

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 581 557**

51 Int. Cl.:

<b>C07D 239/47</b>	(2006.01) <b>A61P 29/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/505</b>	(2006.01) <b>A61P 31/12</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/06</b>	(2006.01) <b>A61P 33/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 9/10</b>	(2006.01) <b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 13/08</b>	(2006.01) <b>A61P 43/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 13/12</b>	(2006.01)	
<b>A61P 17/06</b>	(2006.01)	
<b>A61P 19/10</b>	(2006.01)	
<b>A61P 25/28</b>	(2006.01)	
<b>A61P 27/02</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2011 E 11789909 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.04.2016 EP 2578574**

54 Título: **Derivado de dibencilamina ópticamente activo y procedimiento de fabricación para el mismo**

30 Prioridad:

**29.09.2010 JP 2010218299**  
**04.06.2010 JP 2010128585**

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

**06.09.2016**

73 Titular/es:

**KOWA COMPANY, LTD. (100.0%)**  
**6-29, Nishiki 3-chome**  
**Naka-kuNagoya-shi, Aichi-ken 460-8625**

72 Inventor/es:

**OHGIYA TADAAKI;**  
**MURAKAMI TAKESHI;**  
**MIYOSAWA KATSUTOSHI;**  
**SHIBUYA KIMIYUKI;**  
**YAMAZAKI KOICHI y**  
**KUSAKABE TAICHI**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 581 557 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivado de dibencilamina ópticamente activo y procedimiento de fabricación para el mismo

**Campo técnico**

5 La presente invención se refiere a un derivado de dibencilamina ópticamente activo útil como ingrediente activo de medicamento o similar y a un procedimiento para preparar el mismo.

**Técnica anterior**

10 En los últimos años, los pacientes que padecen dislipidemia (hiperlipidemia) y enfermedades arterioescleróticas inducidas de este modo se han incrementado rápidamente debido a cambios en los hábitos alimenticios para tomar alimentos de tipo rico en calorías y rico en colesterol con una mejora de un nivel de vida, obesidad, falta de ejercicio, envejecimiento, y similares. Se ha revelado a partir de muchas investigaciones etiológicas incluyendo el estudio de Framingham que un nivel de colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se correlaciona positivamente con una tasa de aparición de cardiopatías. Por lo tanto, en los tratamientos farmacológicos para dislipidemia y arterioesclerosis, se ha dado prioridad de forma importante a la reducción de un valor de colesterol-LDL (documento distinto de patente 1).

15 Para la hipercolesterolemia-LDL, que es uno de los factores de riesgo potentes de las cardiovasculopatías, los procedimientos terapéuticos han progresado notablemente por el lanzamiento de inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas). Sin embargo, aunque las estatinas reducen de forma potente el colesterol-LDL, la disminución de los accidentes cardíacos y la mortalidad de las cardiovasculopatías sigue siendo tan alta como de aproximadamente un 30 %. Se considera que se puede lograr un riesgo de mortalidad menor de cardiovasculopatías reduciendo adicionalmente el colesterol-LDL. Sin embargo, no se puede aplicar una administración de dosis alta de estatinas debido a la potenciación del incremento en el riesgo de rabiomólisis.

20 Por lo tanto, se ha deseado un medicamento que tenga una acción de reducción potente sobre la colesterolemia-LDL y se base en un modo de acción diferente del de las estatinas.

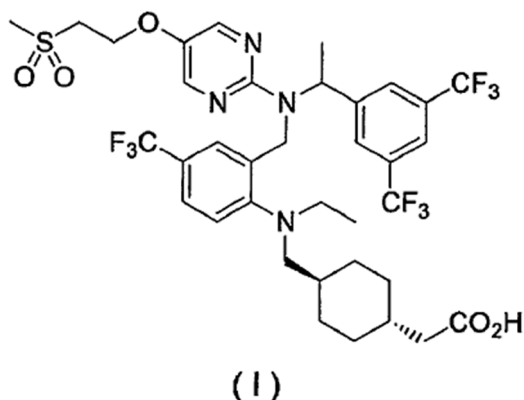
25 Las proproteína convertasas (PC) son miembros de la familia de las serina proteasas de mamífero, de las que se ha observado homología con subtilisina en bacterias y quexina en levaduras. Una de las PC, la PCSK9 (proproteína convertasa subtilisina/quexina 9), se expresa principalmente en el hígado y se secreta extracelularmente, y a continuación se une con el receptor de LDL en las superficies de membrana de los hepatocitos para promover la migración del receptor de LDL en las células. El receptor de LDL migrado en las células se descompone por orgánulos celulares. Puesto que el receptor de LDL tiene una función de transporte de las lipoproteínas que contienen el colesterol de LDL al hígado desde la sangre en circulación, la producción de la proteína PCSK9 inhibe la captación de la colesterolemia de LDL en el hígado, lo que da como resultado un incremento en el nivel de colesterolemia de LDL. De hecho, se sabe que el nivel de colesterolemia de LDL es alto en seres humanos con una mutación de tipo de adquisición de función en el gen PCSK9, que se refiere a hipercolesterolemia autosómica dominante (documento distinto de patente 2). Mientras, un nivel de colesterolemia de LDL bajo se mantiene en los seres humanos con una mutación de tipo pérdida de función en el gen PCSK9 (documento distinto de patente 3). Además, se ha demostrado en un animal que el nivel de colesterol de LDL es bajo en ratones carentes del gen PCSK9 del hígado (documento distinto de patente 4).

30 A partir de los motivos expuestos anteriormente, se considera que la reducción de la cantidad de la proteína PCSK9 por supresión de la producción de la misma o la inhibición contra la función de la proteína PCSK9 da lugar a un incremento en la cantidad de receptor de LDL, y por tanto, proporciona una acción de reducción del colesterol de LDL potente.

35 En las circunstancias, se han llevado a cabo recientemente investigaciones activas sobre la inhibición funcional de la proteína PCSK9 o la supresión de la producción de la misma. Por ejemplo, como las que usan un anticuerpo u oligonucleótido antisentido, se ha informado de la inhibición funcional de la proteína PCSK9 usando un anticuerpo monoclonal dirigido a PCSK9, la supresión de la producción de proteína PCSK9 basada en la interferencia de ARN, y similares (documentos distintos de patente 5 a 7). Además, como las que usan un compuesto de bajo peso molecular, se ha informado de que la berberina reduce el nivel de ARNm y proteínas de PCSK9 en células HepG2 (documento distinto de patente 8), y la 5-azacitidina, que es un activador de la anexina A2, promueve la unión de la proteína PCSK9 con anexina A2 y suprime la descomposición del receptor de LDL (documento de patente 1). Sin embargo, casi no se ha informado de compuestos con un bajo peso molecular como inhibidores contra la función de la proteína PCSK9 o supresores contra la producción de proteína PCSK9 a excepción de los mencionados anteriormente.

40 El documento de patente 2 divulga compuestos de pirimidina que tienen una estructura de dibencilamina, que tienen una actividad inhibidora potente contra la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP), y también tienen una acción de incremento de la colesterolemia de las HDL. El documento divulga el compuesto de la siguiente fórmula (I) como un racemato en el ejemplo 45:

[Fórmula 1]



ácido

5 (trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil  
(etil)amino)metil]ciclohexil}acético, de ahora en adelante también denominado "compuesto racémico (I)" en la  
memoria descriptiva). Sin embargo, no se ha descrito o sugerido ninguna relación entre el compuesto racémico (I) y la  
proteína PCSK9.

10 Puesto que las PC tienen influencias sobre la proliferación, motilidad, adherencia e invasión de células cancerosas,  
se les ha dado prioridad como objetivo del tratamiento del cáncer (documento distinto de patente 9). Existe también  
una relación conocida de las PC con la obesidad, diabetes y enfermedad de Alzheimer, e implicaciones de las PC en  
enfermedades tales como enfermedades infecciosas víricas incluyendo el síndrome de inmunodeficiencia adquirida  
(sida) y el síndrome respiratorio agudo grave (SRAG) (documentos distintos de patente 10 y 11).

15 Por lo tanto, también se espera el uso de un compuesto que tenga una acción de reducción sobre la cantidad de  
proteína PCSK9 o una acción de inhibición contra la función de la proteína PCSK9 como ingrediente activo de un  
medicamento para las enfermedades mencionadas anteriormente.

#### Referencias de la técnica anterior

Documentos de patente

Documento de patente 1: Publicación de patente internacional WO2009/143633

Documento de patente 2: Publicación de patente internacional WO2008/129951

20 Documentos distintos de patente

Documento distinto de patente 1: Nippon Rinsho, Vol. 59, Extra issue 3, Hyperlipidemia (vol. 2), 381-386 (2001)

Documento distinto de patente 2: Nat. Genet., 34, 154-156 (2003)

Documento distinto de patente 3: N. Engl. J. Med., 354, 1264-1272 (2006)

Documento distinto de patente 4: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 102, 5374-5379 (2005)

25 Documento distinto de patente 5: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 106, 9820-9825 (2009)

Documento distinto de patente 6: J. Lipid Res., 48, 763-767 (2007)

Documento distinto de patente 7: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 105, 11915-11920 (2008)

Documento distinto de patente 8: Atherosclerosis, 201 (2), 266-73 (2008)

Documento distinto de patente 9: Mol. Carcinogen., 44 (3), 151-161 (2005)

30 Documento distinto de patente 10: J. Mol. Med., 83, 842-843 (2005)

Documento distinto de patente 11: J. Mol. Med., 83, 844-855 (2005)



eni})(etil)amino)metil]ciclohexil}acético sustancialmente ópticamente puro, o una sal del mismo, o un solvato del mismo).

5 Como otro aspecto, la presente invención proporciona un enantiómero levógiro de ácido trans-4-[[2-[[1-3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético, o una sal del mismo, o un solvato del mismo (preferentemente, un enantiómero levógiro sustancialmente ópticamente puro de ácido trans-4-[[2-[[1-3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético, o una sal del mismo, o un solvato del mismo).

10 La presente invención también proporciona un medicamento que comprende el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo como ingrediente activo.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que contiene el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo como ingrediente activo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15 El medicamento y la composición farmacéutica reducen la colesterolemia-LDL, y por lo tanto se pueden usar como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de un estado de colesterolemia-LDL alto (por ejemplo, hipercolesterolemia-LDL, dislipidemia (hiperlipidemia), arteriosclerosis, aterosclerosis, vasculopatías periféricas, hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, trastornos funcionales cardiovasculares, angina de pecho, isquemia, isquemia cardíaca, trombosis, infarto de miocardio, trastornos de revascularización, reestenosis de angioplastia, hipertensión, y similares).

20 La presente invención proporciona además el uso del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de un estado de colesterolemia-LDL alto; y el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo para uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de un estado de colesterolemia-LDL alto.

25 La presente invención también proporciona un agente de supresión de la expresión del ARNm de PCSK9 que comprende el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo; un agente de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 que comprende el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo; un agente de supresión de la producción de proteína PCSK9 que comprende el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo; 30 y un agente de incremento de la cantidad de receptor de LDL que comprende el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo.

La presente invención proporciona además el uso del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, para la fabricación de un agente de supresión de la expresión de ARNm de PCSK9, un agente de reducción de la cantidad de proteína PCSK9, un agente de supresión de la producción de proteína PCSK9, o un agente de incremento de la cantidad de receptor de LDL; y el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, para su uso como ingrediente activo de un agente de supresión de la expresión de ARNm de PCSK9, un agente de reducción de la cantidad de proteína PCSK9, un agente de supresión de la producción de la proteína PCSK9, o un agente de incremento de la cantidad de receptor de LDL. 35

La presente invención también proporciona un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad en la que están implicadas las PC (cáncer, obesidad, diabetes, enfermedad de Alzheimer, enfermedades infecciosas víricas, y similares) que comprende el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo. 40

La presente invención proporciona además el uso del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad en la que están implicadas las PC; y el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, para su uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad en la que están implicadas las PC. 45

Aún como otros aspectos, la presente invención proporciona un agente de supresión de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa que comprende el compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44 (ácido trans-4-[[2-[[1-3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil) amino)metil]ciclohexil}acético), o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo; un agente de supresión de la producción de HMG-CoA reductasa que comprende el compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo; y un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, inflamación, cáncer, enfermedad de Alzheimer, osteoporosis, hipertrofia prostática, enfermedades glomerulares, verminosis, infección vírica, psoriasis, degeneración macular, y similares) que contiene el compuesto racémico (I), el 55

compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo.

5 La presente invención también proporciona el uso del compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo para la fabricación de un agente de supresión de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa, un agente de supresión de la producción de HMG-CoA reductasa, o un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de la expresión de ARNm de HMG-CoA; y el compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, para su uso como ingrediente activo de un agente de supresión de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa, un agente de supresión de la producción de HMG-CoA reductasa, o un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa.

10 La presente invención también proporciona un procedimiento para suprimir la expresión de ARNm de PCSK9 en un mamífero incluyendo un ser humano *in vivo*, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano; un procedimiento para reducir la cantidad de proteína PCSK9 en un mamífero incluyendo un ser humano *in vivo*, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano; un procedimiento para incrementar la cantidad de receptor de LDL en un mamífero incluyendo un ser humano *in vivo*, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano; y un procedimiento para reducir las LDL en sangre en un mamífero incluyendo un ser humano *in vivo*, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano.

15 La presente invención también proporciona un procedimiento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de un estado de colesterolemia-LDL alto en un mamífero incluyendo un ser humano, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano.

20 La presente invención proporciona además un procedimiento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad en la que están implicadas las PC en un mamífero incluyendo un ser humano, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano.

25 La presente invención proporciona además un procedimiento para suprimir la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa en un mamífero incluyendo un ser humano *in vivo*, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, al mamífero incluyendo el ser humano; un procedimiento para suprimir la producción de la HMG-CoA reductasa en un mamífero incluyendo un ser humano *in vivo*, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo al mamífero incluyendo el ser humano; y un procedimiento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz del compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, al mamífero incluyendo el ser humano.

30 La presente invención también proporciona un procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) y/o el compuesto isómero (R) (II) en una forma sustancialmente ópticamente pura.

Aunque el documento de patente 2 describe un procedimiento para preparar el compuesto racémico (I), ha sido extremadamente difícil preparar el compuesto isómero (S) (III) o el compuesto isómero (R) (II) en una forma sustancialmente ópticamente pura como se describe a continuación.

35 Específicamente, como un punto de vista general, se sabe que un compuesto sustancialmente ópticamente puro se puede preparar sintetizando el racemato y, a continuación, sometiendo el racemato a resolución óptica usando una columna quiral.

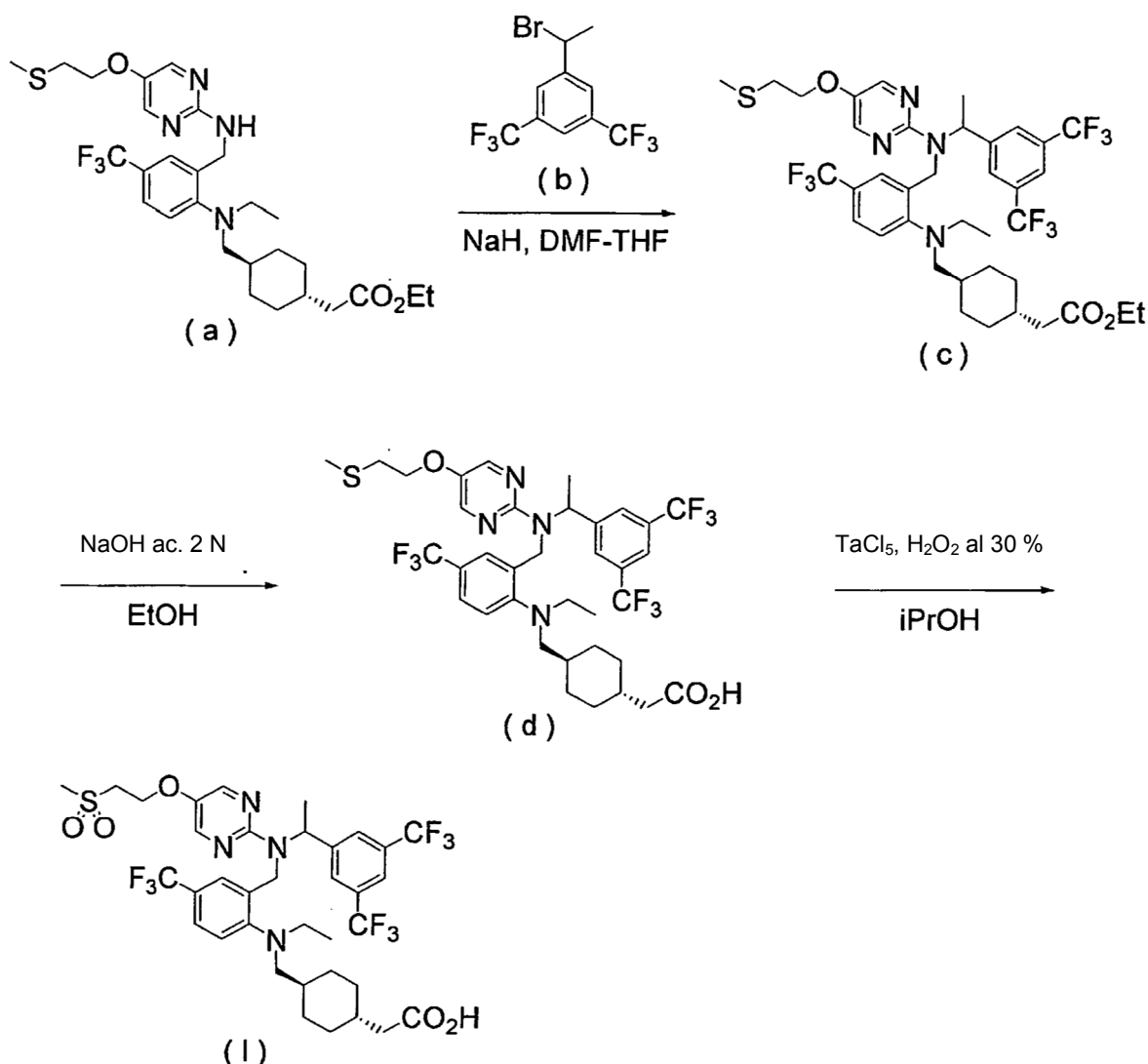
40 Sin embargo, en la resolución óptica usando una columna quiral, a veces puede ser muy difícil establecer las condiciones de la resolución para un cierto tipo de compuesto, y el procedimiento es inadecuado para la producción a escala industrial. En la práctica, se descubrió que el conjunto de las condiciones de la resolución óptica usando una columna quiral para preparar el compuesto isómero (S) (III) o compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro fue extremadamente difícil. Más específicamente, se intentó fraccionar cada enantiómero a partir del compuesto racémico (I) preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento de patente 2, ejemplo 45, mientras se cambiaban de forma diversa las condiciones tales como los tipos de una columna quiral (por

ejemplo, CHIRALCEL OD-H, CHIRALCEL OJ-H, y similares), los tipos de un disolvente usado como fase móvil (por ejemplo, mezcla de MeOH/TFA, mezcla de EtOH/TFA, y similares), y el caudal de la fase móvil. Sin embargo, en casi todas las condiciones aplicadas la resolución no fue satisfactoria. En estas circunstancias, se descubrió que cada enantiómero se separó de forma satisfactoria en las condiciones descritas en el ejemplo 1-1, que se mencionarán más adelante. Sin embargo, también se descubrió que se produjo un producto de descomposición (compuesto de éster etílico) en las condiciones mencionadas anteriormente.

El documento de patente 2 también divulga que el compuesto racémico (I) se puede preparar por un procedimiento que comprende las etapas de acoplar un compuesto intermedio (a) y un compuesto de bromuro de bencilo racémico (b) en presencia de una base, hidrolizar el grupo éster del compuesto resultante (c) preparar un compuesto (d), y finalmente oxidar el átomo de azufre del compuesto (d) de acuerdo con el esquema 1 mostrado a continuación.

Esquema 1

[Fórmula 4]



Con referencia al esquema 1, los inventores de la presente invención intentaron obtener el compuesto isómero (S) (III) o el compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro usando 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-1-metanosulfonyloxietano ópticamente activo en lugar del compuesto de bromuro de bencilo racémico (b). Sin embargo, se produjo preferencialmente la reacción de eliminación de 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-1-metanosulfonyloxietano, y no se obtuvo de forma satisfactoria el compuesto objetivo.

Además, se intentó adicionalmente la preparación usando un agente de bencilación ópticamente activo que tenía un grupo saliente tal como un grupo toluenosulfonylo, un grupo clorometanosulfonylo, o un grupo 2,4,6-triisopropilbencenosulfonylo en lugar del grupo metanosulfonylo. Sin embargo, no se obtuvo de forma

satisfactoria el compuesto isómero (S) (III) o el compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro como en el caso del uso de 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-1-metanosulfoniloxietano.

5 Cuando se usó el compuesto bromuro de bencilo (b), ya se logró de forma satisfactoria la introducción del grupo [3,5-bis(trifluorometil)fenil]-1-etilo en el átomo de nitrógeno del compuesto intermedio (a). En consecuencia, se puede contemplar obtener el compuesto isómero (S) (III) o compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro usando un compuesto de bromuro de bencilo ópticamente activo en lugar del compuesto de bromuro de bencilo racémico (b).

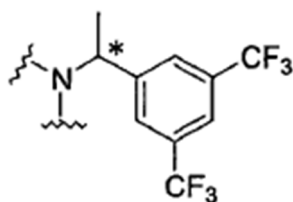
10 Sin embargo, se sabe en general que, en una reacción de sustitución nucleófila en la que se elimina el ion bromuro, el ion bromuro producido por la reacción reacciona con bromuro de bencilo en el sistema de reacción, y la racemización avanza. Además, también se conoce en general que, en una reacción de sustitución nucleófila en la posición de bencilo, también se produce de forma competitiva una reacción de sustitución tipo SN1 debido a la estabilización del catión bencilo, y por lo tanto se produce parcialmente la racemización.

15 En cuanto al compuesto que tiene una pureza óptica moderada obtenido como resultado de la disminución en la pureza óptica debido a una racemización parcial (en la memoria descriptiva, "compuesto que tiene una pureza óptica moderada" quiere decir un compuesto que tiene una pureza óptica no inferior a aproximadamente un 10 % de ee e inferior a aproximadamente un 90 % de ee, preferentemente de aproximadamente un 20 a un 80 % de ee, y más preferentemente de aproximadamente un 40 a un 70 % de ee, y el compuesto que tiene la pureza óptica moderada también se puede denominar de ahora en adelante "compuesto semiquiral". Además, en cuanto al compuesto

20 mostrada a continuación está en la configuración S, está presente en una cantidad mayor en comparación con un compuesto en la configuración R, el compuesto se denomina específicamente "compuesto semiquiral con isómero (S) dominante". Mientras que, en cuanto al compuesto semiquiral, cuando el compuesto en el que el átomo de carbono asimétrico indicado con \* está en la configuración R, está presente en una cantidad mayor en comparación con el compuesto en la configuración S, el compuesto se denomina específicamente "compuesto semiquiral con isómero (R) dominante"),

25

[Fórmula 5]



se sabe que la pureza óptica del mismo se puede incrementar cristalizando preferencialmente uno de los enantiómeros.

30 Sin embargo, de acuerdo con el estudio de los inventores de la presente invención, la cristalización no avanzó en el caso del compuesto racémico (I) o un derivado de éster etílico del mismo, y la pureza óptica del mismo no se incrementó de forma satisfactoria por la cristalización preferencial.

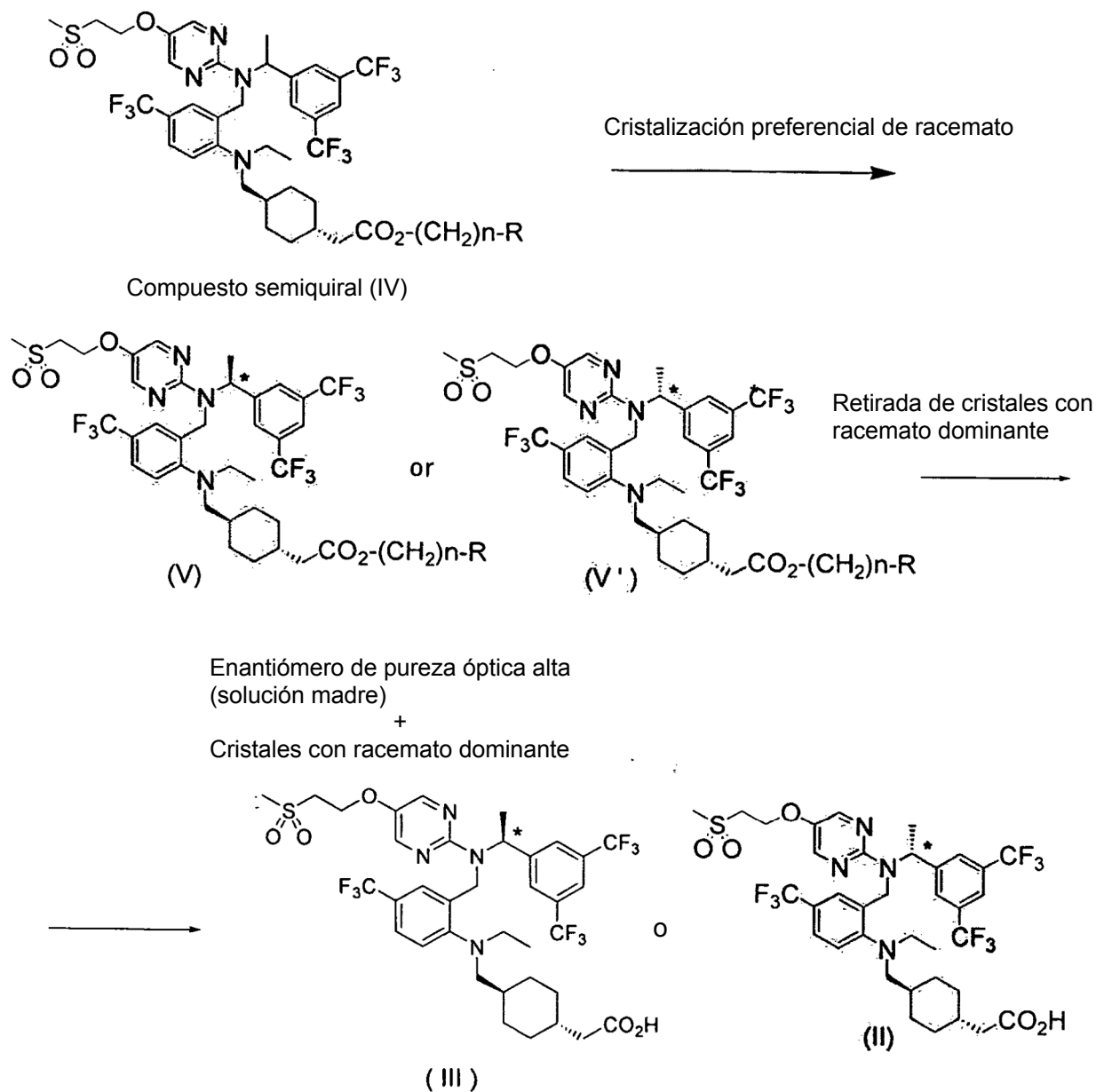
35 En las circunstancias como se describe anteriormente, los inventores de la presente invención convirtieron el ácido carboxílico del compuesto racémico (I) en un éster bencilico, y descubrieron que el compuesto de éster bencilico resultante se aisló de forma satisfactoria como un cristal que comprende el racemato como componente principal.

40 A continuación, preparando un compuesto semiquiral (IV) de un compuesto de éster de arilalquilo o heteroarilalquilo, y a continuación cristalizando los cristales de una pureza óptica baja que contenían predominantemente el racemato como componente (de ahora en adelante también denominados "cristales con racemato dominante") y retirando los cristales para obtener un compuesto de éster de arilalquilo o heteroarilalquilo (V) o (V') con una pureza óptica alta y, a continuación, usando el compuesto (V) o (V') como material de partida como se muestra en el esquema 2 mencionado a continuación, los inventores prepararon de forma satisfactoria un enantiómero deseado del compuesto racémico (I) (compuesto isómero (S) (III) o compuesto isómero (R) (II)) en una forma sustancialmente ópticamente pura.

Esquema 2

45 [Fórmula 6]

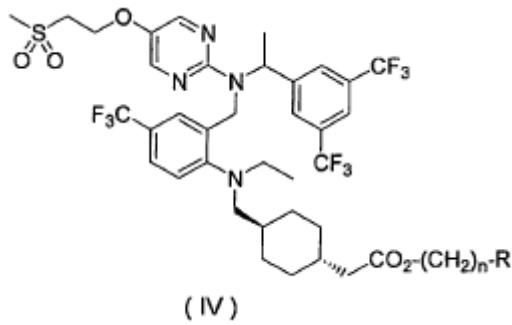




(En el esquema, R representa un grupo arilo C<sub>6-10</sub> que puede tener un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que puede tener un sustituyente, y n representa un número entero de 1 a 6).

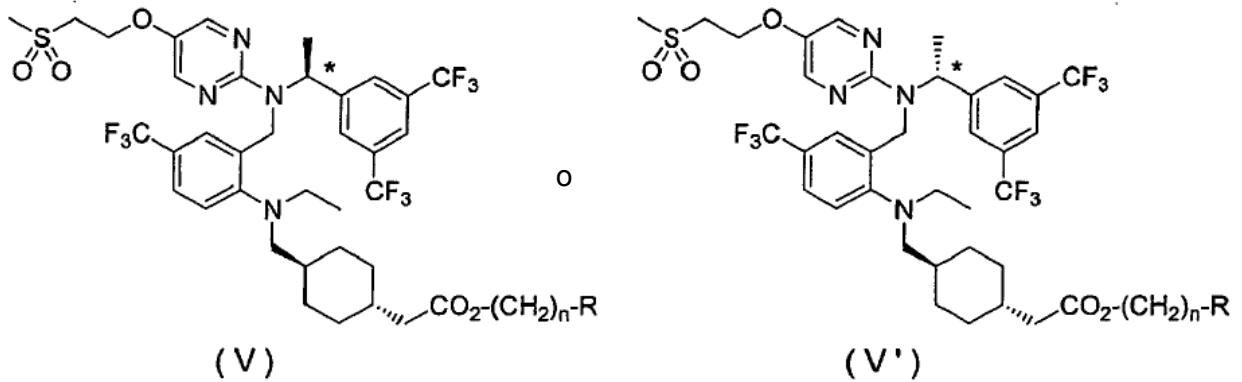
5 Por tanto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro o compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, que comprende la etapa de retirar los cristales con racemato dominante de un compuesto semiquiral de un compuesto representado por la siguiente fórmula general (IV):

[Fórmula 7]



5 (en la fórmula, R representa un grupo arilo C<sub>6-10</sub> que puede tener un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que puede tener un sustituyente, y n representa un número entero de 1 a 6) por cristalización preferencial en un disolvente para obtener un compuesto sustancialmente ópticamente puro representado por la siguiente fórmula general (V) o (V'):

[Fórmula 8]



(en las fórmulas, R y n tienen los mismos significados que los definidos para la fórmula general (IV)).

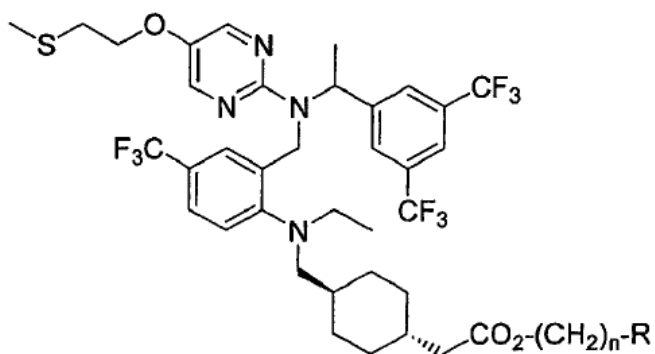
10 Por el procedimiento mencionado anteriormente, cuando el compuesto representado por la fórmula general (IV) es un compuesto semiquiral con isómero (S) dominante, se puede preparar el compuesto isómero (S) (III), y cuando el compuesto representado por la fórmula general (IV) es un compuesto semiquiral con isómero (R) dominante, se puede preparar el compuesto isómero (R) (II).

15 La presente invención proporciona además el procedimiento mencionado anteriormente, que comprende además la etapa de retirar el grupo representado como -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R a partir del compuesto representado por la fórmula general (V) o (V').

La presente invención proporciona además:

(A) el procedimiento mencionado anteriormente, que comprende además la etapa de hacer reaccionar un compuesto semiquiral de un compuesto representado por la siguiente fórmula general (VI):

20 [Fórmula 9]

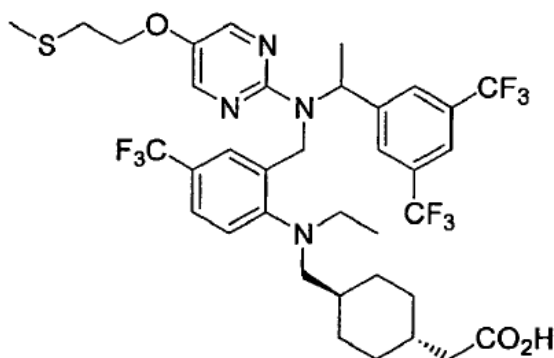


(VI)

(en la fórmula, R y n tienen los mismos significados que los definidos para la fórmula general (IV)) con un agente oxidante en un disolvente para preparar un compuesto semiquiral de un compuesto representado por la fórmula general (IV);

- 5 (B) el procedimiento mencionado anteriormente (A), que comprende además la etapa de hacer reaccionar un compuesto semiquiral de un compuesto representado por la siguiente fórmula (VII):

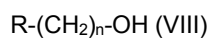
[Fórmula 10]



(VII)

con un compuesto representado por la siguiente fórmula general (VIII)

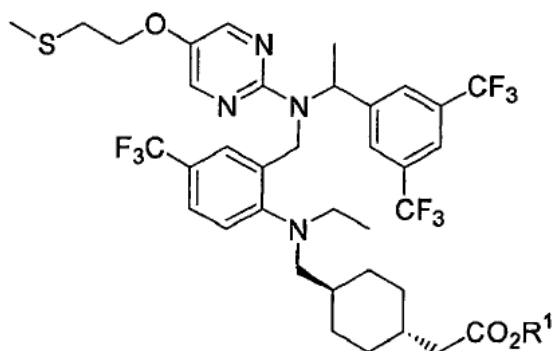
- 10 [Fórmula 11]



(en la fórmula, R y n tienen los mismos significados que los definidos para la fórmula general (IV)) en un disolvente en presencia de un catalizador para preparar el compuesto semiquiral de un compuesto representado por la fórmula general (VI);

- 15 (C) el procedimiento mencionado anteriormente (B), que comprende además la etapa de hidrolizar un compuesto semiquiral de un compuesto representado por la siguiente fórmula general (IX):

[Fórmula 12]

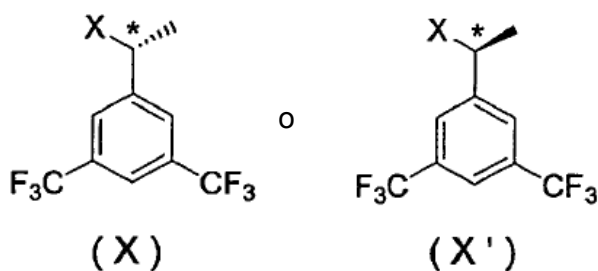


(IX)

(en la fórmula, R<sup>1</sup> representa un grupo alquilo C<sub>1-6</sub>) en un disolvente en presencia de una base para preparar el compuesto semiquiral de un compuesto representado por la fórmula (VII); y

- 5 (D) el procedimiento mencionado anteriormente (C), que comprende además la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la siguiente fórmula general (X) o (X'):

[Fórmula 13]

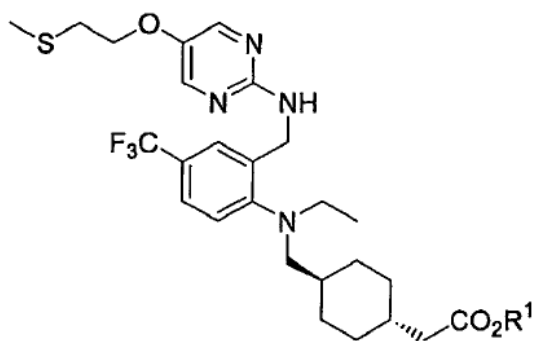


(X)

(X')

(en la fórmula, X representa un átomo de halógeno), y un compuesto representado por la siguiente fórmula general (XI):

- 10 [Fórmula 14]



(XI)

(en la fórmula, R<sup>1</sup> tiene el mismo significado que el definido para la fórmula general (IX)) en un disolvente en presencia de una base para preparar el compuesto semiquiral de un compuesto representado por la fórmula general (IX).

- 15 La presente invención también proporciona el procedimiento mencionado anteriormente (D), que comprende además la etapa de halogenar 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol ópticamente activo en presencia de un agente de halogenación para preparar el compuesto representado por la general fórmula (X) o (X').

- 20 Como otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto representado por la fórmula general mencionada anteriormente (IV), o una sal del mismo, o un solvato del mismo. El compuesto en el que R es fenilo, y n es 1, una sal del mismo, o un solvato del mismo es un modo de realización preferente de la presente invención.

La presente invención proporciona además un compuesto sustancialmente ópticamente puro representado por la fórmula general (V) o (V'), o una sal del mismo, o un solvato del mismo. Un compuesto en el que R es fenilo, y n es 1, una sal del mismo, o un solvato del mismo es un modo de realización preferente de la presente invención.

### Efecto de la invención

5 El compuesto isómero (S) (III) tiene una acción de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 y acción de incremento de la cantidad de receptor de LDL superior, y tiene una acción de reducción de la colesterolemia-LDL superior. Por lo tanto, el compuesto es útil como, por ejemplo, un ingrediente activo de un medicamento para reducir la colesterolemia-LDL, y similares.

10 Además, el compuesto isómero (S) (III) también es útil como ingrediente activo de un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad en la que están implicadas las PC, más específicamente, cáncer, obesidad, diabetes, enfermedad de Alzheimer o enfermedades infecciosas víricas.

15 Además, de acuerdo con el procedimiento de preparación de la presente invención, se puede preparar convenientemente un enantiómero deseado del compuesto racémico (I) (compuesto isómero (S) (III) o compuesto isómero (R) (II)) en una forma sustancialmente ópticamente pura. Por ejemplo, el procedimiento se puede usar preferentemente como un procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro, que es útil como ingrediente activo de un medicamento, o similares.

### Modos para llevar a cabo la invención

20 En la memoria descriptiva, el término "sustancialmente ópticamente puro" quiere decir que la pureza óptica de un compuesto es de un 90 % de ee o mayor, preferentemente de un 95 a un 100 % de ee, lo más preferentemente de un 97 a un 100 % de ee.

25 Por lo tanto, por ejemplo, "ácido (S)-trans-{4-[[{2-[[{1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil}]5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético sustancialmente ópticamente puro", "enantiómero levógiro sustancialmente ópticamente puro del ácido trans-{4-[[{2-[[{1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil}]5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético" y "compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro" quiere decir que el compuesto isómero (S) (III) tiene una pureza óptica de un 90 % de ee o mayor, preferentemente de un 95 a un 100 % de ee, lo más preferentemente de un 97 a un 100 % de ee.

30 En la presente invención, la pureza óptica del compuesto isómero (S) (III) es preferentemente de un 98 % de ee o mayor, lo más preferentemente de un 99 % de ee o mayor, como se determina en las condiciones analíticas de HPLC quirales descritas en el ejemplo 1-1 mencionado más adelante, desde un punto de vista de la obtención de una acción de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 y/o acción de incremento de la cantidad de receptor de LDL favorables. Si se logra la pureza óptica mencionada anteriormente, el compuesto isómero (S) (III) pasa a no contener sustancialmente el otro enantiómero (compuesto isómero (R) (II)).

35 En la memoria descriptiva, el término "grupo alquilo C<sub>1-6</sub>" quiere decir un grupo alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, y los ejemplos incluyen, por ejemplo, grupo metilo, grupo etilo, grupo n-propilo, grupo isopropilo, grupo n-butilo, grupo isobutilo, grupo sec-butilo, grupo terc-butilo, grupo n-pentilo, grupo isopentilo, grupo neopentilo, grupo n-hexilo, grupo isohexilo, y similares.

40 En la memoria descriptiva, el resto "arilo C<sub>6-10</sub>" del "grupo arilo C<sub>6-10</sub> que puede tener un sustituyente" quiere decir un grupo hidrocarburo aromático que tiene de 6 a 10 átomos de carbono, y los ejemplos incluyen, por ejemplo, grupo fenilo, grupo naftilo, grupo azuleno, y similares.

45 En la memoria descriptiva, el resto "heteroarilo de 5 a 10 miembros" del "resto del grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que puede tener un sustituyente" quiere decir un grupo heterocíclico aromático de tipo anillo monocíclico, policíclico o condensado de 5 a 10 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de átomo de oxígeno, átomo de azufre y átomo de nitrógeno como átomos constituyentes del anillo. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, grupo furilo, grupo tienilo, grupo pirrolilo, grupo oxazolilo, grupo isoxazolilo, grupo tiazolilo, grupo isotiazolilo, grupo imidazolilo, grupo pirazolilo, grupo oxadiazolilo, grupo tiadiazolilo, grupo triazolilo, grupo tetrazolilo, grupo piridilo, grupo pirimidilo, grupo pirazinilo, grupo piridazinilo, grupo benzofuranilo, grupo isobenzofuranilo, grupo benzotienilo, grupo indolilo, grupo isoindolilo, grupo indazolilo, bencimidazolilo grupo, grupo benzoxazolilo, grupo bencisoxazolilo, grupo benzotiazolilo, grupo bencisotiazolilo, grupo benzoxadiazolilo, grupo benzotiadiazolilo, grupo benzotriazolilo, grupo quinolilo, grupo isoquinolilo, grupo cinolinilo, grupo quinazolinilo, grupo quinoxalinilo, grupo ftalazinilo, grupo naftiridinilo, grupo purinilo, grupo pteridinilo, grupo furopiridilo, grupo tienopiridilo, grupo pirrolopiridilo, grupo oxazolopiridilo, grupo tiazolopiridilo, grupo imidazopiridilo, y similares.

55 En la memoria descriptiva, los ejemplos del sustituyente del "grupo arilo C<sub>6-10</sub> que puede tener sustituyente", y "grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que puede tener un sustituyente" incluyen, por ejemplo, un átomo de halógeno, grupo carboxilo, grupo carbamoilo, grupo sulfonilo, grupo sulfamoilo, grupo nitro, y similares. El número de sustituyentes es

de 1 al número sustituible máximo, y los grupos pueden tener en general de 1 a 5 sustituyentes. Como átomo de halógeno, se puede usar cualquiera de átomo de flúor, átomo de cloro, átomo de bromo y átomo de yodo.

En las fórmulas generales, el grupo arilo  $C_{6-10}$  que puede tener un sustituyente como R es preferentemente grupo fenilo.

5 En las fórmulas generales, el número entero n es preferentemente 1.

En las fórmulas generales, el grupo alquilo  $C_{1-6}$  como  $R^1$  es preferentemente un grupo alquilo  $C_{1-4}$ , más preferentemente grupo etilo.

En las fórmulas generales, el átomo de halógeno como X es preferentemente átomo de cloro o átomo de bromo, más preferentemente átomo de bromo.

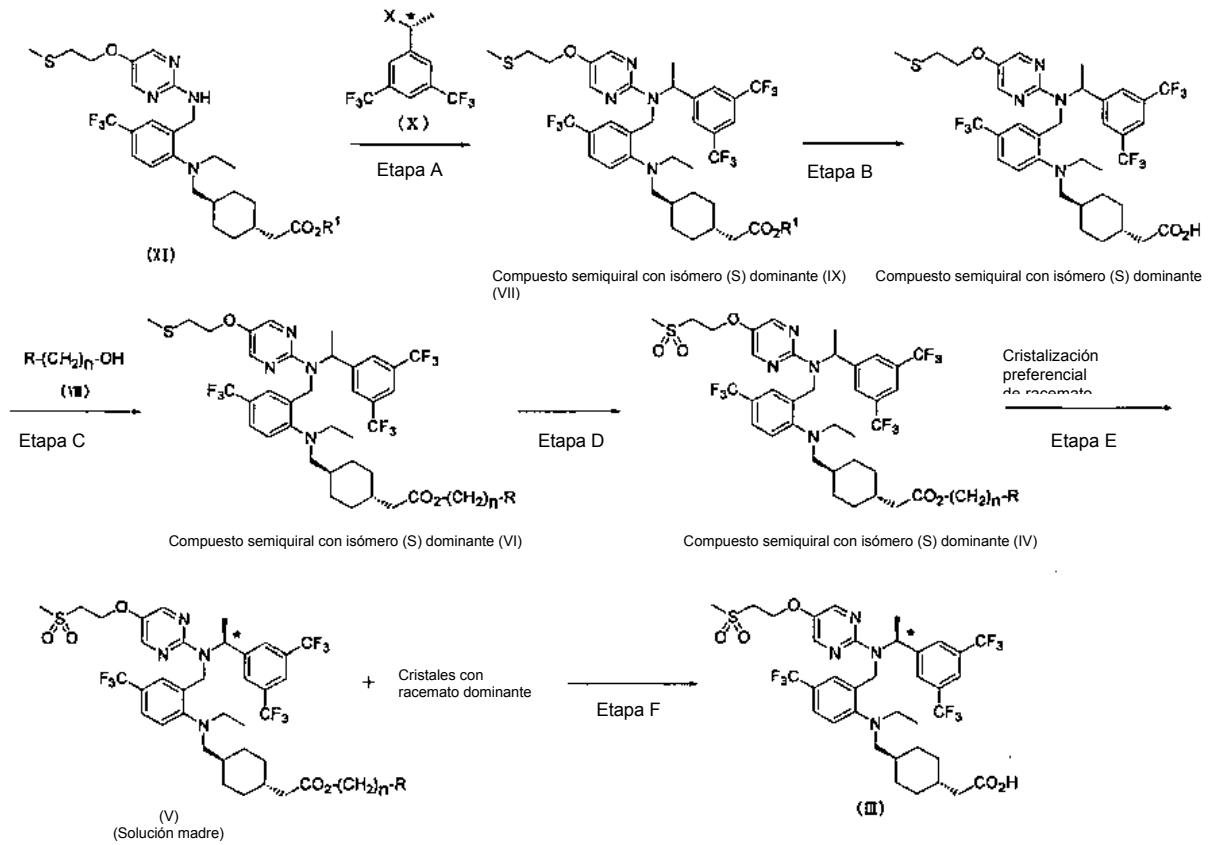
10 En la presente invención, los ejemplos de sal de cada compuesto (por ejemplo, el compuesto isómero (S) (III), un compuesto representado por la fórmula general (IV), un compuesto representado por la fórmula general (V), un compuesto representado por la fórmula general (V'), y similares) incluyen, por ejemplo, sales de adición de ácido, sales de adición de base, y similares, y la sal no está particularmente limitada siempre que se use una sal farmacéuticamente aceptable. Específicamente, los ejemplos de las sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido con un ácido inorgánico tales como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, nitrato y fosfato; y sal de adición de ácido con un ácido orgánico tales como benzoato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, p-toluenosulfonato, maleato, fumarato, tartrato, citrato y acetato. Ejemplos de las sales de adición de base incluyen sales de adición de base con un metal tales como sal de sodio, sal de potasio, sal de litio, sal de calcio y sal de magnesio; sales con una amina tales como amoníaco, trimetilamina, trietilamina, piridina, colidina, y lutidina; sales de adición de base con una base orgánica tal como lisina y arginina, y similares.

25 En la presente invención, los ejemplos del disolvente que forma un solvato de cada compuesto (por ejemplo, el compuesto isómero (S) (III), un compuesto representado por la fórmula general (IV), un compuesto representado por la fórmula general (V), un compuesto representado por la fórmula general (V'), y similares) o una sal del mismo incluyen agua y disolventes orgánicos fisiológicamente aceptables, por ejemplo, etanol, hexano, acetato de etilo, y similares, pero no se limitan a estos ejemplos. Ejemplos del ingrediente activo del medicamento de la presente invención incluyen, por ejemplo, hidratos y similares, pero no se limitan a estos ejemplos.

30 Un ejemplo del procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro de la presente invención se muestra en el esquema 3 mencionado a continuación, y un ejemplo del procedimiento para preparar el compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro de la presente invención se muestra en el esquema 4 mencionado a continuación (en los siguientes esquemas, R,  $R^1$ , X y n tienen los mismos significados que los definidos anteriormente).

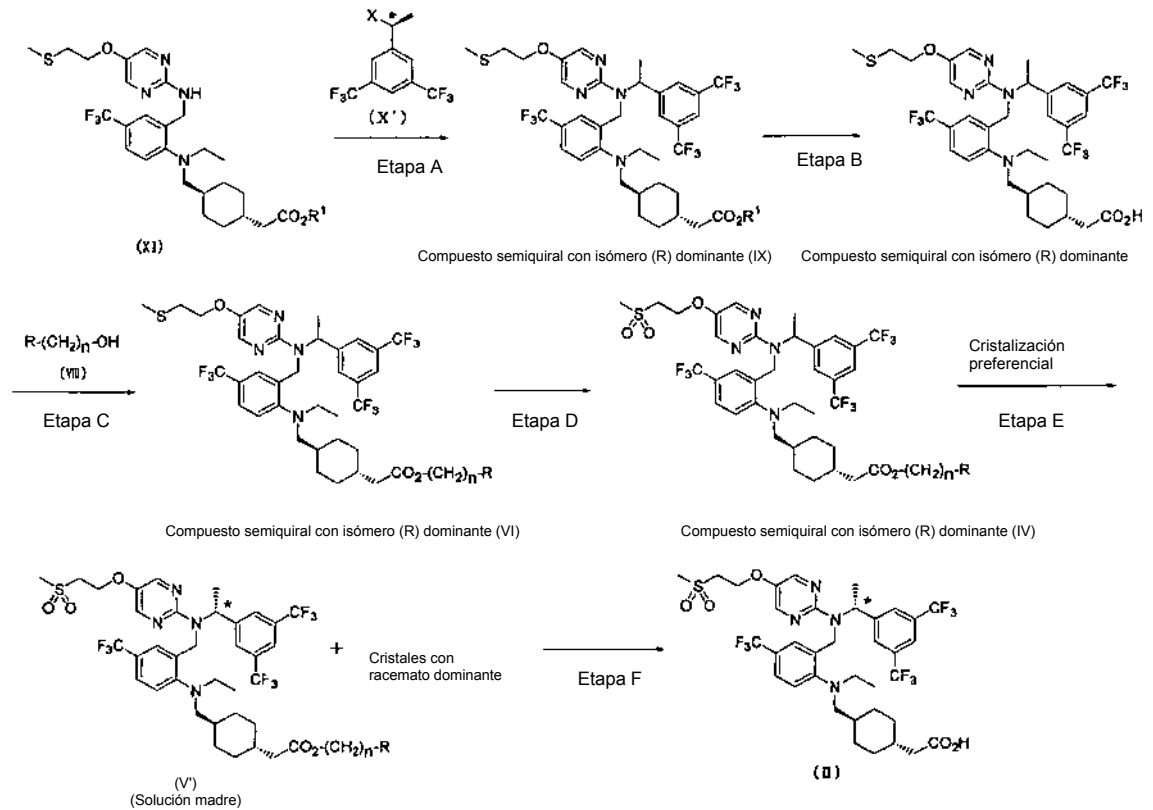
Esquema 3

[Fórmula 15]



Esquema 4

[Fórmula 16]



## &lt;Etapa A&gt;

Esta etapa es hacer reaccionar una amina (XI) con un haluro de bencilo ópticamente activo (X) o (X') en presencia de una base para preparar un compuesto semiquiral (IX). El compuesto (X) o (X') se puede usar en una cantidad de 1,0 a 3,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,5 a 2,5 equivalentes molares, basada en el compuesto (XI).

- 5 La amina (XI) es un compuesto conocido, y el procedimiento de preparación de la misma se describe en, por ejemplo, el documento de patente 2.

10 Esta reacción se puede realizar en un disolvente en presencia de una base. El disolvente no está particularmente limitado. Por ejemplo, se pueden usar N,N-dimetilformamida, N-metilpirrolidona, dimetilsulfóxido, dioxano, tetrahidrofurano, acetonitrilo, propionitrilo, y similares solos o en combinación. Los ejemplos preferentes del disolvente incluyen tetrahidrofurano, N,N-dimetilformamida, y disolventes mixtos de estos. El volumen del disolvente no está particularmente limitado. El disolvente se puede usar en una cantidad de 2 a 20 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 5 a 12 veces (V/P), más preferentemente una cantidad de 7 a 10 veces (V/P), basada en el compuesto (XI).

15 La base no está particularmente limitada. Por ejemplo, se pueden usar hidruros de metales alcalinos tales como hidruro de litio, hidruro de sodio e hidruro de potasio; metales alcalinos tales como litio metálico, sodio metálico y potasio metálico; hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; amidas de metales alcalinos, tales como diisopropilamida de litio, diisopropilamida de sodio, diisopropilamida de potasio, hexametildisilazida de litio, hexametildisilazida de sodio y hexametildisilazida de potasio; metales alcoxic alcalinos tales como t-butoxisodio y t-butoxipotasio; y compuestos de litio orgánicos tales como n-butillitio, s-butillitio y t-butillitio. Los ejemplos preferentes de la base incluyen hidruros de metales alcalinos, y un ejemplo más preferente es hidruro de sodio. La base se puede usar en una cantidad de 1,0 a 5,0 equivalentes molares, preferentemente de 2,0 a 4,0 equivalentes molares, basada en el compuesto (XI).

25 La temperatura de reacción está en general en el intervalo de -80 a 100 °C, preferentemente de -30 a 50 °C, más preferentemente de -20 a 5 °C. El tiempo de reacción es en general de 5 minutos a 48 horas, preferentemente de 30 minutos a 24 horas, más preferentemente de 3 a 8 horas. En esta reacción, es preferente el uso de haluro de bencilo (X) o (X') sustancialmente ópticamente puro. Por esta reacción, la racemización avanza parcialmente, y se obtiene el compuesto semiquiral (IX). Este compuesto semiquiral (IX) se puede usar para la siguiente etapa sin ningún tratamiento. La pureza óptica se mantiene sustancialmente a través de las etapas B a D, y se puede obtener el compuesto semiquiral (IV) que tiene una pureza óptica comparable a la del compuesto semiquiral (IX). De acuerdo con el estudio realizado por los inventores de la presente invención, incluso si la reacción con el haluro de bencilo (X) o (X') ópticamente activo se realiza en esta etapa usando la amina (XI) en la que R<sup>1</sup> es grupo bencilo, no se puede obtener el compuesto semiquiral (IX) como compuesto objetivo con un rendimiento satisfactorio, pero si se usa un grupo alquilo C<sub>1-6</sub> como R<sup>1</sup>, se puede obtener el compuesto semiquiral (IX) deseado con un rendimiento suficiente.

## 35 &lt;Etapa B&gt;

Esta etapa es hidrolizar el compuesto semiquiral (IX) para preparar un compuesto semiquiral (VII).

40 Esta reacción se puede realizar en un disolvente en presencia de una base. Aunque el disolvente no está particularmente limitado se pueden usar, por ejemplo, alcoholes tales como metanol, etanol, propanol, isopropanol y terc-butanol, acetonitrilo, tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilformamida, N-metilpirrolidona, dioxano, agua, y similares, solos o en combinación. Los ejemplos preferentes del disolvente incluyen una combinación de etanol y agua, y los ejemplos más preferentes del disolvente incluyen una combinación de etanol y agua. Aunque el volumen del disolvente no está particularmente limitado, el disolvente se puede usar en una cantidad de 10 a 100 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 20 a 50 veces (V/P), más preferentemente una cantidad de 30 a 40 veces (V/P), basada en el compuesto (IX).

45 La base no está particularmente limitada. Por ejemplo, se pueden usar hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; hidróxidos de amonio cuaternario tales como hidróxido de tetrametilamonio, hidróxido de tetraetilamonio, hidróxido de tetrapropilamonio, hidróxido de tetrabutilamonio e hidróxido de benciltrimetilamonio (Triton B), y similares. Los ejemplos preferentes de la base incluyen hidróxidos de metales alcalinos, y los ejemplos más preferentes incluyen hidróxido de sodio. La base se puede usar preferentemente en una cantidad de 1,0 a 5,0 equivalentes molares, más preferentemente de 2,0 a 3,0 equivalentes molares, basada en el compuesto (IX).

55 La temperatura de reacción está en general en el intervalo de 0 a 100 °C, preferentemente de 30 a 80 °C, más preferentemente de 40 a 60 °C. El tiempo de reacción es en general preferentemente de 5 minutos a 48 horas, más preferentemente de 30 minutos a 12 horas, lo más preferentemente de 2 a 5 horas.

## &lt;Etapa C&gt;



Esta etapa es condensar el compuesto semiquiral (VII) y un alcohol (VIII) para preparar un compuesto semiquiral (VI). El alcohol (VIII) se puede usar en una cantidad de 0,8 a 2,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,0 a 1,2 equivalentes molares, basada en el compuesto (VII).

5 Esta reacción se puede realizar usando un agente de condensación en un disolvente en presencia o ausencia de una base. La reacción se puede realizar en presencia de un acelerador de condensación. Aunque el disolvente no está particularmente limitado, por ejemplo, se pueden usar hidrocarburos halogenados tales como 1,2-dicloroetano, cloroformo y diclorometano; ésteres de ácido acético tales como acetato de etilo y acetato de isopropilo; hidrocarburos aromáticos tales como tolueno y benceno; tetrahidrofurano, dioxano, acetonitrilo, propionitrilo, y similares. Los ejemplos preferentes del disolvente incluyen hidrocarburos halogenados, y los ejemplos más  
10 preferentes incluyen dicloroetano. Aunque el volumen del disolvente no está particularmente limitado, el disolvente se puede usar en una cantidad de 5 a 100 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 10 a 20 veces (V/P), basada en el compuesto (VII).

15 La base no está particularmente limitada. Por ejemplo, bases orgánicas tales como piridina, 4-dimetilaminopiridina (DMAP), colidina, lutidina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO), trietilamina, diisopropiltilamina, diisopropilpentilamina y trimetilamina; hidruros de metales alcalinos tales como hidruro de litio, hidruro de sodio e hidruro de potasio; hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; bicarbonatos de metales alcalinos tales como hidrogenocarbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio, y similares.

20 Aunque el acelerador de condensación no está particularmente limitado, se pueden usar DMAP, 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina (HODhbt), N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxiimida (HONB), pentafluorofenol (HOPfp), N-hidroxifitalimida (HOPht), N-hidroxisuccinimida (HOSu), y similares. Como acelerador de la condensación, es preferente DMAP. El acelerador de condensación se puede usar en una cantidad de 0,001 a 1,0 equivalentes molares, preferentemente de 0,05 a 0,5  
25 equivalentes molares, basada en el compuesto (VII).

Aunque el agente de condensación no está particularmente limitado, se pueden usar dicitclohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIPCI), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etil-carbodiimida (comúnmente llamada carbodiimida soluble en agua (WSC)), WSC·HCl, y similares. Como agente de condensación, es preferente WSC·HCl. El agente de condensación se puede usar en una cantidad de 1,0 a 3,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,0 a 1,2  
30 equivalentes molares, basada en el compuesto (VII).

La temperatura de reacción es en general de 0 a 100 °C, preferentemente de 0 a 80 °C, más preferentemente de 10 a 30 °C. El tiempo de reacción es en general preferentemente de 5 minutos a 48 horas, más preferentemente de 30 minutos a 24 horas, lo más preferentemente de 8 a 16 horas.

<Etapa D>

35 Esta etapa es oxidar el átomo de azufre del compuesto semiquiral (VI) para preparar el compuesto semiquiral (IV).

Como procedimiento de oxidación, se pueden usar procedimientos ordinarios para convertir el átomo de azufre en grupo sulfonilo. Como agente oxidante, por ejemplo, se pueden usar peróxido de hidrógeno acuoso como se usa en la reacción de oxidación usando una cantidad catalítica de volframato de sodio, dicloruro de dióxido de molibdeno, o pentacloruro de tántalo, perborato de sodio, Oxone (marca registrada), peryodato de sodio, peryodato de potasio, ácido meta-cloroperbenzoico (mCPBA), clorocromato de piridinio (PCC), dicromato de piridinio (PDC), N-clorosuccinimida (NCS), N-bromosuccinimida (NBS), N-yodosuccinimida (NIS), yodo, bromo, y similares. Un agente oxidante preferente es una combinación de pentacloruro de tántalo y peróxido de hidrógeno acuoso. Se puede usar pentacloruro de tantalio en una cantidad de 0,001 a 1,0 equivalente molar, preferentemente de 0,05 a 0,5  
40 equivalentes molares, basada en el compuesto (VI). Se puede usar peróxido de hidrógeno acuoso en una cantidad de 1,0 a 10 equivalentes molares, preferentemente de 4,0 a 6,0 equivalentes molares, basada en el compuesto (VI).

El disolvente no está particularmente limitado. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes tales como metanol, etanol, isopropanol y terc-butanol, acetonitrilo, acetona, tetrahidrofurano, diclorometano, cloroformo, 1,2-dicloroetano, tetracloruro de carbono, N,N-dimetilformamida, ácido acético, y similares. Los ejemplos preferentes del disolvente incluyen alcoholes, y los ejemplos más preferentes incluyen 2-propanol. Aunque el volumen del  
50 disolvente no está particularmente limitado, el disolvente se puede usar en una cantidad de 5 a 100 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 10 a 30 veces (V/P), basada en el compuesto (VI).

La temperatura de reacción puede ser en general de 0 a 100 °C, preferentemente de 10 a 60 °C, más preferentemente de 10 a 30 °C. El tiempo de reacción es en general preferentemente de 5 minutos a 48 horas, más preferentemente de 30 minutos a 24 horas, lo más preferentemente de 8 a 16 horas.

55 <Etapa E>

Esta etapa es cristalizar preferencialmente cristales con racemato dominante de pureza óptica baja del compuesto semiquiral (IV) para preparar el isómero óptico (V) o (V') con pureza óptica alta.

5 Esta etapa es cristalizar cristales con racemato dominante en un disolvente que contiene el compuesto semiquiral (IV), y a continuación retirar los cristales con racemato dominante resultantes para dejar el isómero óptico (V) o (V') con pureza óptica alta en la solución madre.

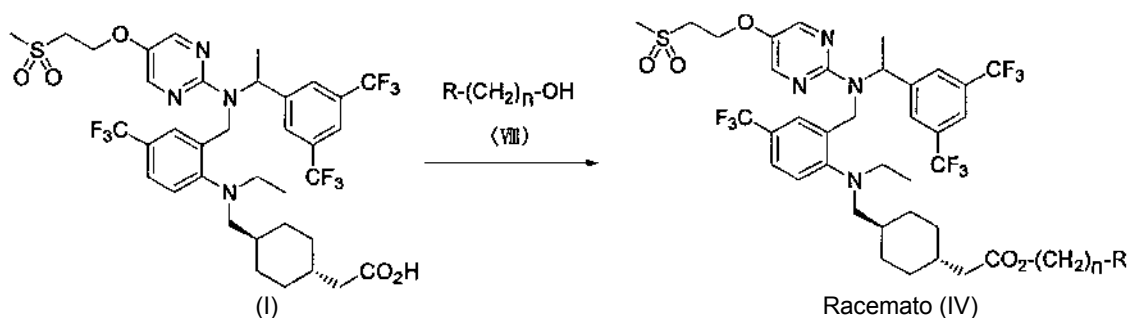
10 Los ejemplos del disolvente incluyen alcoholes tales como metanol, etanol, n-propanol e isopropanol. Los alcoholes que tienen una cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 6 átomos de carbono son preferentes, y etanol e isopropanol son particularmente preferentes. La cantidad del disolvente es una cantidad de 2 a 20 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 4 a 10 veces (V/P), más preferentemente una cantidad de 5 a 8 veces (V/P), basada en el compuesto (IV).

15 La cristalización se puede realizar disolviendo el compuesto semiquiral (IV) en el disolvente, y agitando la solución a de 10 a 40 °C, preferentemente de 15 a 20 °C, durante de 30 minutos a dos días, preferentemente de 15 a 24 horas. Si se desea incrementar el rendimiento de los cristales, la agitación se puede realizar a continuación durante de 30 minutos a 24 horas, preferentemente de 2 a 5 horas, con enfriamiento de la solución a de -10 a 10 °C, preferentemente de -5 a 5 °C. Los cristales con racemato dominante pueden ser cristales que consisten absolutamente en racemato, o pueden ser en general cristales de pureza óptica baja (de aproximadamente un 0 a un 40 % de ee) que contienen de aproximadamente un 60 a un 100 % de componentes de racemato.

20 Esta etapa se puede realizar en presencia de cristales de siembra preparados por separado del racemato. Los cristales de siembra del racemato usados en este procedimiento son cristales del racemato del compuesto representado por la fórmula general (IV). Los ejemplos incluyen, por ejemplo, cristales de racemato del éster bencílico del ácido trans-{4-[[{2-[[{1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil}{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético.

25 Además, los cristales con racemato dominante obtenidos en esta etapa E se pueden usar como cristales de siembra de racemato sin ningún tratamiento. El cristal obtenido por separado por la preparación de racemato del compuesto representado por la fórmula general (IV) y cristalización sucesiva también se puede usar como cristales de siembra del racemato. Dicho racemato del compuesto representado por la fórmula general (IV) se puede preparar, por ejemplo, por el procedimiento descrito a continuación.

[Fórmula 17]



30 En esta reacción, el compuesto racémico (I) y un alcohol (VIII) se condensan para preparar el racemato (IV). El alcohol (VIII) se puede usar en una cantidad de 0,8 a 2,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,0 a 1,2 equivalentes molares, basada en el compuesto racémico (I).

35 Esta reacción se puede realizar en un disolvente usando un agente de condensación en presencia o ausencia de una base. La reacción se puede realizar en presencia de un acelerador de condensación. El disolvente no está particularmente limitado. Por ejemplo, se pueden usar hidrocarburos halogenados tales como 1,2-dicloroetano, cloroformo y diclorometano; ésteres de ácido acético tales como acetato de etilo y acetato de isopropilo; hidrocarburos aromáticos tales como tolueno y benceno; tetrahidrofurano, dioxano, acetonitrilo, propionitrilo, y similares. Los ejemplos preferentes del disolvente incluyen hidrocarburos halogenados, y los ejemplos más preferentes incluyen diclorometano. Aunque el volumen del disolvente no está particularmente limitado, el disolvente se puede usar en una cantidad de 5 a 100 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 10 a 20 veces (V/P), basada en el compuesto racémico (I).

40 La base no está particularmente limitada. Por ejemplo, bases orgánicas tales como piridina, 4-dimetilaminopiridina (DMAP), colidina, lutidina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DABCO), trietilamina, diisopropiletilamina, diisopropilpentilamina y trimetilamina; hidruros de metales alcalinos tales como hidruro de litio, hidruro de sodio e hidruro de potasio; hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio; carbonatos de metales alcalinos

tales como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; bicarbonatos de metales alcalinos tales como hidrogenocarbonato de sodio, hidrogenocarbonato de potasio, y similares.

5 Aunque el acelerador de condensación no está particularmente limitado, se pueden usar DMAP, 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina (HODhbt), N-hidroxi-5-norborneno-2,3-dicarboxiimida (HONB), pentafluorofenol (HOPfp), N-hidroxifitalimida (HOPht), N-hidroxisuccinimida (HOSu), y similares. Como acelerador de la condensación, es preferente DMAP. El acelerador de condensación se puede usar en una cantidad de 0,001 a 1,0 equivalentes molares, preferentemente de 0,05 a 0,5 equivalentes molares, basada en el compuesto racémico (I).

10 Aunque el agente de condensación no está particularmente limitado, se pueden usar diciclohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida (DIPCI), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etil-carbodiimida (comúnmente llamada carbodiimida soluble en agua (WSCl)), WSC-HCl, y similares. Como agente de condensación, es preferente WSC-HCl. El agente de condensación se puede usar en una cantidad de 1,0 a 3,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,0 a 1,2 equivalentes molares, basada en el compuesto racémico (I).

15 La temperatura de reacción es en general de 0 a 100 °C, preferentemente de 0 a 80 °C, más preferentemente de 10 a 30 °C. El tiempo de reacción es en general preferentemente de 5 minutos a 48 horas, más preferentemente de 30 minutos a 24 horas, lo más preferentemente de 8 a 16 horas.

La cristalización del racemato del compuesto representado por la fórmula general (IV) (preparación de los cristales de siembra del racemato) se puede realizar en condiciones similares a las aplicadas a la cristalización preferencial de los cristales con racemato dominante del compuesto semiquiral (IV).

20 Más específicamente, el compuesto racémico (IV) se puede disolver en un disolvente, y la solución se puede agitar a de 10 a 40 °C, preferentemente de 15 a 20 °C, durante de 30 minutos a dos días, preferentemente de 15 a 24 horas. Si se desea incrementar el rendimiento de los cristales, la agitación se puede realizar adicionalmente durante de 30 minutos a 24 horas, preferentemente de 2 a 5 horas, con enfriamiento de la solución a de -10 a 10 °C, preferentemente de -5 a 5 °C. Los ejemplos del disolvente incluyen alcoholes tales como metanol, etanol, n-propanol e isopropanol. Los alcoholes que tienen una cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 6 átomos de carbono son preferentes, y etanol e isopropanol son particularmente preferentes. La cantidad del disolvente es una cantidad de 2 a 20 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 4 a 10 veces (V/P), más preferentemente una cantidad de 5 a 8 veces (V/P), basada en el compuesto racémico (IV).

<Etapa F>

30 Esta etapa es realizar la desprotección del compuesto (V) o (V') de pureza óptica alta para preparar el compuesto isómero (S) (III) o compuesto isómero (R) (II) sustancialmente ópticamente puro.

35 Esta reacción se puede realizar por reducción catalítica usando un catalizador metálico y una fuente de hidrógeno en un disolvente, o una reacción de hidrólisis usando una base en un disolvente. Cuando la desprotección se realiza por reducción catalítica, se pueden usar como disolvente alcoholes tales como metanol, etanol, isopropanol y terc-butanol; éteres tales como éter dietílico, tetrahidrofurano y dioxano; ésteres de ácido acético tales como acetato de etilo y acetato de isopropilo; ácido acético; agua, y similares. Como disolvente, son preferentes alcoholes y es más preferente etanol. El disolvente se puede usar en una cantidad de 5 a 30 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 5 a 15 veces (V/P), basada en el compuesto (V) o (V').

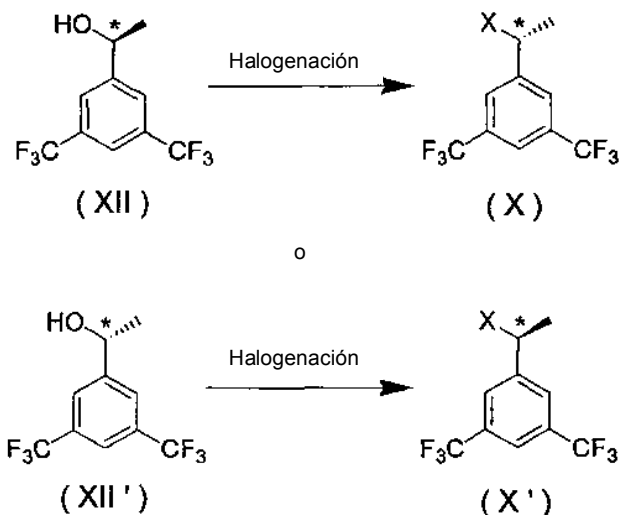
40 Como fuente de hidrógeno, por ejemplo, se pueden usar hidrógeno, ciclohexadieno, ácido fórmico, formiato de amonio, y similares. Como fuente de hidrógeno, es preferente hidrógeno. Como catalizador metálico, se pueden usar paladio/carbono, negro de paladio, níquel Raney, dióxido de platino, negro de platino, y similares. Como catalizador metálico, es preferente paladio/carbono. Se puede usar paladio/carbono en una cantidad de 0,001 a 0,5 veces (P/P), preferentemente una cantidad de 0,05 a 0,2 veces (P/P), basada en el compuesto (V) o (V') en términos de la cantidad de Pd-C al 10 % (húmedo).

45 La reducción catalítica se puede realizar en general en el intervalo de 0 a 100 °C, preferentemente de 10 a 60 °C, más preferentemente 10 a 30 °C. El tiempo de reacción es en general preferentemente de 5 minutos a 24 horas, más preferentemente de 30 minutos a 16 horas, lo más preferentemente de 1 a 6 horas.

50 Cuando la desprotección se realiza por la reacción de hidrólisis, por ejemplo, se pueden usar alcoholes tales como metanol, etanol, propanol, 2-propanol y t-butanol, acetonitrilo, propionitrilo, tetrahidrofurano, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilformamida, N-metilpirrolidona, dioxano, agua, y similares, solos o en combinación, aunque el disolvente no está particularmente limitado. Como base, por ejemplo, se pueden usar hidróxidos de metales alcalinos tales como hidróxido de litio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio; carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato de litio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y carbonato de cesio; hidróxidos de amonio cuaternario tales como hidróxido de tetrametilamonio, hidróxido de tetraetilamonio, hidróxido de tetrapropilamonio, hidróxido de tetrabutilamonio e hidróxido de benciltrimetilamonio (Triton B), y similares, aunque la base no está particularmente limitada.

El haluro de bencilo ópticamente activo (X) o (X') se puede sintetizar, por ejemplo, por el procedimiento descrito a continuación.

[Fórmula 18]



- 5 Esta reacción consiste en la etapa de halogenar 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol ópticamente activo (XII) o (XII') en presencia de un agente de halogenación para preparar de forma altamente eficaz 1-halo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano ópticamente activo (X) o (X') sin reducir sustancialmente la pureza óptica.

Los ejemplos del agente de halogenación usado para esta reacción incluyen agente de cloración tales como cloruro de tionilo, tricloruro de fósforo, pentacloruro de fósforo y oxiclorigenato de fósforo; agentes de bromación tal como tribromuro de fósforo, tribromuro de fósforo y bromuro de hidrógeno (solución al 30 % en ácido acético), tribromuro de fósforo y piridina, N-bromosuccinimida y sulfuro de metilo, N-bromosuccinimida y trifetilfosfina, 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano y trifetilfosfina, bromuro de bromodimetilsulfonio, perbromuro bromuro de piridinio y hexametildisilano, bromo y trifetilfosfina, bromo y tributilfosfina, bromo y sulfuro de metilo, bromuro de cinc y trifetilfosfina y azodicarboxilato de dimetilo, bromuro de litio y clorotrimetilsilano, bromuro de litio y anhídrido trifluoroacético, bromotrimetilsilano, tetrabromuro de carbono y trifetilfosfina, y bromuro de tionilo; y agentes de yodación tales como yoduro de hidrógeno, y yoduro de potasio y ácido fosfórico. Cuando el agente de halogenación es un agente de bromación, son preferentes tribromuro de fósforo y bromuro de hidrógeno (solución al 30 % en ácido acético), 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano y trifetilfosfina, y N-bromosuccinimida y sulfuro de metilo.

La reacción usando tribromuro de fósforo y bromuro de hidrógeno como agente de halogenación, y la reacción usando 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano y trifetilfosfina como agente de halogenación se explicarán específicamente, en particular, a continuación.

<Reacción usando tribromuro de fósforo y bromuro de hidrógeno (solución al 30 % en ácido acético) como agente de halogenación>

25 Cuando se usan tribromuro de fósforo y bromuro de hidrógeno (solución al 30 % en ácido acético) como agente de halogenación, se usa tribromuro de fósforo en una cantidad de 0,3 a 2,0 equivalentes molares, preferentemente de 0,4 a 0,6 equivalentes molares, basada en el feniletanol (XII) o (XII'). El bromuro de hidrógeno se usa en una cantidad de 0,7 a 3,0 equivalentes molares, preferentemente de 0,8 a 1,2 equivalentes molares, basada en el feniletanol (XII) o (XII').

30 Esta reacción se puede realizar en presencia o ausencia de un disolvente. Cuando la reacción se realiza en presencia de un disolvente, el disolvente que se va a usar no está particularmente limitado siempre que el disolvente no participe en la reacción. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno, xileno, mesitileno, clorobenceno, 1,2-diclorobenceno y nitrobenzoceno; hidrocarburos alifáticos tales como n-pentano, n-hexano, ciclohexano, n-heptano, n-octano, n-decano e; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, 1,2-dicloroetano, cloroformo y tetracloruro de carbono, y similares. Entre ellos, son preferentes benceno, tolueno, xileno, cloruro de metileno, 1,2-dicloroetano, n-pentano, n-hexano y n-heptano, y en especial, son más preferentes tolueno, cloruro de metileno y n-heptano. Estos disolventes se pueden usar solos o en combinación, y la cantidad del disolvente que se va a usar no está particularmente limitada.

La temperatura de reacción puede estar en general en el intervalo de -50 a 150 °C, más preferentemente de -20 a 80 °C, lo más preferentemente de 0 a 15 °C. En general, el tiempo de reacción es preferentemente de 5 minutos a 48 horas, más preferentemente de 30 minutos a 36 horas, lo más preferentemente de 12 a 24 horas.

<Reacción usando 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano y trifenilfosfina como agente de halogenación>

Cuando se usan 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano y trifenilfosfina como agente de halogenación, se usa 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano en una cantidad de 1,0 a 3,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,0 a 1,2 equivalentes molares, basada en el feniletanol (XII) o (XII'). La trifenilfosfina se usa en una cantidad de 1,0 a 3,0 equivalentes molares, preferentemente de 1,0 a 1,2 equivalentes molares, basada en el feniletanol (XII) o (XII').

Esta reacción se puede realizar en presencia de un disolvente. El disolvente que se va a usar no está particularmente limitado siempre que el disolvente no participe en la reacción. Los ejemplos incluyen, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos tales como benceno, tolueno, xileno, mesitileno, clorobenceno, 1,2-diclorobenceno, y nitrobenzono; hidrocarburos alifáticos tales como n-pentano, n-hexano, ciclohexano, n-heptano, n-octano y n-decano; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, 1,2-dicloroetano, cloroforno y tetracloruro de carbono, y similares. Los ejemplos preferentes del disolvente incluyen hidrocarburos aromáticos o hidrocarburos halogenados, los ejemplos más preferentes incluyen benceno, tolueno, xileno, cloruro de metileno y 1,2-dicloroetano, y los ejemplos particularmente preferentes incluyen tolueno, cloruro de metileno, y 1,2-dicloroetano. Estos disolventes se pueden usar solos o en combinación. Aunque el volumen del disolvente no está particularmente limitado, el disolvente se puede usar en una cantidad de 1 a 10 veces (V/P), preferentemente una cantidad de 2 a 4 veces (V/P), basada en el feniletanol (XII) o (XII').

La temperatura de reacción puede estar en general en el intervalo de -50 a 150 °C, más preferentemente de -20 a 80 °C, lo más preferentemente de 0 a 30 °C. En general, el tiempo de reacción es preferentemente de 5 minutos a 48 horas, más preferentemente de 30 minutos a 36 horas, lo más preferentemente de 1 a 2 horas.

El compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo tiene una acción de supresión contra la expresión de ARNm de PCSK9 como se demuestra específicamente en los ejemplos descritos a continuación. La sustancia también tiene una acción de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 y una acción de incremento de la cantidad de receptor de LDL, y tiene una acción de reducción de la colesterolemia-LDL *in vivo*.

Aunque la presente invención no está vinculada por la siguiente estimación, se estima que el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo suprime la producción de la proteína PCSK9, de este modo suprime la descomposición del receptor de LDL e incrementa la cantidad de receptor de LDL, y como resultado, la sustancia promueve la incorporación de LDL sanguíneas en el receptor de LDL. Se estima además que dicha promoción de la incorporación de LDL sanguíneas en el receptor de LDL constituye uno de los factores para presentar la acción de reducción sobre el valor de colesterolemia de LDL.

Por lo tanto, un medicamento y una composición farmacéutica que contienen el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo como ingrediente activo se pueden usar como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de hipercolesterolemia-LDL, así como enfermedades tales como dislipidemia (hiperlipidemia), arterioesclerosis, aterosclerosis, vasculopatías periféricas, hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, trastornos funcionales cardiovasculares, angina de pecho, isquemia, isquemia cardíaca, trombosis, infarto de miocardio, trastornos de revascularización, reestenosis angioplástica e hipertensión.

Además, puesto que se sabe que las proproteína convertasas (PC) incluyendo PCSK9 son enzimas implicadas en la aparición, progreso, empeoramiento y similares de cáncer, obesidad, diabetes, enfermedad de Alzheimer y enfermedades infecciosas víricas, se puede esperar el uso de un medicamento y una composición farmacéutica que comprenden el compuesto isómero (S) (III), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, como ingrediente activo, como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de las enfermedades mencionadas anteriormente en las que están implicadas las PC.

El compuesto racémico (I) y el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44 (ácido trans-4-[(2-[(1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil){5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil]etil)amino)metil]ciclohexil]acético) tienen una acción de supresión contra la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa, como se demuestra específicamente en los ejemplos descritos a continuación. Por lo tanto, también se puede esperar el uso del compuesto racémico (I), el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, o un enantiómero del mismo, o una sal del mismo, o un solvato del mismo como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad que resulta de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, enfermedades concomitantes a la producción de isoprenoides (ácido farnesilpírofosfórico, ácido geranilgeranilpírofosfórico, y similares) que realizan la modificación postraduccional de diversas proteínas tales como Ras, Rho y Rac con lípidos, específicamente, inflamación, cáncer, enfermedad de Alzheimer, osteoporosis, hipertrofia prostática, enfermedades glomerulares, verminosis, infección vírica, psoriasis, degeneración macular, y similares).

Como medicamento de la presente invención, se puede administrar el ingrediente activo mencionado anteriormente, *per se*. Preferentemente, se puede administrar el ingrediente activo como una composición farmacéutica para administración oral o parenteral producible por procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica. Los ejemplos de composición farmacéutica adecuada para administración oral incluyen, por ejemplo, comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos refinados, gránulos, soluciones, jarabes, y similares, y los ejemplos de composición farmacéutica adecuada para administración parenteral incluyen, por ejemplo, inyecciones tales como inyecciones

intravenosas e inyecciones intramusculares, infusiones por gotero, supositorios, inhalados, colirios, gotas nasales, preparaciones transdérmicas, preparaciones transmucosas y similares, sin embargo, la composición farmacéutica no está limitada a estos ejemplos.

5 La composición farmacéutica mencionada anteriormente se puede preparar añadiendo aditivos farmacológica y farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de los aditivos farmacológica y farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, excipientes, aglutinantes, cargas, agentes disgregantes, tensioactivos, lubricantes, agentes dispersantes, agentes tamponadores, conservantes, correctores, perfumes, agentes de recubrimiento, diluyentes, y similares, pero no están limitados a estos ejemplos.

10 La dosis del medicamento de la presente invención no está particularmente limitada, y la dosis se puede escoger adecuadamente dependiendo de un tipo de enfermedad, propósito de administración, es decir, uso profiláctico o uso terapéutico, un tipo de ingrediente activo, y similares, y la dosis también se puede incrementar o disminuir adecuadamente dependiendo de varios factores que, en general, se deben tomar en consideración, tales como peso y edad de un paciente, síntomas y vías de administración. Por ejemplo, para administración oral, el medicamento se puede usar en una cantidad en el intervalo de aproximadamente 0,1 a 500 mg en términos de peso del ingrediente activo como dosis diaria para un adulto. La dosis se puede escoger adecuadamente por los expertos en la técnica, y no está limitada dentro del intervalo mencionado anteriormente.

### Ejemplos

20 La presente invención se explicará adicionalmente con referencia a los ejemplos. Sin embargo, la presente invención no está limitada a estos ejemplos. Las abreviaturas usadas en los siguientes ejemplos tienen los siguientes significados.

s: singlete

d: doblete

t: triplete

q: cuartete

25 m: multiplete

a: ancho

J: constante de acoplamiento

Hz: hercio

$\text{CDCl}_3$ : cloroformo deuterado

30 RMN de  $^1\text{H}$ : resonancia magnética nuclear de protones

IR: espectro de absorción infrarroja

Ejemplo 1: Establecimiento del procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro

Ejemplo 1-1: Resolución óptica usando una columna quiral

35 Se ha revelado que, cuando se aplicaron las siguientes condiciones, cada enantiómero se puede separar del compuesto racémico (I) preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento de patente 2 (publicación de patente internacional WO2008/129951), ejemplo 45, y que las condiciones eran usables para la medida de las purezas ópticas del compuesto isómero (S) (III) y del compuesto isómero (R) (II) por análisis de HPLC quiral. Por tanto, la presente invención proporciona un procedimiento para medir la pureza óptica del compuesto racémico (I), del compuesto isómero (S) (III) o del compuesto isómero (R) (II), o una sal del mismo, o un solvato del mismo, usando las siguientes condiciones de análisis de HPLC quiral (en especial la combinación de la columna y la fase móvil mencionadas a continuación).

Columna: CHIRALCEL OD-H

Fase móvil: hexano/etanol/TFA = 90/10/0,1

45 Caudal: 1,0 ml/min

Temperatura de columna: 40 °C

Longitud de onda de detección: 242 nm

Tiempo de retención: primer pico: 21,3 minutos (isómero (R)), segundo pico: 23,7 minutos (isómero (S))

Sin embargo, también se descubrió que, debido a que el disolvente de la fase móvil incluida en las condiciones mencionadas anteriormente contenía EtOH y TFA, reaccionan con ácido carboxílico del compuesto racémico (I) y/o cada enantiómero para generar un producto de descomposición (compuesto de éster etílico).

- 5 Por lo tanto, aunque la resolución óptica usando la columna quiral en las condiciones mencionadas anteriormente era usable para la medida de la pureza óptica (análisis de HPLC quiral), era inadecuada para la preparación de cada uno de los enantiómeros sustancialmente ópticamente puros, en especial para la preparación a gran escala.

Ejemplo 1-2: Procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro por cristalización preferencial

- 10 El esquema del procedimiento para preparar el compuesto isómero (S) (III) sustancialmente ópticamente puro por cristalización preferencial realizado por los inventores de la presente invención se muestra a continuación como esquema 5.

La configuración absoluta de cada compuesto se determinó a partir de la configuración absoluta de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano confirmada en la etapa 1.

- 15 Además, la pureza óptica del compuesto isómero (S) (III) (ácido (S)-trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil]}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético) obtenido en la etapa 6 se determinó por análisis de HPLC quiral en las condiciones descritas en la sección 1-1 anterior.

- 20 Además, las purezas ópticas de 1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano obtenido en la etapa 1, y éster bencílico del ácido trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil]}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético obtenido en las etapas 4 y 5 se determinaron por análisis de HPLC quiral en las siguientes condiciones. La presente invención también proporciona un procedimiento para medir la pureza óptica de cada compuesto, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, que usa las siguientes condiciones de análisis de HPLC quiral (en especial la combinación de la siguiente columna y la siguiente fase móvil).

Condiciones de análisis de HPLC quiral para 1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano

Columna: CHIRALPAK AS-RH

Fase móvil: etanol/agua = 60/40

Caudal: 0,5 ml/minuto

- 30 Temperatura de columna: 25 °C

Longitud de onda de detección: 220 nm

Tiempo de retención: primer pico: 21,8 minutos (isómero (R)), segundo pico: 26,0 minutos (isómero (S))

- 35 Condiciones de análisis de HPLC quiral para éster bencílico del ácido trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil]}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético

Columna: CHIRALCEL OD-H

Fase móvil: hexano/etanol = 80/20

Caudal: 1,0 ml/min

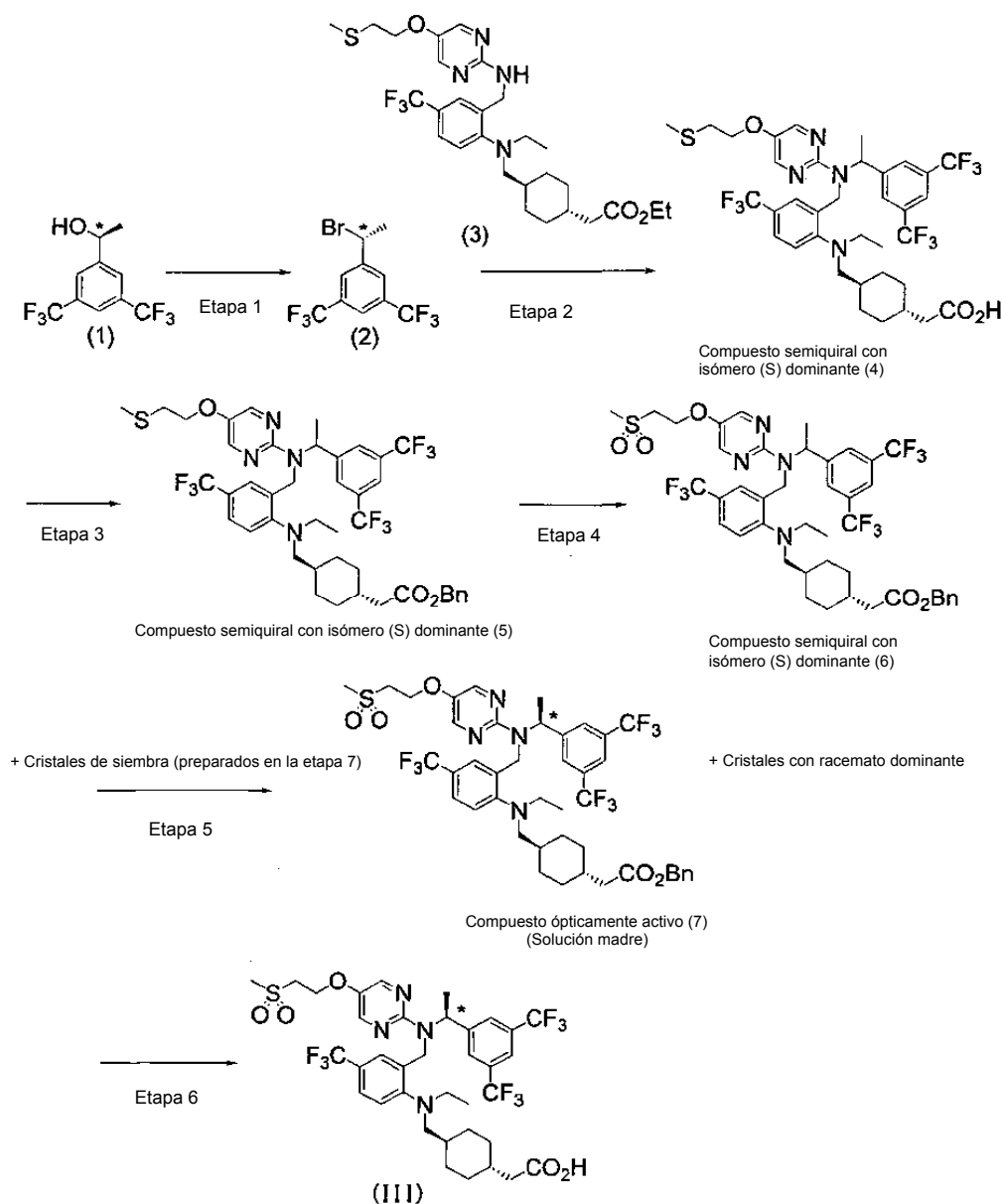
Temperatura de columna: 40 °C

- 40 Longitud de onda de detección: 242 nm

Tiempo de retención: primer pico: 11,3 minutos (isómero (R)), segundo pico: 13,0 minutos (isómero (S))

Esquema 5

[Fórmula 19]



(En el esquema, Et representa grupo etilo, y Bn representa grupo bencilo).

Etapa 1: Preparación de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano

- 5 Se preparó (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano por el procedimiento descrito en 1-(a) mencionado a continuación, y se confirmó la configuración absoluta del mismo como sigue. Específicamente, se llevó a cabo la confirmación convirtiendo el (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano resultante en (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilamina, y comparando la señal de rotación específica medida realmente de la misma con la de un producto estándar disponible comercialmente de (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilamina de configuración absoluta conocida.
- 10 Además, también se preparó (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano por el procedimiento descrito en 1-(b) mencionado a continuación.

1-(a): Preparación de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (1)

- 15 En una atmósfera de argón, se disolvió 1,2-dibromo-1,1,2,2-tetracloroetano (7,57 g, 23,2 mmol) en tolueno (12,5 ml), a la solución se le añadió trifetilfosfina (6,1 g, 23,2 mmol) a 0 °C, y se agitó la mezcla durante 30 minutos. A esta mezcla de reacción se le añadió gota a gota una solución de (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol (1) (5,0 g, 19,4 mmol, >99,5 % de ee) en tolueno (12,5 ml) a 0 °C durante 10 minutos o más, y a continuación se calentó la mezcla a temperatura ambiente, y se agitó durante 1 hora a la misma temperatura. A la mezcla de reacción se le añadió gota a gota n-hexano (25 ml), y se filtró la mezcla a través de Celite. Se lavó sucesivamente el filtrado con



agua, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio, y a continuación se evaporó a presión reducida. Se destiló el residuo resultante a presión reducida (56 °C, 0,7 mmHg) para obtener 5,52 g de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (2) como un aceite incoloro (rendimiento: 88,6 %).

- 5 Análisis por HPLC quiral: pureza óptica > 99,5 % de ee (pico principal: primer pico), tasa de conversión  $\geq$ 99 %

$[\alpha]_D^{25} +59,1$  (c = 1,03, CHCl<sub>3</sub>)

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,08 (3H, d, J=7,1Hz), 5,21 (1H, q, J=7,1Hz), 7,81 (1H, s), 7,87 (2H, s)

Confirmación de la configuración absoluta de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano

- 10 A una solución de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (2) (106 mg, 0,336 mmol, 99 % de ee) obtenido en 1-(a) mencionado anteriormente en N,N-dimetilformamida (1 ml), se le añadió azida de sodio (64,4 mg, 0,990 mmol), y se agitó la mezcla a de -18 a -15 °C durante 4 horas. Se extrajo la solución de reacción con acetato de etilo/n-hexano (1: 1) y agua, se lavó la capa orgánica con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y a continuación se concentró a presión reducida para obtener 111,5 mg de 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilazida (producto en bruto: 111,5 mg).

- 15 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,61 (3H, d, J=6,8Hz), 4,79 (1H, q, J=6,8Hz), 7,78 (2H, s), 7,84 (1H, s)

Se disolvió la 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilazida resultante (producto bruto: 111,5 mg) en metanol (6 ml) y a la solución se le añadió paladio-fibroína (18 mg) para la sustitución de hidrógeno, y a continuación se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se filtró la mezcla de reacción a través de Celite, se concentró el filtrado a presión reducida, y se purificó el residuo resultante por cromatografía en columna de gel de sílice (cloroformo:metanol = 50:1 a 5:1) para obtener 77,6 mg de 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilamina como un aceite incoloro (rendimiento: 91 %, para 2 etapas).

- 20 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 1,42 (3H, d, J=6,8Hz), 1,58 (2H, s.a.), 4,30 (1H, q, J=6,8Hz), 7,75 (1H, s), 7,85 (2H, s)

La rotación específica de la 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilamina resultante fue como sigue.

$[\alpha]_D^{25} -15,9$  (c = 1,31, CHCl<sub>3</sub>)

- 25 La rotación específica de un producto estándar comercialmente disponible ((S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilamina (Central Glass Co., Ltd., Lot. 0102000, pureza óptica: 99 % de ee)) fue como sigue.

$[\alpha]_D^{25} -15,9$  (c = 1,15, CHCl<sub>3</sub>)

- 30 Se descubrió que el signo de la rotación específica medida realmente era conforme con la del producto estándar disponibles comercialmente y, en consecuencia, se confirmó que la 1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etilamina resultante era el isómero (S). Además, dado que esta amina se obtuvo a partir de 1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano a través de una reacción de sustitución nucleófila de ion azida, se confirmó que el 1-bromo-1-[3,5 bis(trifluorometil)fenil]etano obtenido en 1-(a) mencionado anteriormente fue el isómero (R).

1-(b): Preparación de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (2)

- 35 En atmósfera de argón, a (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol (1) (300 g 1,16 mol, 96 % de ee) se le añadió gota a gota tribromuro de fósforo (157,3 g, 0,58 mol) a una temperatura inferior a 20 °C en un baño de agua, y se agitó la mezcla a 19-22 °C durante 30 minutos. Se enfrió la mezcla de reacción, y se le añadió gota a gota bromuro de hidrógeno (solución al 30 % en ácido acético, 228 ml, 1,16 mol) a una temperatura inferior a 0 °C, y se agitó la mezcla a 13-15 °C durante 16 horas. Se vertió la mezcla de reacción en agua con hielo, y se extrajo la mezcla con n-hexano (3 l x 2). Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (3 l) y salmuera saturada (3 l), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y a continuación se concentró a presión reducida (90 a 100 mmHg) para obtener 389,2 g de un producto bruto. Se purificó el producto bruto resultante por cromatografía en columna (gel de sílice: 900 g, disolvente de desarrollo: n-hexano) para obtener 349,8 g de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (2) como un aceite incoloro (rendimiento: 93,8 %).

- 45 Se observó el primer pico como el pico principal en el análisis de HPLC quiral como se describe a continuación, y en consecuencia, se confirmó que el 1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano preparado en 1-(b) también era el isómero (R), como el obtenido en 1-(a).

Análisis por HPLC quiral: pureza óptica: > 93,9 % de ee (pico principal: primer pico), tasa de conversión: 97,8 %

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 2,08 (3H, d, J=7,1Hz), 5,21 (1H, q, J=7,1Hz), 7,81 (1H, s), 7,87 (2H, s)

Etapa 2: Preparación del compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético

5 En atmósfera de argón, a una solución de trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil]amino]metil]ciclohexil]acetato de etilo (3) (565,4 g, 0,99 mol) sintetizado por el procedimiento descrito en el documento de patente 2 (publicación de patente internacional WO2008/129951) en tetrahidrofurano anhidro (THF, 2,26 l) con NaH (60 % en aceite, 119 g, 2,98 mol) en enfriamiento con hielo, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se enfrió la mezcla de reacción a -30 °C, y se le añadió gota a gota una solución de (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (2) (682 g, 1,99 mol, 93,9 % de ee) obtenido en la etapa 1 en N,N-dimetilformamida anhidra (4,53 l) de modo que la temperatura del interior del sistema de reacción se mantuvo para que fuera de -15 °C o inferior, y se agitó la mezcla a de -15 a -1 °C durante 5 horas. Se vertió la mezcla de reacción en una solución mixta de agua helada (35 l) y tolueno (30 l), a la mezcla se le añadió ácido cítrico hasta que el pH fue de 6,9, y se separó la capa orgánica.

15 Se extrajo la capa acuosa dos veces con tolueno (20 l), se combinaron las capas orgánicas, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, y a continuación se concentró a presión reducida para obtener un producto bruto. Se disolvió el producto bruto en etanol (8 l), a la solución se le añadió NaOH acuoso 2 M (1,24 l, 2,48 mol) con enfriamiento con hielo, y se agitó la mezcla a 50 °C durante 3,5 horas. A la mezcla de reacción se le añadió HCl acuoso 1 M con enfriamiento con hielo hasta que el pH de la mezcla fue de 5,4, se vertió la mezcla en agua (25 l), y se extrajo la mezcla dos veces con acetato de etilo (22 l). Se lavó la capa orgánica con salmuera saturada (12 l), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y a continuación se concentró a presión reducida, y se purificó el residuo resultante por cromatografía en columna (gel de sílice: 21 g, disolvente de desarrollo: heptano/acetona = 7/1 → 3/1) para obtener un compuesto semiquiral (4) de ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético (aceite amarillo, 744,1 g, rendimiento: 96 %).

25 Como material de partida se usó (R)-1-bromo-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etano (2) del que se confirmó su configuración absoluta como se describe en la etapa 1 mencionada anteriormente, y la reacción de sustitución nucleófila con la amina (3) avanzó. En consecuencia, el compuesto semiquiral resultante (4) era un compuesto con isómero (S) dominante.

30 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,85-0,96 (7H, m), 1,35-1,45 (4H, m), 1,60-1,78 (5H, m), 2,18-2,21 (5H, m), 2,69 (1H, m), 2,81-2,91 (5H, m), 4,16 (2H, q, J=6,8Hz), 4,61 (1H, d, J=17,1Hz), 4,85 (1H, d, J=17,1Hz), 6,22 (1H, q, J=6,8Hz), 7,11 (1H, d, J=8,6Hz), 7,23 (1H, s), 7,37 (1H, d, J=8,3Hz), 7,70 (1H, s), 7,73 (2H, s), 8,14 (2H, s)

Etapa 3: Preparación del compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de éster bencílico del ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético

35 En atmósfera de argón, a una solución del compuesto semiquiral con isómero (S) dominante (4) de ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético (744,1 g, 0,95 mol) obtenido en la etapa 2 en dicloroetano anhidro (11,6 l) se le añadió alcohol bencílico (113,1 g, 1,05 mol), WSC·HCl (200,5 g, 1,05 mol) y DMAP (11,9 g, 98 mmol) con enfriamiento con hielo, y se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le añadió agua (10 l), y se extrajo la mezcla con cloroformo (19 l, 14 l). Se lavó la capa orgánica con salmuera saturada (12 l), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y a continuación se concentró a presión reducida, y se purificó el residuo resultante por cromatografía en columna (gel de sílice: 28 g, disolvente de desarrollo: heptano/acetato de etilo = 6/1) para obtener un compuesto semiquiral (5) de éster bencílico del ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético (aceite amarillo, 745,8 g, rendimiento: 90 %).

El compuesto semiquiral resultante (5) fue un compuesto con isómero (S) dominante de la misma manera que el compuesto semiquiral (4).

50 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,87-0,95 (7H, m), 1,37 (1H, m), 1,43 (3H, d, J=7,1Hz), 1,65-1,77 (5H, m), 2,20 (2H, d, J=6,8Hz), 2,22 (3H, s), 2,66-2,71 (2H, m), 2,82-2,91 (4H, m), 4,15 (2H, t, J=6,6Hz), 4,62 (1H, d, J=17,1Hz), 4,85 (1H, d, J=17,1Hz), 5,10 (2H, s), 6,21 (1H, q, J=7,1Hz), 7,10 (1H, d, J=8,3Hz), 7,22 (1H, s), 7,28-7,38 (6H, m), 7,70 (1H, s), 7,73 (2H, s), 8,14 (2H, s)

Etapa 4: Preparación del compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de éster bencílico del ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético

55 En atmósfera de argón, a una solución del compuesto semiquiral con isómero (S) dominante (5) de éster bencílico del ácido trans-4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil amino)metil]ciclohexil]acético (745,8 g, 0,87 mol) obtenido en la etapa 3 en 2-propanol (15,2 l) se le añadió

5 pentacloruro de tántalo (31,3 g, 87,3 mmol) y peróxido de hidrógeno acuoso al 30 % (496 ml, 4,38 mol), y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 5 horas. Se desactivó la mezcla de reacción con hidrogenosulfito de sodio acuoso saturado (3,1 l), y se le añadió agua (15 l), y se extrajo la mezcla con cloroformo (14 l, 12 l). Se lavó la capa orgánica con salmuera saturada (20 l), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y después se concentró a presión reducida, y se purificó el residuo resultante por cromatografía en columna (gel de sílice: 26 kg, disolvente de desarrollo: heptano/acetato de etilo = 3/1 → 2/1) para obtener un compuesto semiquiral (6) de éster bencílico del ácido  
 trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (amorfo amarillo, 619,5 g, rendimiento: 79 %).

10 El compuesto semiquiral resultante (6) fue un compuesto con isómero (S) dominante de la misma manera que el compuesto semiquiral (4) y el compuesto semiquiral (5).

Análisis por HPLC quiral: pureza óptica: 67,7 % de ee (pico principal: segundo pico)

15 RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,87-0,96 (7H, m), 1,38 (1H, m), 1,45 (3H, d, J=7,1Hz), 1,65-1,80 (5H, m), 2,21 (2H, d, J=6,6Hz), 2,69 (1H, m), 2,81-2,91 (3H, m), 3,08 (3H, s), 3,44 (2H, t, J=5,4Hz), 4,44 (2H, t, J=5,4Hz), 4,64 (1H, d, J=17,1Hz), 4,86 (1H, d, J=17,3Hz), 5,10 (2H, s), 6,19 (1H, q, J=6,9Hz), 7,12 (1H, d, J=8,3Hz), 7,19 (1H, s), 7,30-7,39 (6H, m), 7,71 (1H, s), 7,72 (2H, s), 8,16 (2H, s)

Etapa 5: Preparación de éster bencílico del ácido (S)-trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético sustancialmente ópticamente puro

20 El compuesto semiquiral con isómero (S) dominante (6) de éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (111,7 g, 123,7 mmol, 67,7 % de ee) obtenido en la etapa 4 se disolvió en etanol (825 ml) y se le añadieron cristales de siembra preparados por separado (los cristales del racemato preparado en la etapa 7 descrita a continuación, 2,0 mg) a una temperatura de 15 a 20 °C, y se agitó la mezcla a la misma temperatura durante 21 horas, y a 0 °C durante 3 horas.

25 Se separaron los precipitados por filtración, y se lavaron con etanol enfriado (165 ml), y a continuación se concentró la solución madre a presión reducida para obtener éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético sustancialmente ópticamente puro (7) (amorfo amarillo, 66,38 g, rendimiento: 59 %).

30 El éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético resultante (7) se obtuvo separando los cristales con racemato dominante del compuesto semiquiral con isómero (S) dominante (6) por filtración, y por lo tanto, el resultado fue el isómero (S).

35 Análisis por HPLC quiral: pureza óptica > 99 % de ee (pico principal: segundo pico)

$[\alpha]_D^{20} -42,36$  (c = 1,0 % p/v, CHCl<sub>3</sub>)

La pureza óptica de los cristales con racemato dominante separados por filtración fue de un 22 % de ee como se determinó por análisis de HPLC quiral (43,39 g, rendimiento: 39 %).

40 Etapa 6: Preparación de ácido (S)-trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético sustancialmente ópticamente puro

45 En atmósfera de nitrógeno, a una solución de éster bencílico del ácido (S)-trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (7) (34,2 g, 37,88 mmol, > 99 % de ee) obtenido en la etapa 5 en etanol (340 ml) se le añadió Pd-C al 10 % (húmedo, 3,4 g) para la sustitución de hidrógeno, y a continuación se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se filtró la suspensión de reacción a través de Celite, y se lavó con etanol (50 ml), y la se concentró solución de lavado a presión reducida para obtener ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético sustancialmente ópticamente puro (III) (amorfo blanco, 31,78 g, rendimiento: 100 %).

50 El compuesto resultante era un compuesto levógiro como se muestra por la rotación específica mencionada a continuación. Además, debido a que se obtuvo el compuesto resultante por desprotección del resto éster del isómero (S) del éster bencílico (7), el resultado también fue el isómero (S).

Análisis por HPLC quiral: pureza óptica: > 99 % de ee (pico principal: segundo pico)

$[\alpha]_D^{20}$  -46,68 (c = 1,0, CHCl<sub>3</sub>)

IR (ATR) cm<sup>-1</sup>: 2921, 1706, 1479, 1279, 1134

RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ: 0,80-0,96 (7H, m), 1,38 (1H, m), 1,47 (3H, d, J=7,1Hz), 1,65-1,77 (5H, m), 2,19 (2H, d, J=6,8Hz), 2,72 (1H, m), 2,81-2,91 (3H, m), 3,08 (3H, s), 3,45 (2H, t, J=5,2Hz), 4,44 (2H, q, J=5,4Hz), 4,62 (1H, d, J=17,1Hz), 4,86 (1H, d, J=17,4Hz), 6,21 (1H, q, J=7,1Hz), 7,13 (1H, d, J=8,3Hz), 7,19 (1H, s), 7,38 (1H, d, J=6,6Hz), 7,71 (1H, s), 7,73 (2H, s), 8,15 (2H, s)

Etapa 7: Preparación de cristales de siembra de racematos de éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético

10 A una solución de ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (compuesto racémico (I), 20 g, 24,61 mmol) sintetizado por el procedimiento descrito en el documento de patente 2 (publicación de patente internacional WO2008/129951), ejemplo 45 en diclorometano anhidro (200 ml) se le añadió alcohol bencílico (2, 93 g, 27,07 mmol), DMAP (300 mg, 2,46 mmol) y WSC·HCl (5,19 g, 27,07 mmol) con enfriamiento con hielo, y se calentó la mezcla a temperatura ambiente, y se agitó durante 16 horas. A la mezcla de reacción se le añadió agua (100 ml), y se extrajo la mezcla con cloroformo (500 ml). Se lavó la capa orgánica con ácido clorhídrico acuoso 2 M (100 ml) y salmuera saturada (100 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y a continuación se concentró a presión reducida, y se purificó el residuo resultante por cromatografía en columna (gel de sílice: 350 g, disolvente de desarrollo: N-hexano/acetato de etilo = 3/1 → 1/1) para obtener éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (21,15 g, rendimiento: 95,2 %) como amorfo blanco.

25 El éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético resultante como amorfo blanco (7,9 g) se disolvió en etanol (40 ml), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 15 horas, y se recogieron los precipitados resultantes por filtración, se lavó con etanol enfriado (20 ml), y se secó a 60 °C durante 4 horas a presión reducida para obtener cristales de racemato de éster bencílico del ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (polvo cristalino blanco, 6,98 g, rendimiento de recuperación: 88,4 %).

Ejemplo 2: Estudio de la influencia del compuesto isómero (S) (III) sobre la cantidad de proteína PCSK9 y la cantidad de receptor de LDL

35 Se estudió la influencia de un compuesto de prueba en la cantidad de proteína PCSK9 y la cantidad de receptor de LDL añadiendo el compuesto de prueba a una cepa de células de hepatoma humano, células HepG2, y midiendo la cantidad de proteína PCSK9 y la cantidad de receptor de LDL (LDLR) por transferencia de bandas Western después del cultivo durante 48 horas.

40 Específicamente, se inocularon las células HepG2 en una placa de 6 pocillos a una densidad de 5 x 10<sup>5</sup> células/pocillo y se cultivaron durante la noche, y un compuesto de prueba disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO), o solo DMSO se le añadió al medio de cultivo en una cantidad de 1/1000 veces. Se cultivaron las células a 37 °C durante 48 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub> se añadió el cultivo con 100 µl del tampón RIPA (Tris HCl 50 mM, pH 7,8, NaCl 150 mM, NP-40 al 1 %, desoxicolato de sodio al 0,5 %, SDS al 0,1 %, inhibidor de proteinasa) para romper las células, y se extrajeron las proteínas. Se centrifugaron las proteínas extraídas a 10.000 x g, se recogió el sobrenadante, y se le añadió un tampón de muestra de SDS (Tris-HCl 60 mM, pH 6,8, SDS al 2 %, glicerol al 10 %, mercaptoetanol al 3 %), y se sometió la mezcla a separación por SDS-PAGE (electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS) usando gel de poliacrilamida al 8 %. Después de la finalización de la separación, se fijaron las proteínas en una membrana de nitrocelulosa usando el sistema de transferencia de gel de iBlot (Invitrogen), y se bloquearon usando Block Ace (DS Pharma Biomedical, n.º de catálogo UK-B 80).

50 La detección de la proteína PCSK9, LDLR, y proteína β-actina, y la medida de las cantidades de los mismos se realizaron marcando las proteínas en la membrana usando anti-PCSK9 (Cayman, n.º de catálogo 1000718), anti-LDLR (Biovision, n.º de catálogo 3839-100), y anti-β-actina (Sigma, n.º de catálogo A5316), respectivamente, como anticuerpo primario y anti-IgG de conejo-HRP (Sigma, n.º de catálogo A0545) o anti-IgG de ratón-HRP (Sigma, n.º de catálogo A4416) como anticuerpo secundario, haciendo reaccionar un reactivo de quimioluminiscencia (sustrato de HRP) con el anticuerpo secundario en la membrana, y a continuación midiendo la intensidad de señal usando el analizador de imágenes Lumino LAS-3000 (Fuji Photo Film). Se evaluó numéricamente la intensidad de la señal resultante usando el programa informático de análisis de imágenes, Science Lab 2002 Multi Gauge (Fuji Photo Film).

Los valores de medida resultantes de la cantidad de proteína PCSK9 y la cantidad de receptor de LDL se corrigieron entre los obtenidos para la muestra añadida con un compuesto de prueba y la muestra de control (muestra añadida

solo con DMSO) usando las cantidades de la proteína  $\beta$ -actina como índice. La cantidad de proteína PCSK9 y la cantidad de receptor de LDL corregidas de la muestra de adición del compuesto de prueba se representaron por valores relativos basados en la cantidad de proteína PCSK9 y la cantidad de receptor de LDL de la muestra de control, respectivamente, que se tomaron como 1.

5 Los resultados se muestran en la tabla 1.

Como compuesto de prueba, se usaron los siguientes compuestos.

1: ácido (S)-trans-{4-[[2-[[1-3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético (compuesto isómero (S) (III))

10 El compuesto isómero (S) (III) (pureza óptica: > 99 % de ee) se añadió al medio de cultivo en una concentración final de 10  $\mu$ M.

2: ácido (R)-trans-{4-[[2-[[1-3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético (compuesto isómero (R) (II))

El compuesto isómero (R) (II) (pureza óptica:  $\geq$  98 % de ee) se añadió al medio de cultivo en una concentración final de 10  $\mu$ M.

15 3: ácido trans-{4-[[2-[[1-3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético (compuesto racémico (I))

Se añadió el compuesto racémico (I) al medio de cultivo en una concentración final de 10  $\mu$ M.

[Tabla 1]

Compuesto de prueba	Dosis ( $\mu$ M, concentración en medio de cultivo)	Cantidad de proteína PCSK9 (valor relativo basado en el valor de control tomado como 1)	Cantidad de receptor de LDL (valor relativo basado en el valor de control tomado como 1)
Compuesto isómero (S) (III)	10	0,28	1,73
Compuesto isómero (R) (II)	10	1,05	0,93
Compuesto racémico (I)	10	0,68	0,73

20 Como se entiende claramente de los resultados mostrados en la tabla 1, el compuesto isómero (S) (III) redujo notablemente la cantidad de proteína PCSK9 e incrementó la cantidad de receptor de LDL en comparación con el control, mientras que el (R) compuesto isómero (II) y el compuesto racémico (I) casi no tuvieron dichas acciones. En particular, la cantidad de receptor de LDL se incrementó notablemente solo por el compuesto isómero (S) (III) en comparación con el control.

25 A partir de los resultados de prueba anteriores, se reveló que el compuesto isómero (S) (III) tenía la acción de reducción sobre la cantidad de proteína PCSK9 y la acción de incremento sobre la cantidad de receptor de LDL.

30 Además, aunque la presente invención no está limitada por la siguiente estimación, se estimó que, debido a que el compuesto racémico (I) casi no tenía ninguna acción de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 y no tenía absolutamente ninguna acción de incremento de la cantidad de receptor de LDL a pesar del hecho de que contenía aproximadamente un 50 % del compuesto isómero (S) (III), el compuesto isómero (R) (II) como componente constituyente del compuesto racémico (I) inhibió la expresión de las acciones del compuesto isómero (S) (III) en el compuesto racémico (I). Se estima además que es preferente incrementar la pureza óptica del compuesto isómero (S) (III) para reducir el contenido del compuesto isómero (R) (II), en especial para potenciar la acción de incremento de la cantidad de receptor de LDL.

35 Ejemplo 3: Estudio de la influencia del compuesto isómero (S) (III) sobre la expresión de ARNm de PCSK9

Para estudiar el mecanismo de la acción de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 revelada en el ejemplo 2 mencionado anteriormente, se añadió un compuesto de prueba a las células HepG2, y se midió la cantidad de expresión de ARNm de PCSK9 por el procedimiento de PCR cuantitativa en tiempo real después del cultivo durante 24 horas.

40 Específicamente, se inocularon las células HepG2 en una placa de 24 pocillos a una densidad de 2 x 10<sup>5</sup> células/pocillo y se cultivaron durante la noche, y a continuación se añadió un compuesto de prueba disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO), o solo DMSO al medio de cultivo en una cantidad de 1/1000 veces. Se cultivaron las células a 37 °C durante 24 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub>, y a continuación se le añadieron 500  $\mu$ l de ISOGEN (NIPPON GENE, n.º de catálogo 31-02501), y se extrajo el ARN total. Se sintetizó ADNc a partir del ARN total extraído usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems, n.º de catálogo 4368813). Se midió la cantidad de expresión de ARNm de PCSK9 humana por PCR cuantitativa en tiempo real usando cebadores

específicos de PCSK9 humano (Kourimate S. *et al.*, J. Biol. Chem., Vol. 283, p. 9666), y la mezcla Fast SYBR Green Master (Applied Biosystems, n.º de catálogo 4385614). Como aparato de medida, se usó el sistema 7900HT Fast Realtime PCR.

5 Los valores medidos resultantes de la cantidad de expresión de ARNm de PCSK9 se corrigieron entre los obtenidos para las muestras de adición de compuesto de prueba (3 muestras) y las muestras de control (muestra añadida sólo con DMSO, 3 muestras) usando las cantidades de expresión de ARNm de  $\beta$ -actina como índice. La cantidad de expresión de ARNm de PCSK9 corregida de las muestras de adición de compuesto de prueba se representó con un valor relativo (promedio  $\pm$  error estándar) basado en el promedio de las cantidades de expresión de ARNm de PCSK9 de las muestras de control, que se tomó como 1.

10 Los resultados se muestran en la tabla 2.

Como compuesto de prueba, se usó el siguiente compuesto.

1: ácido  
(S)-trans-{4-[[{2-[[{1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil}{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético (compuesto isómero (S) (III))

15 El compuesto isómero (S) (III) (pureza óptica: > 99 % de ee) se añadió al medio de cultivo en una concentración final de 10  $\mu$ M.

[Tabla 2]

Compuesto de prueba	Dosis ( $\mu$ M, concentración en medio de cultivo)	Cantidad de expresión de ARNm de PCSK9 (valor relativo basado en el valor promedio de control tomado como 1)
Compuesto isómero (S) (III)	10	0,18 $\pm$ 0,13

20 A partir de los resultados mostrados en la tabla 2, se reveló que el compuesto isómero (S) (III) redujo notablemente la cantidad de expresión de ARNm de PCSK9 en comparación con el control.

Por lo tanto, se consideró que al menos una parte de la acción reducción de la cantidad de proteína PCSK9 del compuesto isómero (S) (III) revelado en el ejemplo 2 se basó en la acción de supresión de la expresión del gen PCSK9, y el compuesto isómero (S) (III) tenía una acción de supresión de la producción de proteína PCSK9.

Ejemplo 4: Estudio de la acción de reducción de la colesterolemia-LDL del compuesto isómero (S) (III)

25 Se suspendió ácido  
(S)-trans-{4-[[{2-[[{1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil}{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético (compuesto isómero (S) (III), pureza óptica: > 99 % de ee) en una solución de metilcelulosa al 0,5 %, y se administró por vía oral repetidamente a hámsteres normales (hámsteres sirios machos) una vez al día durante 14 días usando una sonda metálica. Cuatro horas después de la administración final, se extrajo sangre, y se obtuvo plasma. Se analizaron las lipoproteínas en el plasma por medida automática usando un sistema de HPLC basado en el procedimiento de posmarcado de acuerdo con el procedimiento descrito en J. Lipid. Res., 43, p. 805-814. Específicamente, se diluyeron 15  $\mu$ l de una muestra de plasma 10 veces con PBS que contenía EDTA 1 mM, y se inyectaron 80  $\mu$ l de la muestra diluida en una columna de filtración en gel (columna Superse 6 (tamaño de columna: 10 x 300 mm), GE Healthcare Bioscience) conectada a un sistema de HPLC (unidad de alimentación de líquido: sistema Shimadzu LC-20A, Shimadzu). Se realizó la separación a un caudal de 0,5 ml/minuto y una temperatura de columna de 40 °C usando PBS que contenía EDTA 1 mM como tampón de desplazamiento. Se mezcló un reactivo para la medida de colesterol (Cholesterol E-Test Wako, Wako Pure Chemical Industries) con el eluido de la columna a un caudal de 0,25 ml/minuto, y se realizó la reacción a 40 °C en una bobina de reacción (0,5 mm x 15 m) con alimentación del eluido. Se detectaron los colesterolos en el eluido obtenido a partir de la bobina de reacción a una longitud de onda de 600 nm. Se calculó la proporción del área de la fracción de LDL basada en el área de pico total resultante de los colesterolos, y se multiplicó la cantidad de colesterol total medida con antelación usando Cholesterol E-Test Wako por la proporción del área de la fracción de LDL para calcular la cantidad de colesterol-LDL.

45 Se usaron seis hámsteres normales para cada uno de, el grupo de control (grupo de administración de solución de metilcelulosa al 0,5 %) y los grupos de administración del compuesto de prueba (grupos de administración de 10 mg/kg de peso corporal y 30 mg/kg de peso corporal del compuesto isómero (S) (III)). Se dividieron los hámsteres en los grupos con antelación en base al valor de colesterol en plasma total.

50 Las cantidades de colesterol-LDL en el plasma de los grupos (LDL-C, mg/dl) se muestran en la tabla 3. Los símbolos \* y \*\*\* en la tabla 3 quiere decir que hubo diferencias significativas a un nivel de significación de un 5 % o menos ( $p < 0,05$ ) y un nivel de significación de un 0,1 % o menos ( $p < 0,001$ ), respectivamente, como se determina por una prueba de comparación de múltiples grupos (prueba de comparación múltiple de Dunnett) realizada entre el grupo de control y cada uno de los grupos de administración del compuesto de prueba. Además, se calculó la tasa de

reducción de la cantidad de colesterol-LDL del grupo de administración del compuesto de prueba basada en el grupo de control, de acuerdo con la siguiente ecuación 1 como una tasa de reducción de colesterol, y se indicó en términos de porcentaje.

- 5 Tasa de reducción de colesterol-LDL (%) =  $\frac{[(\text{promedio de la cantidad de colesterol-LDL de grupo de control} - \text{promedio de la cantidad de colesterol-LDL de grupo de administración del compuesto})/\text{promedio de la cantidad de colesterol-LDL de grupo de control}] \times 100}{\text{ecuación 1}}$

[Tabla 3]

Compuesto	Dosis (mg/kg)	Promedio de la cantidad de colesterol LDL $\pm$ desviación estándar (mg/dl)	Tasa de reducción de colesterol LDL (%)
Control	-	50 $\pm$ 3,0	-
Compuesto isómero (S) (III)	10	40 $\pm$ 2,6*	20,0
	30	31 $\pm$ 2,6***	38,0

- 10 A partir de los resultados mostrados en la tabla 3, se reveló que el compuesto isómero (S) (III) tenía una acción de reducción de la colesterolemia-LDL superior.

A partir de los resultados de prueba mencionados anteriormente, también se reveló que el compuesto isómero (S) (III) es útil como ingrediente activo de un medicamento que tiene una acción de reducción de LDL en sangre, y similares.

Ejemplo 5: Estudio de la influencia del compuesto racémico (I) y similares en la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa

- 15 Se añadió un compuesto de prueba a las células HepG2 y se cultivaron las células durante 8 horas, y a continuación se midió la cantidad de la expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa por PCR cuantitativa en tiempo real.

- 20 Específicamente, se inocularon las células HepG2 en una placa de 24 pocillos a una densidad de  $2 \times 10^5$  células/pocillo y se cultivaron durante la noche, y a continuación se añadió un compuesto de prueba disuelto en dimetilsulfóxido (DMSO), o solo DMSO al medio de cultivo en una cantidad de 1/1000 veces. Se cultivaron las células a 37 °C durante 8 horas en una incubadora de CO<sub>2</sub>, y a continuación se les añadieron 500  $\mu$ l de ISOGEN (NIPPON GENE, n.º de catálogo 31-02501), y se extrajo el ARN total. Se sintetizó ADNc a partir del ARN total extraído usando el kit de transcripción inversa de ADNc de alta capacidad (Applied Biosystems, n.º de catálogo 4368813). Se midió la cantidad de expresión del ARNm de la HMG-CoA reductasa humana por PCR cuantitativa en tiempo real usando un conjunto de los siguientes cebadores: 5'- GGTGTTCAAGGAGCATGCAAAG -3' y 5'- TGACAAGATGTCCTGCTGCCA-3' específicos para la HMG-CoA reductasa humana, y la mezcla Fast SYBR Green Master (Applied Biosystems, n.º de catálogo 4385614). Como aparato de medida, se usó el sistema 7900HT Fast Realtime PCR.

- 30 Se corrigieron los valores medidos resultantes de la cantidad de expresión de ARNm de la HMG-CoA reductasa entre los obtenidos para las muestras de adición del compuesto de prueba (3 muestras para cada compuesto) y muestras de control (muestra añadida solo con DMSO, 3 muestras) usando las cantidades de expresión de ARNm de  $\beta$ -actina como índice. Se representó la cantidad de expresión de ARNm de la HMG-CoA reductasa corregida de la muestra de adición del compuesto de prueba con un valor relativo (promedio  $\pm$  error estándar) basado en el promedio de las cantidades de expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa de las muestras de control, que se tomó como 1.

Los resultados se muestran en la tabla 4.

- 35 Como compuesto de prueba, se usaron los siguientes compuestos. 1: ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]etil]{5-[2-(metilsulfonil)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (compuesto racémico (I))

Se añadió el compuesto racémico (I) al medio de cultivo en una concentración final de 10  $\mu$ M.

- 40 2: ácido trans-4-[[[2-[[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]etil]{5-[2-(metiltio)etoxi]pirimidin-2-il]amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil](etil)amino)metil]ciclohexil]acético (compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44)

El compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, se añadió al medio de cultivo en una concentración final de 10  $\mu$ M.

[Tabla 4]

Compuesto de prueba	Dosis ( $\mu\text{M}$ , concentración en medio de cultivo)	Cantidad de expresión de ARNm de HMG-CoA reductasa (valor relativo basado en el valor promedio de control tomado como 1)
Compuesto racémico (I)	10	$0,37 \pm 0,02$
Compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44	10	$0,25 \pm 0,03$

A partir de los resultados mostrados en la tabla 4, se reveló que tanto el compuesto racémico (I) como el compuesto descrito en el documento de patente 2, ejemplo 44, redujeron notablemente la cantidad de expresión del ARNm de HMG-CoA reductasa en comparación con el control.

## 5 Aplicabilidad industrial

El compuesto isómero (S) (III) tiene una acción de reducción de la cantidad de proteína PCSK9 y una acción de incremento de la cantidad de receptor de LDL, y tiene una acción de reducción de la colesterolemia de LDL superior. Por lo tanto, el compuesto se puede utilizar, por ejemplo, como ingrediente activo de un medicamento para reducir el colesterolemia-LDL, y similares, y por tanto se puede utilizar en la industria farmacéutica.



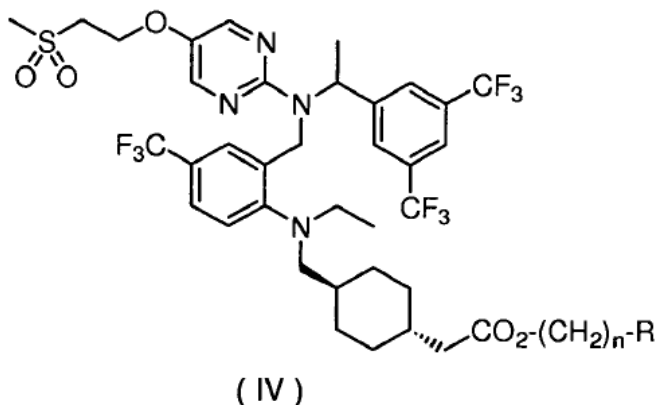
**Listado de secuencias**

- <110> Kowa Company Ltd.
- <120> Derivado de dibencilamina ópticamente activo y procedimiento para la producción del mismo
- <130> 111195M
- 5 <150> JP 2010-128585
- <151> 04/06/2010
- <150> JP 2010-218299
- <151> 29/09/2010
- <160> 2
- 10 <170> PatentIn versión 3.1
- <210> 1
- <211> 22
- <212> ADN
- <213> artificial
- 15 <400> 1
- gggtgttcaag gagcatgcaa ag**
- <210> 2
- <211> 21
- <212> ADN
- 20 <213> artificial
- <400> 2
- tgacaagatg tcctgctgcc a**

## REIVINDICACIONES

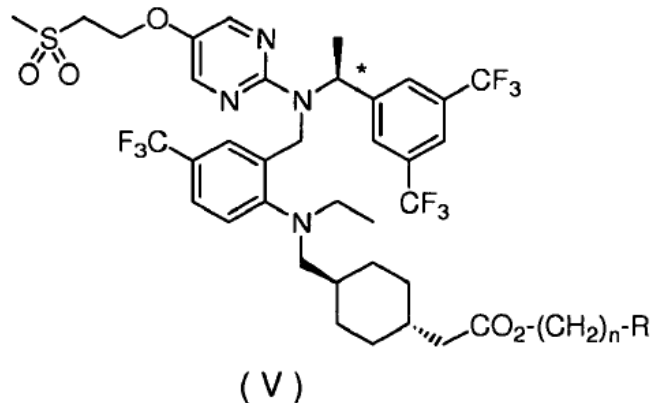
- 1      Ácido  
 5      (S)-trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)-fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluoro metil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético sustancialmente ópticamente puro, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, que tiene una pureza óptica de un 90 % de ee o mayor.
- 2      El compuesto de la reivindicación 1, que es un enantiómero levógiro de ácido trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluorometil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético, o una sal del mismo, o un solvato del mismo.
- 10     3      El compuesto, o una sal del mismo, o un solvato del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene una pureza óptica de un 95 a un 100 % de ee.
- 4      El compuesto, o una sal del mismo, o un solvato del mismo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que tiene una pureza óptica de un 99 % de ee o mayor.
- 15     5      Un medicamento que comprende el compuesto, o una sal del mismo, o un solvato del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, como ingrediente activo.
- 6      El medicamento de acuerdo con la reivindicación 5, que es para su uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad seleccionada de hipercolesterolemia-LDL, dislipidemia, arterioesclerosis, aterosclerosis, vasculopatías periféricas, hipercolesterolemia, hipercolesterolemia familiar, trastornos funcionales cardiovasculares, angina de pecho, isquemia, isquemia cardiaca, trombosis, infarto de miocardio, trastornos de revascularización, reestenosis de angioplastia, e hipertensión.
- 20     7      El compuesto, o una sal del mismo, o un solvato del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para su uso como ingrediente activo de un agente seleccionado de los siguientes a) a d):
- a) agente de supresión de la expresión de ARNm de PCSK9;
- b) agente de reducción de la cantidad de proteína PCSK9;
- 25     c) agente de supresión de la producción de proteína PCSK9;
- d) agente de incremento de la cantidad de receptor de LDL.
- 8      Un procedimiento para preparar ácido  
 30      (S)-trans-{4-[[2-[[1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etil]{5-[2-(metilsulfonyl)etoxi]pirimidin-2-il}amino)metil]-4-(trifluoro metil)fenil}(etil)amino)metil]ciclohexil}acético sustancialmente ópticamente puro, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, que tiene una pureza óptica de un 90 % de ee o mayor, que comprende la etapa de retirar los cristales con racemato dominante de un compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la siguiente fórmula general (IV):

[Fórmula 1]



- 35      (en la fórmula, R representa un grupo arilo C<sub>6-10</sub> que puede tener un sustituyente, o un grupo heteroarilo de 5 a 10 miembros que puede tener un sustituyente, y n representa un número entero de 1 a 6) por cristalización preferencial en un disolvente para obtener un compuesto sustancialmente ópticamente puro representado por la siguiente fórmula general (V):

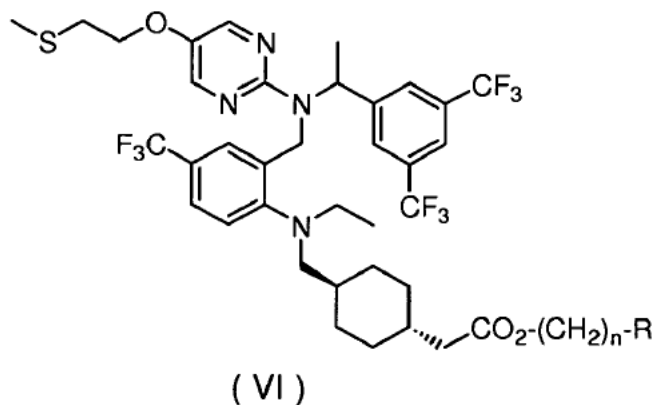
[Fórmula 2]



(en la fórmula, R y n tienen los mismos significados que los definidos anteriormente).

- 9 El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende además la etapa de retirar un grupo representado como  $-(CH_2)_n-R$  del compuesto representado por la fórmula general (V).
- 10 El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, que comprende además la etapa de hacer reaccionar un compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la siguiente fórmula general (VI):

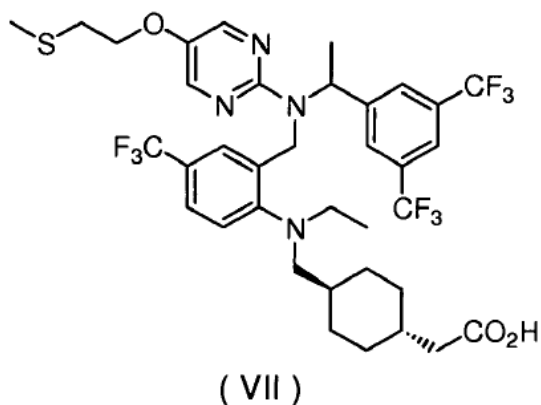
[Fórmula 3]



(en la fórmula, R y n tienen los mismos significados que los definidos anteriormente) con un agente oxidante en un disolvente para preparar el compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la fórmula general (IV).

- 11 El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 10, que comprende además la etapa de hacer reaccionar un compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la siguiente fórmula (VII):

[Fórmula 4]



con un compuesto representado por la siguiente fórmula general (VIII)

[Fórmula 5]

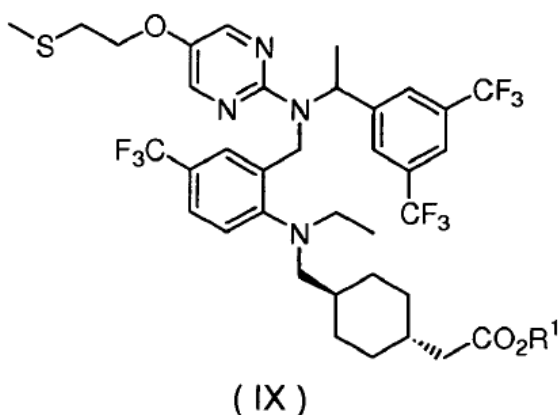
$R-(CH_2)_n-OH$  (VIII)

5 (en la fórmula, R y n tienen los mismos significados que los definidos anteriormente) en un disolvente en presencia de un catalizador para preparar el compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la fórmula general (VI).

12 El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, que comprende además la etapa de hidrolizar un compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la siguiente fórmula general (IX):

10

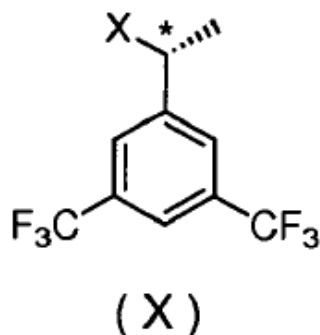
[Fórmula 6]



(en la fórmula,  $R^1$  representa un grupo alquilo  $C_{1-6}$ ) en un disolvente en presencia de una base para preparar el compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la fórmula (VII).

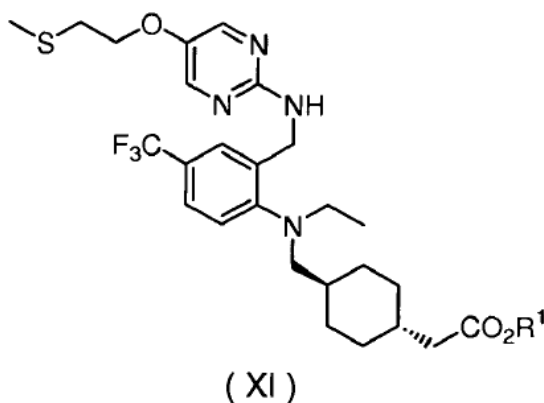
15 13 El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 12, que comprende además la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la siguiente fórmula general (X):

[Fórmula 7]



(en la fórmula, X representa un átomo de halógeno), y un compuesto representado por la siguiente fórmula general (XI):

[Fórmula 8]



5

(en la fórmula, R<sup>1</sup> tiene el mismo significado que el definido anteriormente) en un disolvente en presencia de una base para preparar el compuesto semiquiral con isómero (S) dominante de un compuesto representado por la fórmula general (IX).

- 10 14 El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, que comprende además la etapa de halogenar (S)-1-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]etanol en presencia de un agente de halogenación para preparar el compuesto representado por la fórmula general (X).
- 15 15 Un compuesto semiquiral representado por la fórmula general (IV) mencionada en la reivindicación 8, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, que contiene el enantiómero (S) que tiene una pureza óptica no inferior a un 10 % de ee e inferior a un 90 % de ee.
- 15 16 Un compuesto sustancialmente ópticamente puro representado por la fórmula general (V) mencionado en la reivindicación 8, o una sal del mismo, o un solvato del mismo, que tiene una pureza óptica de un 90 % de ee o mayor.
- 17 17 El compuesto, o una sal del mismo, o un solvato del mismo de acuerdo con la reivindicación 15 o 16, en el que R es grupo fenilo, y n es 1.