Gly Val Arg Val Gly Phe Phe
          35           40           45

```

```

Gln Leu Phe Arg Phe Ser Ser Ser Thr Asp Ile Trp Leu Met Phe Val
50           55           60

```

```

Gly Ser Leu Cys Ala Phe Leu His Gly Ile Ala Gln Pro Gly Val Leu
65           70           75           80

```

```

Leu Ile Phe Gly Thr Met Thr Asp Val Phe Ile Asp Tyr Asp Val Glu
          85           90           95

```

```

Leu Gln Glu Leu Gln Ile Pro Gly Lys Ala Cys Val Asn Asn Thr Ile
100           105           110

```

```

Val Trp Thr Asn Ser Ser Leu Asn Gln Asn Met Thr Asn Gly Thr Arg
115           120           125

```

```

Cys Gly Leu Leu Asn Ile Glu Ser Glu Met Ile Lys Phe Ala Ser Tyr
130           135           140

```

```

Tyr Ala Gly Ile Ala Val Ala Val Leu Ile Thr Gly Tyr Ile Gln Ile
145           150           155           160

```

```

Cys Phe Trp Val Ile Ala Ala Ala Arg Gln Ile Gln Lys Met Arg Lys
165           170           175

```

```

Phe Tyr Phe Arg Arg Ile Met Arg Met Glu Ile Gly Trp Phe Asp Cys
180           185           190

```

Asn Ser Val Gly Glu Leu Asn Thr Arg Phe Ser Asp Asp Ile Asn Lys
 195 200 205
 Ile Asn Asp Ala Ile Ala Asp Gln Met Ala Leu Phe Ile Gln Arg Met
 210 215 220
 Thr Ser Thr Ile Cys Gly Phe Leu Leu Gly Phe Phe Arg Gly Trp Lys
 225 230 235 240
 Leu Thr Leu Val Ile Ile Ser Val Ser Pro Leu Ile Gly Ile Gly Ala
 245 250 255
 Ala Thr Ile Gly Leu Ser Val Ser Lys Phe Thr Asp Tyr Glu Leu Lys
 260 265 270
 Ala Tyr Ala Lys Ala Gly Val Val Ala Asp Glu Val Ile Ser Ser Met
 275 280 285
 Arg Thr Val Ala Ala Phe Gly Gly Glu Lys Arg Glu Val Glu Arg Tyr
 290 295 300
 Glu Lys Asn Leu Val Phe Ala Gln Arg Trp Gly Ile Arg Lys Gly Ile
 305 310 315 320
 Val Met Gly Phe Phe Thr Gly Phe Val Trp Cys Leu Ile Phe Leu Cys
 325 330 335
 Tyr Ala Leu Ala Phe Trp Tyr Gly Ser Thr Leu Val Leu Asp Glu Gly
 340 345 350
 Glu Tyr Thr Pro Gly Thr Leu Val Gln Ile Phe Leu Ser Val Ile Val
 355 360 365
 Gly Ala Leu Asn Leu Gly Asn Ala Ser Pro Cys Leu Glu Ala Phe Ala
 370 375 380
 Thr Gly Arg Ala Ala Ala Thr Ser Ile Phe Glu Thr Ile Asp Arg Lys
 385 390 395 400
 Pro Ile Ile Asp Cys Met Ser Glu Asp Gly Tyr Lys Leu Asp Arg Ile
 405 410 415
 Lys Gly Glu Ile Glu Phe His Asn Val Thr Phe His Tyr Pro Ser Arg
 420 425 430
 Pro Glu Val Lys Ile Leu Asn Asp Leu Asn Met Val Ile Lys Pro Gly
 435 440 445
 Glu Met Thr Ala Leu Val Gly Pro Ser Gly Ala Gly Lys Ser Thr Ala
 450 455 460
 Leu Gln Leu Ile Gln Arg Phe Tyr Asp Pro Cys Glu Gly Met Val Thr
 465 470 475 480
 Val Asp Gly His Asp Ile Arg Ser Leu Asn Ile Gln Trp Leu Arg Asp
 485 490 495

Gln Ile Gly Ile Val Glu Gln Glu Pro Val Leu Phe Ser Thr Thr Ile
 500 505 510

Ala Glu Asn Ile Arg Tyr Gly Arg Glu Asp Ala Thr Met Glu Asp Ile
 515 520 525

Val Gln Ala Ala Lys Glu Ala Asn Ala Tyr Asn Phe Ile Met Asp Leu
 530 535 540

Pro Gln Gln Phe Asp Thr Leu Val Gly Glu Gly Gly Gly Gln Met Ser
 545 550 555 560

Gly Gly Gln Lys Gln Arg Val Ala Ile Ala Arg Ala Leu Ile Arg Asn
 565 570 575

Pro Lys Ile Leu Leu Leu Asp Met Ala Thr Ser Ala Leu Asp Asn Glu
 580 585 590

Ser Glu Ala Met Val Gln Glu Val Leu Ser Lys Ile Gln His Gly His
 595 600 605

Thr Ile Ile Ser Val Ala His Arg Leu Ser Thr Val Arg Ala Ala Asp
 610 615 620

Thr Ile Ile Gly Phe Glu His Gly Thr Ala Val Glu Arg Gly Thr His
 625 630 635 640

Glu Glu Leu Leu Glu Arg Lys Gly Val Tyr Phe Thr Leu Val Thr Leu
 645 650 655

Gln Ser Gln Gly Asn Gln Ala Leu Asn Glu Glu Asp Ile Lys Asp Ala
 660 665 670

Thr Glu Asp Asp Met Leu Ala Arg Thr Phe Ser Arg Gly Ser Tyr Gln
 675 680 685

Asp Ser Leu Arg Ala Ser Ile Arg Gln Arg Ser Lys Ser Gln Leu Ser
 690 695 700

Tyr Leu Val His Glu Pro Pro Leu Ala Val Val Asp His Lys Ser Thr
 705 710 715 720

Tyr Glu Glu Asp Arg Lys Asp Lys Asp Ile Pro Val Gln Glu Glu Val
 725 730 735

Glu Pro Ala Pro Val Arg Arg Ile Leu Lys Phe Ser Ala Pro Glu Trp
 740 745 750

Pro Tyr Met Leu Val Gly Ser Val Gly Ala Ala Val Asn Gly Thr Val
 755 760 765

Thr Pro Leu Tyr Ala Phe Leu Phe Ser Gln Ile Leu Gly Thr Phe Ser
 770 775 780

Ile Pro Asp Lys Glu Glu Gln Arg Ser Gln Ile Asn Gly Val Cys Leu
 785 790 795 800

Leu Phe Val Ala Met Gly Cys Val Ser Leu Phe Thr Gln Phe Leu Gln
 805 810 815
 Gly Tyr Ala Phe Ala Lys Ser Gly Glu Leu Leu Thr Lys Arg Leu Arg
 820 825 830
 Lys Phe Gly Phe Arg Ala Met Leu Gly Gln Asp Ile Ala Trp Phe Asp
 835 840 845
 Asp Leu Arg Asn Ser Pro Gly Ala Leu Thr Thr Arg Leu Ala Thr Asp
 850 855 860
 Ala Ser Gln Val Gln Gly Ala Ala Gly Ser Gln Ile Gly Met Ile Val
 865 870 875 880
 Asn Ser Phe Thr Asn Val Thr Val Ala Met Ile Ile Ala Phe Ser Phe
 885 890 895
 Ser Trp Lys Leu Ser Leu Val Ile Leu Cys Phe Phe Pro Phe Leu Ala
 900 905 910
 Leu Ser Gly Ala Thr Gln Thr Arg Met Leu Thr Gly Phe Ala Ser Arg
 915 920 925
 Asp Lys Gln Ala Leu Glu Met Val Gly Gln Ile Thr Asn Glu Ala Leu
 930 935 940
 Ser Asn Ile Arg Thr Val Ala Gly Ile Gly Lys Glu Arg Arg Phe Ile
 945 950 955 960
 Glu Ala Leu Glu Thr Glu Leu Glu Lys Pro Phe Lys Thr Ala Ile Gln
 965 970 975
 Lys Ala Asn Ile Tyr Gly Phe Cys Phe Ala Phe Ala Gln Cys Ile Met
 980 985 990
 Phe Ile Ala Asn Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Gly Gly Tyr Leu Ile Ser
 995 1000 1005
 Asn Glu Gly Leu His Phe Ser Tyr Val Phe Arg Val Ile Ser Ala
 1010 1015 1020
 Val Val Leu Ser Ala Thr Ala Leu Gly Arg Ala Phe Ser Tyr Thr
 1025 1030 1035
 Pro Ser Tyr Ala Lys Ala Lys Ile Ser Ala Ala Arg Phe Phe Gln
 1040 1045 1050
 Leu Leu Asp Arg Gln Pro Pro Ile Ser Val Tyr Asn Thr Ala Gly
 1055 1060 1065
 Glu Lys Trp Asp Asn Phe Gln Gly Lys Ile Asp Phe Val Asp Cys
 1070 1075 1080
 Lys Phe Thr Tyr Pro Ser Arg Pro Asp Ser Gln Val Leu Asn Gly
 1085 1090 1095

Leu Ser Val Ser Ile Ser Pro Gly Gln Thr Leu Ala Phe Val Gly
 1100 1105 1110
 Ser Ser Gly Cys Gly Lys Ser Thr Ser Ile Gln Leu Leu Glu Arg
 1115 1120 1125
 Phe Tyr Asp Pro Asp Gln Gly Lys Val Met Ile Asp Gly His Asp
 1130 1135 1140
 Ser Lys Lys Val Asn Val Gln Phe Leu Arg Ser Asn Ile Gly Ile
 1145 1150 1155
 Val Ser Gln Glu Pro Val Leu Phe Ala Cys Ser Ile Met Asp Asn
 1160 1165 1170
 Ile Lys Tyr Gly Asp Asn Thr Lys Glu Ile Pro Met Glu Arg Val
 1175 1180 1185
 Ile Ala Ala Ala Lys Gln Ala Gln Leu His Asp Phe Val Met Ser
 1190 1195 1200
 Leu Pro Glu Lys Tyr Glu Thr Asn Val Gly Ser Gln Gly Ser Gln
 1205 1210 1215
 Leu Ser Arg Gly Glu Lys Gln Arg Ile Ala Ile Ala Arg Ala Ile
 1220 1225 1230
 Val Arg Asp Pro Lys Ile Leu Leu Leu Asp Glu Ala Thr Ser Ala
 1235 1240 1245
 Leu Asp Thr Glu Ser Glu Lys Thr Val Gln Val Ala Leu Asp Lys
 1250 1255 1260
 Ala Arg Glu Gly Arg Thr Cys Ile Val Ile Ala His Arg Leu Ser
 1265 1270 1275
 Thr Ile Gln Asn Ala Asp Ile Ile Ala Val Met Ala Gln Gly Val
 1280 1285 1290
 Val Ile Glu Lys Gly Thr His Glu Glu Leu Met Ala Gln Lys Gly
 1295 1300 1305
 Ala Tyr Tyr Lys Leu Val Thr Thr Gly Ser Pro Ile Ser
 1310 1315 1320

<210> 4
 <211> 3966
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 4
 atgtctgact cagtaattct tcgaagtata aagaaatttg gagaggagaa tgatggtttt 60
 gagttagata aatcatataa taatgataag aaatcaaggt tacaagatga gaagaaaggt 120
 gatggcggtta gagttggctt ctttcaattg tttcggtttt cttcatcaac tgacatttgg 180
 ctgatgtttg tgggaagttt gtgtgcattt ctccatggaa tagccagcc aggcgtgcta 240
 ctcatTTTTg gcacaatgac agatgttttt attgactacg acgttgagtt acaagaactc 300
 cagattccag gaaaagcatg tgtgaataac accattgtat ggactaacag ttccctcaac 360

cagaacatga caaatggaac acgttggtggg ttgctgaaca tcgagagcga aatgatcaaa	420
tttgccagtt actatgctgg aattgctgtc gcagtgactta tcacaggata tattcaaata	480
tgcttttggg tcattgccgc agctcgtcag atacagaaaa tgagaaaatt ttacttttagg	540
agaataatga gaatggaat aggggtggtt gactgcaatt cagtggggga gctgaataga	600
agattctctg atgatattaa taaaatcaat gatgccatag ctgaccaaatt ggcccttttc	660
attcagcgca tgacctcgac catctgtggt ttcctgttgg gatttttcag gggttggaaa	720
ctgaccttgg ttattatttc tgtcagccct ctcatggga ttggagcagc caccattggt	780
ctgagtgtgt ccaagtttac ggactatgag ctgaaggcct atgccaagc aggggtggtg	840
gctgatgaag tcatttcac aatgagaaca gtggctgctt ttggtggtga gaaaagagag	900
gttgaaaggt atgagaaaa tcttgtgttc gccagcgtt ggggaattag aaaaggaata	960
gtgatgggat tctttactgg attcgtgtgg tgtctcatct ttttgtgtta tgcactggcc	1020
ttctggtacg gctccacact tgtcctggat gaaggagaat atacaccagg aaccttgtc	1080
cagattttcc tcagtgtcat agtaggagct ttaaactctg gcaatgcctc tcctgtttg	1140
gaagcctttg caactggacg tgcagcagcc accagcattt ttgagacaat agacaggaaa	1200
cccatcattg actgcatgtc agaagatggt tacaagttgg atcgaatcaa gggtgaaatt	1260
gaattccata atgtgacctt ccattatcct tccagaccag aggtgaagat tctaaatgac	1320
ctcaacatgg tcattaaacc aggggaaatg acagctctgg taggaccagc ttgagctgga	1380
aaaagtacag cactgcaact cattcagcga ttctatgacc cctgtgaagg aatggtgacc	1440
gtggatggcc atgacattcg ctctcttaac attcagtggc ttagagatca gattgggata	1500
gtggagcaag agccagttct gttctctacc accattgcag aaaatattcg ctatggcaga	1560
gaagatgcaa caatggaaga catagtccaa gctgccaaag aggccaatgc ctacaacttc	1620
atcatggacc tgccacagca atttgacacc ctgtttggag aaggaggagg ccagatgagt	1680
ggtggccaga aacaaagggt agctatcgcc agagccctca tccgaaatcc caagattctg	1740
cttttgga ca tggccacctc agctctggac aatgagagtg aagccatggt gcaagaagtg	1800
ctgagtaaga ttcagcatgg gcacacaatc atttcagttg ctcatcgctt gtctacggtc	1860
agagctgcag ataccatcat tggttttgaa catggcactg cagtggaaag agggaccat	1920
gaagaattac tggaaaggaa aggtgtttac ttcactctag tgactttgca aagccaggga	1980
aatcaagctc ttaatgaaga ggacataaag gatgcaactg aagatgacat gcttgcgagg	2040
acctttagca gagggagcta ccaggatagt ttaagggtt ccatccggca acgctccaag	2100
tctcagcttt cttacctggt gcacgaacct ccattagctg ttgtagatca taagtctacc	2160
tatgaagaag atagaaagga caaggacatt cctgtgcagg aagaagttga acctgcccc	2220
gttaggagga ttctgaaatt cagtgtctca gaatggccct acatgctggt agggctctgtg	2280
ggtgcagctg tgaacgggac agtcacaccc ttgtatgcct ttttattcag ccagattctt	2340
gggacttttt caattcctga taaagaggaa caaaggtcac agatcaatgg tgtgtgccta	2400
ctttttgtag caatgggctg tgtatctctt ttcaccaat ttctacaggg atatgccttt	2460
gctaaatctg gggagctcct aacaaaaagg ctacgtaaat ttggtttcag ggcaatgctg	2520
gggcaagata ttgcttggtt tgatgacctc agaaatagcc ctggagcatt gacaacaaga	2580
cttgctacag atgcttccca agttcaaggg gctgccggct ctcagatcgg gatgatagtc	2640

aattccttca ctaacgtcac tgtggccatg atcattgcct tctcctttag ctggaagctg	2700
agcctggtca tcttgtgctt cttccccttc ttggctttat caggagccac acagaccagg	2760
atgttgacag gatttgcctc tcgagataag caggcccttg agatggtggg acagattaca	2820
aatgaagccc tcagtaacat ccgcactgtt gctggaattg gaaaggagag gcggttcatt	2880
gaagcacttg agactgagct ggagaagccc ttcaagacag ccattcagaa agccaatatt	2940
tacggattct gctttgcctt tgcccagtgc atcatgttta ttgcgaattc tgcttcctac	3000
agatatggag gttacttaat ctccaatgag gggctccatt tcagctatgt gttcagggtg	3060
atctctgcag ttgtactgag tgcaacagct cttggaagag ccttctctta caccccaagt	3120
tatgcaaaaag ctaaaatata agctgcacgc ttttttcaac tgctggaccg acaaccccca	3180
atcagtgtat acaatactgc aggtgaaaaa tgggacaact tccaggggaa gattgatttt	3240
gttgattgta aatttacata tccttctcga cctgactcgc aagttctgaa tggctctca	3300
gtgtcgatta gtccagggca gacactggcg tttgttggga gcagtggatg tggcaaaagc	3360
actagcattc agctgttga acgtttctat gatcctgac aagggaaggt gatgatagat	3420
ggtcatgaca gcaaaaaagt aaatgtccag ttcctccgct caaacattgg aattgtttcc	3480
caggaaccag tgttgtttgc ctgtagcata atggacaata tcaagtatgg agacaacacc	3540
aaagaaattc ccatggaaag agtcatagca gctgcaaac aggtcagct gcatgatttt	3600
gtcatgtcac tcccagagaa atatgaaact aacgttgggt cccaggggtc tcaactctct	3660
agaggggaga aacaacgcat tgctattgct cgggccattg tacgagatcc taaaatcttg	3720
ctactagatg aagccacttc tgcccttagac acagaaaagtg aaaagacggt gcaggttgct	3780
ctagacaaaag ccagagaggg tcggacctgc attgtcattg cccatcgctt gtccaccatc	3840
cagaacgcgg atatcattgc tgtcatggca cagggggtgg tgattgaaaa ggggacccat	3900
gaagaactga tggcccaaaa aggagcctac taaaaactag tcaccactgg atcccccatc	3960
agttga	3966