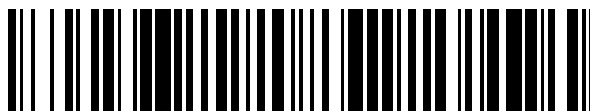


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 718 038**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2016** **PCT/EP2016/067083**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.01.2017** **WO17013079**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2016** **E 16741296 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.02.2019** **EP 3280714**

54 Título: **Impurezas diméricas de Apixaban y método de eliminación de las mismas**

30 Prioridad:

20.07.2015 EP 15177517

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

27.06.2019

73 Titular/es:

F.I.S. FABBRICA ITALIANA SINTETICI S.P.A.
(100.0%)

Viale Milano, 26
36075 Alte di Montecchio Maggiore, IT

72 Inventor/es:

BRASOLA, ELENA;
TOMASI, FILIPPO y
PERUZZI, LORIS

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

Observaciones:

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

ES 2 718 038 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

Impurezas diméricas de Apixaban y método de eliminación de las mismas

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a impurezas del principio activo Apixaban, que pueden producirse durante la síntesis de Apixaban, a métodos para identificar y/o cuantificar dichas impurezas y a un método sintético para eliminar o limitar su presencia de las mismas en Apixaban y sus precursores sintéticos.

10

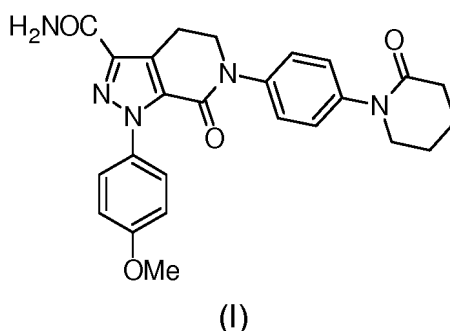
La invención también se refiere al uso de estas impurezas diméricas en métodos analíticos.

Antecedentes de la técnica

- 15 El Apixaban es un principio activo farmacéutico usado como anticoagulante para el tratamiento de los eventos tromboembólicos venosos. Además, también se ha mostrado prometedor en el tratamiento del síndrome coronario agudo (SCA), la isquemia cerebrovascular y el cáncer.

El Apixaban que tiene la siguiente fórmula química (I):

20



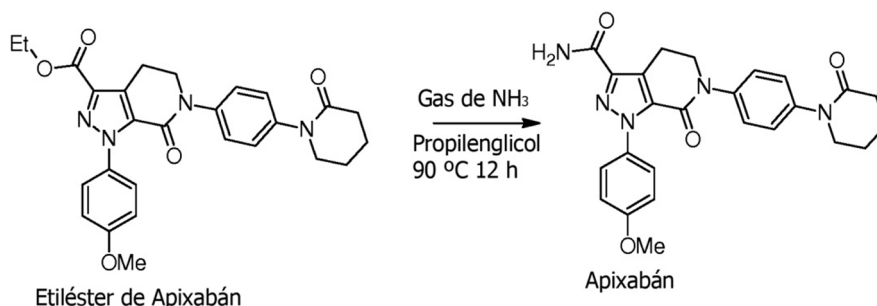
tiene el nombre químico 1-(4-metoxifenil)-7-oxo-6-[4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil]-4,5-dihidropirazolo[5,4-c]piridin-3-carboxamida y CAS RN 503612-47-3.

25

Se han descrito varios métodos para la preparación de Apixaban.

En particular, el documento WO2007/001385 describe una síntesis a una escala de múltiples kilogramos.

- 30 Específicamente, el documento WO2007/001385 describe, en el ejemplo 6, un procedimiento para la preparación de Apixaban mediante reacción de amidación a una escala de 10 kg del etiléster de Apixaban de acuerdo con el siguiente esquema de reacción:



35

De acuerdo con dicho procedimiento, usando amoníaco anhidro en propilenglicol y realizando la reacción durante al menos 12 horas a 90 °C, se obtuvo Apixaban con un 94,6 % de rendimiento molar aislado.

- 40 *Synthetic Communications*, 43, 72-79, 2013 Jian'an Jing, y Yafei Ji describe una estrategia sintética rentable para el Apixaban como se describe en el esquema 3 en la pág. 74 de dicha publicación.

Otro método para la preparación de Apixaban se describe en el documento WO 03/049681; en particular, en los ejemplos de 54 a 56, se describe la vía de síntesis para preparar dicho principio activo farmacéutico, a partir del

5 diferente, denominado cobre (I), un catalizador, por medio de una filtración, y tras el lavado con etanol y luego éter dietílico. El cobre (I) obtenido cataliza la reacción, produciendo el compuesto 63, por lo tanto, la filtración, y el lavado con etanol y luego con éter dietílico mencionados anteriormente no se llevan a cabo para producir el compuesto 63, sino solo para eliminar el cobre (I).

10 Un método adicional para obtener un producto intermedio de Apixaban se describe en el documento CN104030972. En particular, en el ejemplo 1, se describe el procedimiento para obtener el compuesto (I), es decir, un producto intermedio de Apixaban. Específicamente, en la etapa (3), dicho compuesto se obtiene mediante la adición de agua seguida de filtración; finalmente, el compuesto (I) se produce con un rendimiento del 74,0 % y una pureza superior al 98,5 %.

15 Durante la presente experimentación de laboratorio, se encontró que, sorprendentemente, muchas vías de síntesis descritas en la bibliografía para la preparación de Apixaban proporcionan un producto contaminado por impurezas que tienen un alto peso molecular.

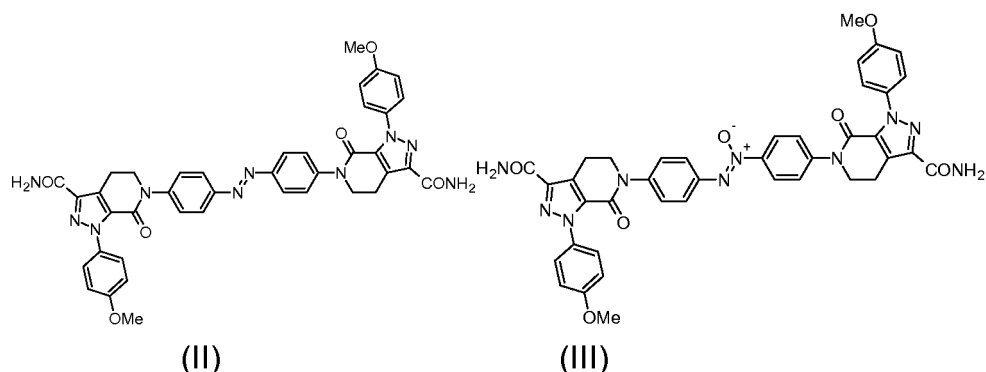
20 La presencia de dichas impurezas de alto peso molecular, en especial, en cantidades superiores al 0,10 %, no es aceptable en un principio activo farmacéutico tal como el Apixaban.

Sumario de la invención

25 El problema abordado por la presente invención es, por lo tanto, el de proporcionar un procedimiento mejorado para la preparación de Apixaban que permita la preparación de Apixaban que tenga un bajo contenido de impurezas de alto peso molecular.

Este problema se resuelve mediante un procedimiento para la preparación de Apixaban como se describe en las reivindicaciones adjuntas, cuyas definiciones forman parte integrante de la presente descripción.

En particular, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para producir el principio activo Apixaban esencialmente libre de impurezas diméricas que tienen la siguiente estructura (II) y/o (III):



En un aspecto adicional, la invención proporciona un método para la determinación de la fórmula (II) y/o la fórmula (III) de las impurezas diméricas del Apixaban.

40 En otro aspecto más, la invención proporciona los compuestos de fórmula (II), (III), (VI) y (VII) como nuevas entidades químicas.

En un aspecto adicional, la invención proporciona el uso de la impureza aislada de fórmula (II), (III), (VI) y (VII) como un "marcador de referencia" y/o "patrón de referencia" en métodos para determinar la identidad y/o la cantidad de dichas impurezas en una muestra de Apixaban o en sus precursores.

Dibujos

La Fig. 1 muestra un esquema general de la síntesis de Apixaban, que incluye el arrastre de las impurezas a través de dicha síntesis en términos de estructuras químicas y cantidades de dichas impurezas, como en el procedimiento de la técnica anterior.

La Fig. 2 muestra un esquema general de la síntesis de Apixaban, de acuerdo con el procedimiento de la

presente invención, e incluye el arrastre de las impurezas a través de dicha síntesis en términos de estructuras químicas y cantidades de dichas impurezas, obtenido de acuerdo con el procedimiento que comprende las etapas de a) a d).

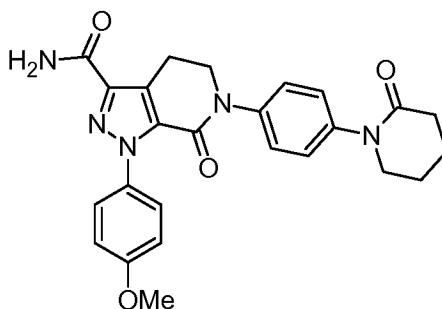
La Fig. 3 muestra el espectro UV de la impureza dimérica de Apixaban de fórmula (II) medido por LC-MS.

5 La Fig. 4 muestra el espectro UV de la impureza dimérica de Apixaban de fórmula (III) medido por LC-MS.

Descripción de las realizaciones

El objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de Apixaban de fórmula (I):

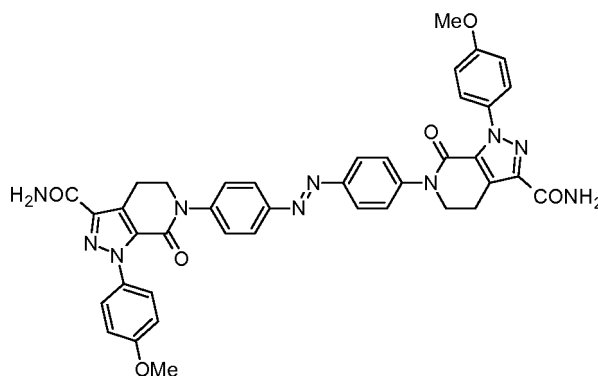
10



(I)

comprendiendo dicho Apixaban menos del 0,10 % de área de HPLC de la siguiente impureza dimérica de Apixaban:

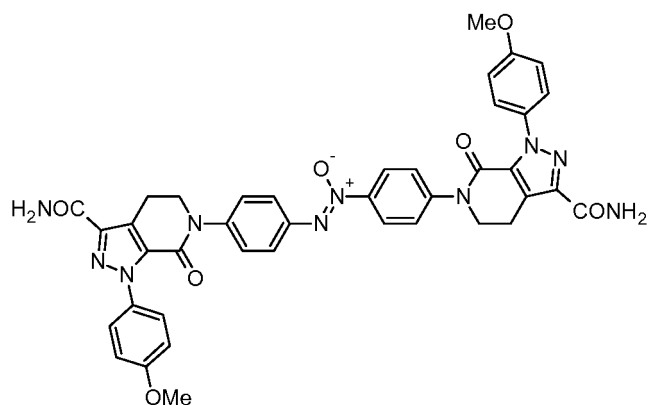
15 (E)-6,6'-(4,4'-(diazene-1,2-diil)bis(4,1-fenilen))bis(1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-carboxamida), que tiene la siguiente estructura (II):



(II),

20 y/o de la impureza dimérica de Apixaban:

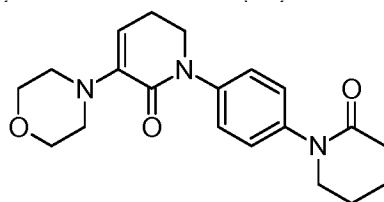
óxido de (Z)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-6(7H)-il)fenil)diazeno, que tiene la siguiente estructura (III):



(III),

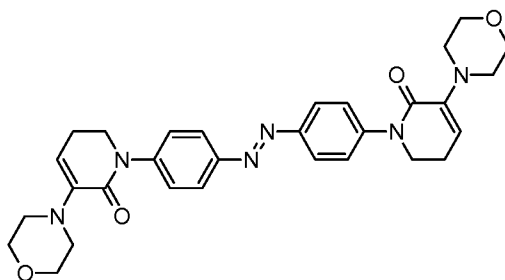
comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

- 5 a) preparar una solución de 3-morfolin-1-(4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil)-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona de fórmula (IX):



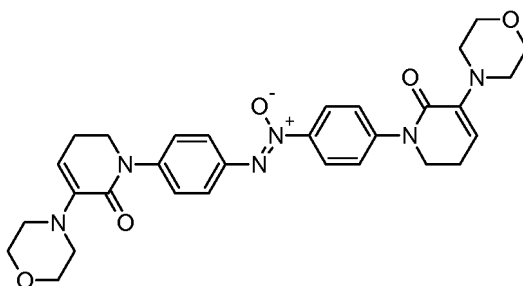
(IX)

- 10 en una mezcla de un alcohol C₁-C₃ y agua, en la que la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de 5 a 20 volúmenes, y la cantidad de agua es de 1 a 15 volúmenes, ambos en comparación con el compuesto de fórmula (IX);
b) filtrar la solución preparada en la etapa a) para eliminar la siguiente impureza dimérica:
(*E*)-1,1'-(4,4'-(diazén-1,2-diil)bis(4,1-fenilen))bis(3-morfolin-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona) de fórmula (VI) y/o la impureza óxido (*Z*)-1,2-bis(4-(3-morfolin-2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)fenil)diazeno de fórmula (VII):



(VI)

15



(VII),

- c) obtener, en el filtrado, una solución que comprende el compuesto purificado de fórmula (IX);
 d) convertir el compuesto de fórmula (IX) de la etapa c) en Apixaban de fórmula (I).

5 De hecho, se ha encontrado que, sorprendentemente, con la filtración de una solución alcohólica acuosa que comprende el compuesto de fórmula (IX) es posible eliminar selectivamente las impurezas diméricas relacionadas respectivamente de fórmula (VI) y (VII). Dichas impurezas permanecen, por tanto, en forma sólida en el filtro y, en cambio, toda la cantidad de producto purificado se recoge en la solución filtrada. La materia sólida que permanece en el filtro, en realidad, no contiene cantidades del producto de fórmula (IX), sino que solo contiene las impurezas
 10 diméricas de fórmula (VI) y (VII) y, opcionalmente, otros adyuvantes de filtración inorgánicos y/o carbón activo.

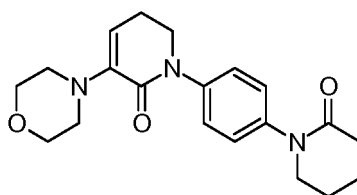
Una ventaja del procedimiento de la presente invención es que permite la preparación de Apixaban y de sus precursores de fórmula (IX) que contienen menos del 0,10% de área de HPLC de cada impureza dimérica respectivamente de fórmula (II) y (III), (VI) y (VII).

15 Otra ventaja muy importante del procedimiento de la presente invención es que dicho procedimiento es muy eficaz en la reducción de los niveles de las impurezas diméricas y, al mismo tiempo, es sumamente eficaz en la eliminación de las impurezas diméricas, evitando cualquier pérdida del producto, es decir, proporciona un producto con un rendimiento casi cuantitativo. Este resultado es seguramente mejor que el que se puede lograr con cualquier otro
 20 procedimiento de recristalización, en el que, aunque teóricamente sea posible alcanzar la misma reducción del nivel de las impurezas diméricas, el rendimiento del producto purificado es seguramente mucho más bajo que el rendimiento casi cuantitativo obtenido mediante el procedimiento de la presente invención.

Por otra parte, se ha observado que dichas impurezas diméricas, como se muestra en la fig. 1, son muy difíciles de
 25 eliminar, de hecho, están presentes en cada etapa del procedimiento de síntesis de Apixaban, ya que durante el aislamiento de los productos intermedios, no se pierden, dando lugar, por tanto, al producto Apixaban con un alto contenido de impurezas diméricas, a través de todas las etapas de síntesis del procedimiento.

Por último, se debe considerar que, dado que estas impurezas diméricas de Apixaban tienen un alto peso molecular, muestran altos tiempos de retención relativos en el análisis de HPLC, o muy a menudo, en un método analítico dirigido al análisis de Apixaban y sus impurezas relacionadas. Como, por ejemplo, las impurezas de los isómeros, dichas impurezas diméricas son retenidas por la columna cromatográfica y, en la mayoría de los casos, no se eluyen, permaneciendo en la cabeza de la columna. Por lo tanto, la determinación de la presencia de dichas impurezas diméricas no es evidente y, por consiguiente, ya que no es evidente la determinación de la presencia de las
 35 impurezas diméricas. Lo mismo se aplica a un método dirigido a la eliminación o la reducción de dichas impurezas.

El compuesto de la siguiente fórmula (IX) se puede preparar de acuerdo con los métodos sintéticos descritos en *Synthetic Communication*, 2013, vol. 43, pág. 72-79:

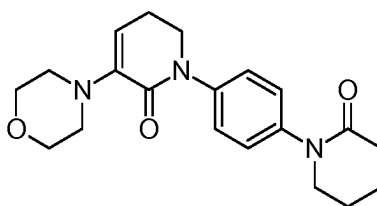


(IX).

40

El Apixaban preparado de acuerdo con el procedimiento de la presente invención comprende menos del 0,10 % de cada una de las impurezas diméricas de Apixaban de fórmula (II) y (III), en el que el 0,10 % se determina mediante análisis del % de A/A de HPLC. Dicha determinación se puede llevar a cabo convenientemente usando el método
 45 analítico descrito en el ejemplo 8.

En la etapa a) del procedimiento de la presente invención, se prepara una solución de 3-morfolin-1-(4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil)-5,6-dihidropiridin-2(1H)-ona de fórmula (IX):



(IX)

en una mezcla de un alcohol C_1-C_3 y agua, en la que la cantidad de alcohol C_1-C_3 es de 5 a 20 volúmenes, y la cantidad de agua es de 1 a 15 volúmenes, ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX).

5

Preparar una solución del compuesto de fórmula (IX) significa disolver el compuesto de fórmula (IX), estando en forma sólida, en una mezcla de un alcohol C_1-C_3 y agua o, como alternativa, disolver (IX) en un alcohol C_1-C_3 y luego añadir agua.

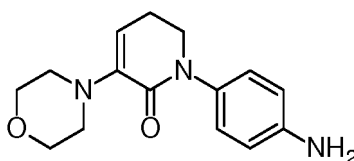
- 10 Como alternativa, la preparación de una solución del compuesto de fórmula (IX) también se puede lograr al convertir, en una mezcla de alcohol C_1-C_3 y agua, otro compuesto (es decir, un precursor) en el compuesto de fórmula (IX).

Como alternativa, la preparación de una solución del compuesto de fórmula (IX) también se puede lograr al convertir, en un alcohol C_1-C_3 , otro compuesto (es decir, un precursor) en el compuesto de fórmula (IX) y luego añadir agua.

15

Como alternativa, la preparación de una solución del compuesto de fórmula (IX) también se puede lograr al convertir, en otro disolvente, otro compuesto (es decir, un precursor) en el compuesto de fórmula (IX) y luego cambiar el disolvente con una mezcla de alcohol C_1-C_3 y agua, o, con un alcohol C_1-C_3 y luego añadir agua.

- 20 De acuerdo con una realización preferida, otro compuesto (es decir, un precursor) puede ser, por ejemplo, el compuesto de fórmula (X):



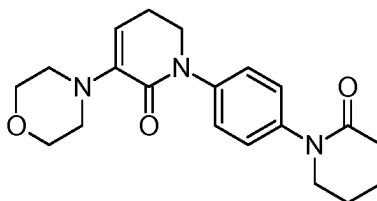
(X)

- 25 De acuerdo con una realización preferida, la conversión del compuesto de fórmula (X) en el compuesto de fórmula (IX) se lleva a cabo mediante la reacción con cloruro de clorovalerilo.

De acuerdo con una realización preferida, en la mezcla de alcohol C_1-C_3 y agua, el alcohol C_1-C_3 es etanol.

- 30 De acuerdo con una realización preferida, el cambio del disolvente se realiza con un alcohol C_1-C_3 y luego se añade agua. Más preferentemente, el cambio del disolvente se realiza con etanol y luego se añade agua.

La solución de 3-morfolin-1-(4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil)-5,6-dihidropiridin-2(1H)-ona de fórmula (IX):



(IX)

35

en una mezcla de un alcohol C_1-C_3 y agua, preparada en la etapa a) del procedimiento de la presente invención es una solución opalescente o una microsuspensión o una suspensión de una pequeña cantidad de material sólido, normalmente, dicha cantidad de material insoluble es inferior al 5 % en peso del peso del compuesto de fórmula (IX).

- 40 De hecho, en dicha solución, las impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII) permanecen en forma de sólidos insolubles, demostrando así un aspecto opalescente a la solución del compuesto (IX) o una microsuspensión o una suspensión de poca cantidad de material sólido, constituido por impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII).

El compuesto de fórmula (IX), en cambio, se solubiliza completamente en la solución de un alcohol C₁-C₃ y agua.

En la mezcla de un alcohol C₁-C₃ y agua, un alcohol C₁-C₃ es un disolvente monoalcohólico elegido entre metanol, 5 etanol y *n*-propanol, o isopropanol.

Volúmenes significa volumen de disolvente por unidad de producto, por lo tanto, por ejemplo, 1 volumen es 1 litro por 1 kilo, o 1 ml por 1 gramo, o 1 microlitro por 1 miligramo. Por lo tanto, 10 volúmenes significa, por ejemplo, 10 litros por 1 kilogramo de sustancia, en este caso, el compuesto de fórmula (IX).

10 De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de 5 a 20 volúmenes en comparación con el compuesto de fórmula (IX).

De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad 15 de alcohol C₁-C₃ es de 10 a 15 volúmenes en comparación con el compuesto de fórmula (IX), de nuevo, más preferentemente, el volumen es de aproximadamente 13 volúmenes.

De acuerdo con el procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad de agua es de 1 a 15 volúmenes en comparación con el compuesto de fórmula (IX).

20 De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad de agua es de 7 a 13 volúmenes en comparación con el compuesto de fórmula (IX), más preferentemente, es de aproximadamente 10 volúmenes.

25 De acuerdo con el procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de 5 a 20 volúmenes, y la cantidad de agua es de 1 a 15 volúmenes, ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX).

De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de 10 a 15 volúmenes, y la cantidad de agua es de 7 a 13 volúmenes, ambos en comparación 30 con el compuesto de fórmula (IX), de nuevo, más preferentemente, la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de aproximadamente 13 volúmenes, y la cantidad de agua es de aproximadamente 10 volúmenes, ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX).

En particular, en la etapa a), la proporción en volumen entre la cantidad de agua y la cantidad de alcohol C₁-C₃ en la 35 mezcla está comprendida en un intervalo entre el 2,4 % y 80 % (% en v/v) de agua en dicha mezcla de agua y alcohol C₁-C₃, preferentemente, en un intervalo entre el 6,25 % y el 60 % (% en v/v) de agua en la mezcla de agua y alcohol C₁-C₃ mencionada anteriormente, y más preferentemente en un intervalo entre el 35 % y el 50 % (% en v/v) de agua en la mezcla anteriormente mencionada de agua y alcohol C₁-C₃.

40 De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), el alcohol C₁-C₃ es etanol.

De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), la cantidad de etanol es de 10 a 15 volúmenes, y la cantidad de agua es de 7 a 13 volúmenes, ambos en comparación 45 con el compuesto de fórmula (IX), de nuevo, más preferentemente, la cantidad de etanol es de aproximadamente 13 volúmenes, y la cantidad de agua es de aproximadamente 10 volúmenes, ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX).

La etapa a) del procedimiento de la presente invención se puede llevar a cabo a una temperatura comprendida entre 50 20 °C y 120 °C.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 30 °C y 50 °C.

55 De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 40 °C y 45 °C.

De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento de la presente invención, la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 30 °C y 50 °C, y la cantidad de etanol es de 10 a 15 volúmenes y la cantidad 60 de agua es de 7 a 13 volúmenes, ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX).

Más preferentemente, la etapa a) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 40 °C y 45 °C, y la cantidad de etanol es de aproximadamente 13 volúmenes y la cantidad de agua es de aproximadamente 10 volúmenes, 65 ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX).

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa a), se añade además un coadyuvante de filtración y/o carbón activado.

Tras preparar la solución de la etapa a), en la etapa b), dicha solución se filtra para eliminar las impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII).

La solución preparada en la etapa a) se puede filtrar sobre papel de filtro, o un panel de papel de filtro o sobre un panel de dicalita.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa b) se lleva a cabo por medio de un panel de dicalita.

La etapa b) del procedimiento de la presente invención se puede llevar a cabo a una temperatura comprendida entre 20 °C y 120 °C.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, la etapa b) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 30 °C y 50 °C.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, la etapa b) se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre 40 °C y 45 °C.

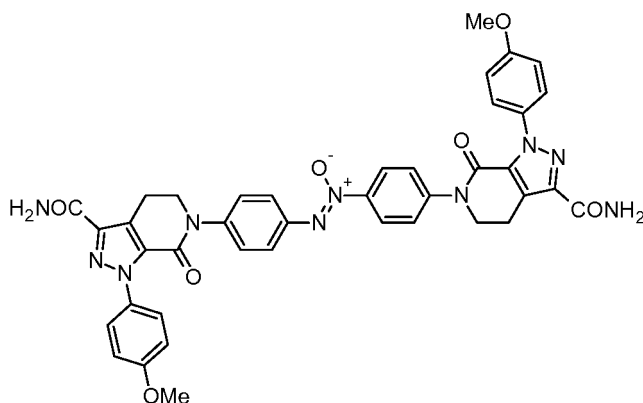
De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, en la etapa b), el filtro se lava además con el disolvente de alcohol C₁-C₃ previamente calentado a la misma temperatura de la filtración ya llevada a cabo.

Las impurezas insolubles de fórmula (VI) y (VII) permanecen en forma de material sólido en el filtro y, en caso de que, en la etapa a), se añada además un adyuvante de filtración y/o carbón activado o, en la etapa b), la filtración se realice en un panel de dicalita, están comprendidos en la torta del filtro.

En la etapa c), se obtiene, en el filtrado, una solución que comprende el compuesto purificado de fórmula (IX).

El compuesto de fórmula (IX) obtenido en la etapa c) se convierte, en la etapa d), en Apixaban de fórmula (I) de acuerdo con los métodos conocidos de la técnica anterior tales como los desvelados en *Synthetic Communications*, 43; 72-79, 2013 o, preferentemente, el método desvelado en el documento WO2007/001385.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el Apixaban comprende menos del 0,10 % de área de HPLC de la siguiente impureza dimérica de Apixaban: óxido de (Z)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-6(7H)-il)fenil)diazeno, que tiene la siguiente fórmula (III):



(III),

en el que, en la etapa b), se elimina la impureza dimérica de fórmula (VII).

La impureza dimérica de fórmula (III) y sus precursores tienen una estructura particular, ya que soportan cargas electrónicas que los hacen más polares, por lo tanto, son menos solubles en un disolvente orgánico y, al mismo tiempo, se eliminan más fácilmente en la etapa b) de la presente invención.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el Apixaban comprende menos del 0,01 % de área de HPLC de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III).

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el Apixaban contiene del 0,00 % al 0,02 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III), según se determina por HPLC A/A%, y dicho procedimiento comprende la conversión del compuesto de fórmula (IX) en Apixaban, y en el que dicho compuesto de fórmula (IX) comprende una cantidad de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) comprendida entre el 0,1 % y el 2 %, según se determina por HPLC A/A%.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el Apixaban contiene del 0,02 % al 0,10 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III), según se determina por HPLC A/A%, y dicho procedimiento comprende la conversión del compuesto de fórmula (IX) en Apixaban, y en el que dicho compuesto de fórmula (IX) comprende una cantidad de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) comprendida entre el 2 % y el 5 %, según se determina por HPLC A/A%.

Específicamente, a partir del compuesto de fórmula (IX), que comprende una cantidad del 2 % y 5 % de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y/o fórmula (VII), siguiendo el procedimiento de la invención que comprende la etapa a), b), c) y d), como se ha descrito anteriormente, se obtiene Apixaban que contiene del 0,02 % al 0,10 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III).

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el Apixaban obtenido en la etapa d) tiene forma N-1.

La forma N-1 de Apixaban significa Apixaban que tiene la forma polimórfica, denominada N-1, una forma sólida que está bien caracterizada y producida, y, en los ejemplos del documento EP3009435, dicha forma se define como la forma termodinámicamente estable de Apixaban. Además, la forma N-1 de Apixaban se caracterizó, en particular, en la sección experimental, ejemplo 3, de dicha solicitud, mediante varias técnicas, tales como FT-IR, DSC, TGA y X-RPD, cuyos datos se incluyen en el presente documento por referencia.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el procedimiento comprende las siguientes etapas a), b), c), obteniéndose el compuesto purificado (IX).

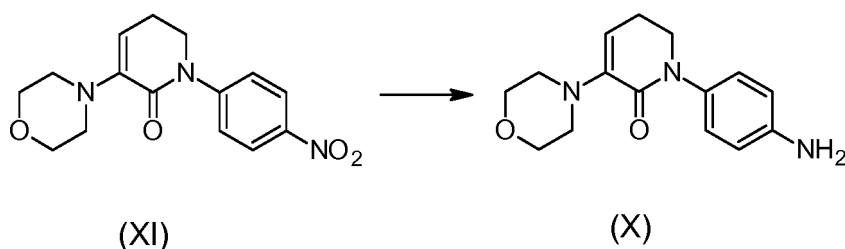
En particular, se prefiere el procedimiento de la invención que comprende la etapa a), b), c) y d), como ya se ha descrito, ya que permite la reducción más temprana de las impurezas diméricas, es decir, la cantidad de las impurezas diméricas disminuye en las primeras etapas del procedimiento de preparación de Apixaban, evitando así el arrastre de las impurezas diméricas a través de la síntesis y evitando la pérdida de productos intermedios más avanzados que tienen un mayor valor añadido.

Por otra parte, se prefiere dicho procedimiento que comprende las etapas a), b), c) y d), ya que es más eficaz para reducir las impurezas diméricas, específicamente, la impureza dimérica de fórmula (VI) y la impureza dimérica de fórmula (VII), es decir, proporciona la purificación de las impurezas diméricas en mayor medida.

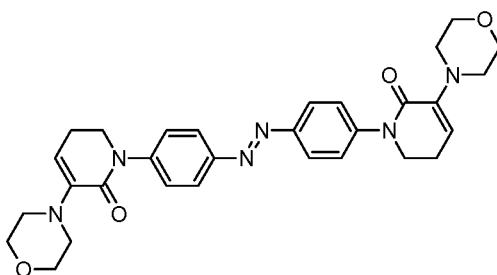
Durante el desarrollo del procedimiento de la presente invención, se ha encontrado la presencia de algunas impurezas, muy difíciles de eliminar durante la síntesis y que, al final, contaminan el producto farmacéutico final Apixaban. En particular, ya en las primeras etapas de la síntesis, se ha observado la presencia de impurezas que contaminaron los productos intermedios sintéticos precursores de fórmula (IX), las impurezas con altos tiempos de retención relativos en los cromatogramas de HPLC.

Por lo tanto, otro aspecto sorprendente de la invención es el descubrimiento de la presencia de dichas impurezas en Apixaban y sus precursores, y también fue sorprendente la naturaleza, la estructura y el origen de dichas impurezas.

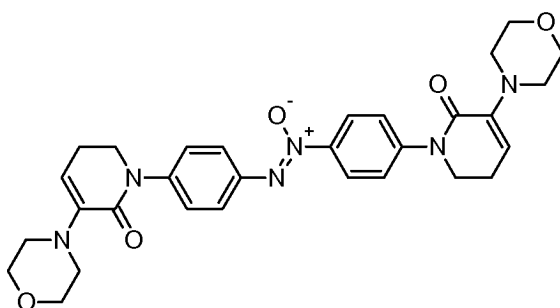
De hecho, se ha encontrado que, sorprendentemente, durante la conversión del compuesto de fórmula (XI) en el compuesto de fórmula (X):



Llevada a cabo por medio de sulfuro de sodio, las impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII) se forman como subproducto de dicha reacción.



(VI),



(VII).

5 Por otra parte, se ha encontrado que, sorprendentemente, dichas impurezas prosiguen, a través de la síntesis de Apixaban, experimentando las mismas transformaciones químicas, generando así las impurezas diméricas de fórmula (II) y (III) del compuesto Apixaban.

La figura 1 da una imagen del origen y del arrastre de las impurezas a través de la síntesis de Apixaban.

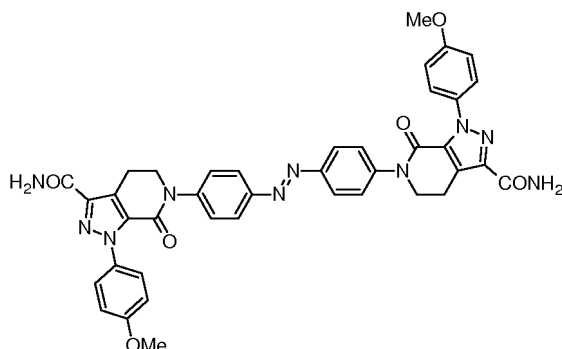
10

Además, considerando dicho arrastre de las impurezas, el procedimiento que comprende las etapas a), b), c) y d), como se ha descrito anteriormente, tiene la ventaja de la reducción de las impurezas diméricas, en las primeras etapas de la síntesis, es decir, reduce la cantidad de impureza dimérica de fórmula (VI) y/o la impureza dimérica de fórmula (VII) en el compuesto de fórmula (IX), el compuesto de fórmula (IX), proporcionando así la reducción de las

15

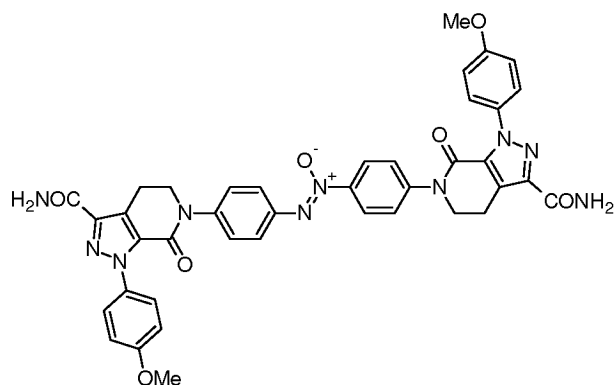
Un aspecto de la invención es, por lo tanto, las impurezas diméricas de Apixaban o de uno de sus precursores seleccionadas del grupo de:

- 20 A) (*E*)-6,6'-(4,4'-(diazén-1,2-diil)bis(4,1-fenilén))bis(1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1*H*-pirazolo[3,4-*c*]piridin-3-carboxamida) que tiene la siguiente fórmula (II):



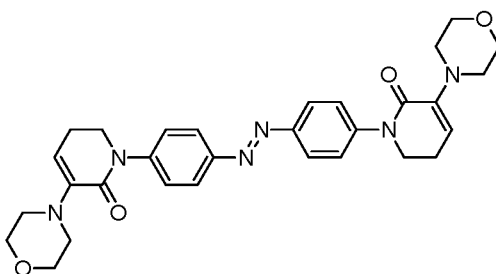
(II),

- 25 B) óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1*H*-pirazolo[3,4-*c*]piridin-6(7*H*)-il)fenil)diazeno que tiene la siguiente fórmula (III):



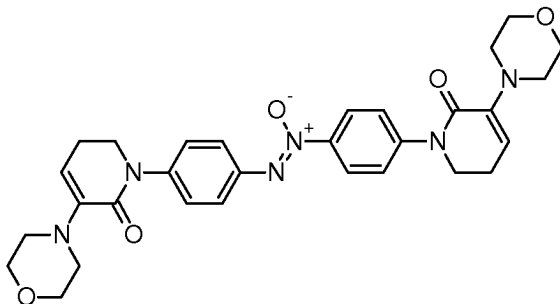
(III),

C) (*E*)-1,1'-(4,4'-(diazen-1,2-diil)bis(4,1-fenileno))bis(3-morfolin-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona) que tiene la siguiente fórmula (VI):



(VI),

D) óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-morfolin-2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)fenil)diazeno que tiene la siguiente fórmula (VII):



(VII).

Las impurezas diméricas de Apixaban o de uno de sus precursores mencionadas anteriormente son polvos amarillos.

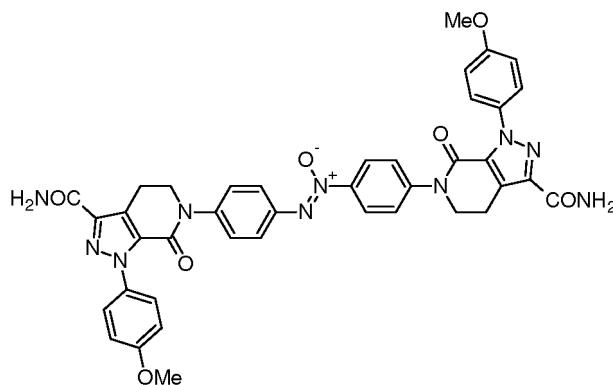
En particular, en las Figuras 3 y 4, se describen los espectros UV-VIS de las impurezas diméricas de Apixaban adquiridos por el detector de HPLC/DAD.

Las impurezas diméricas son, por lo tanto, responsables del color del Apixaban. En particular, dichas impurezas confieren al Apixaban un color amarillo. Por lo tanto, es deseable que el Apixaban no contenga dichas impurezas para mostrar un color blanco.

Como otro aspecto, se ha encontrado que dichas impurezas diméricas del Apixaban y sus precursores, y en particular, las impurezas de Apixaban de fórmula (II) y (III) son particularmente insolubles en cualquier disolvente.

El óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1*H*-pirazolo[3,4-*c*]piridin-6(7*H*)-

il)fenil)diazeno que tiene la siguiente fórmula (III):



(III),

5 es una impureza dimérica preferida de Apixaban de fórmula (I). Dicha impureza es un polvo amarillo.

En particular, dicha impureza dimérica de fórmula (III) tiene un espectro UV que muestra una mayor absorción a 360-370 nm, como se muestra en la Figura 4. Por lo tanto, dicha impureza dimérica es una sustancia que muestra un color amarillo brillante.

10

El producto de una reacción química rara vez es un compuesto único que tenga una pureza suficiente para cumplir con las normas de regulación. Los subproductos debidos a reacciones secundarias de los reactivos usados en la reacción también pueden estar presentes en el producto aislado. En algunas etapas del procedimiento de producción de un principio activo, tal como Apixaban, se analiza la pureza, en general, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), CL/EM, cromatografía de gases (GC) o cromatografía de capa fina (TLC), para definir si es adecuado para el tratamiento posterior y, por último, para su uso en el producto farmacéutico.

15

En general, las impurezas se identifican espectroscópicamente, por lo que se asocia una posición cromatográfica de máximo, tal como la de un cromatograma o una mancha en un panel de TLC a las mismas.

20

Una vez que se ha asociado una posición de máximo a una determinada impureza, la impureza se puede identificar en una muestra para la posición relativa de la misma en el cromatograma, donde la posición en el cromatograma se mide en minutos entre la inyección de la muestra en una columna y la elución de la impureza a través del detector. La posición en el cromatograma se conoce como el tiempo de retención, y la proporción entre los tiempos de retención se conoce como el tiempo de retención relativo.

25

Un experto en la materia farmacéutica sabe que se puede usar un compuesto relativamente puro como patrón de referencia. Un patrón de referencia es similar a un marcador de referencia, excepto por el hecho de que el primero puede usarse no solo para detectar las impurezas, sino también para cuantificar la cantidad de impurezas presentes en la muestra de principio activo.

30

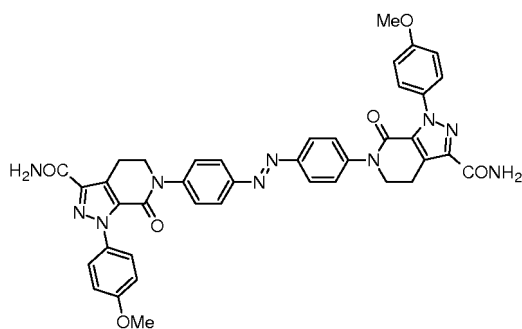
Como conocen los expertos en la materia, el tratamiento de las impurezas del procedimiento se mejora considerablemente cuando se conocen las estructuras químicas de las mismas, las vías sintéticas y la identificación de los parámetros que afectan a la cantidad de impurezas en el producto final, por ejemplo, por medio de DOE.

35

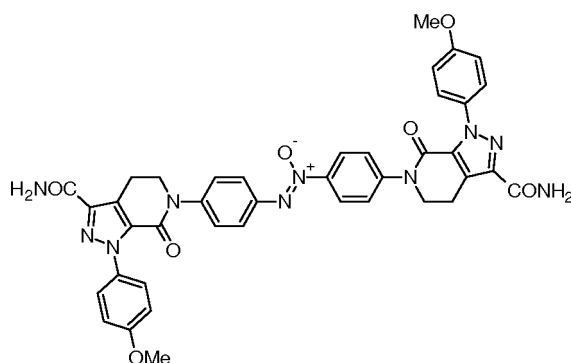
Las impurezas de Apixaban, incluyendo los productos intermedios que no reaccionan por completo, las impurezas de las materias primas, los subproductos de la reacción, los productos de degradación, así como otros productos, pueden afectar a la calidad y a la eficiencia de la forma farmacéutica que contiene Apixaban. Por lo tanto, surge la necesidad de un método para definir el nivel de impurezas, con un enfoque especial para las impurezas diméricas de Apixaban en muestras de Apixaban, en especial, para producciones a granel del fármaco Apixaban.

40

Por tanto, se ha encontrado un método para la determinación en Apixaban de la impureza dimérica de Apixaban que tiene la siguiente fórmula (II) y/o fórmula (III):



(II)



(III)

5 De hecho, las impurezas diméricas de fórmula (II) y/o de fórmula (III) se pueden usar de acuerdo con los siguientes métodos analíticos para la identificación y/o cuantificación de dichas impurezas diméricas de fórmula (II) y de fórmula (III) en Apixaban.

10 Un método para detectar o identificar la impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) en Apixaban comprende las siguientes etapas:

- a) añadir una cantidad conocida de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) a la muestra de Apixaban;
- b) llevar a cabo el análisis por HPLC o LC/MS de la muestra de Apixaban de la etapa a);
- 15 c) detectar el máximo de HPLC o LC/MS de la impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III);

o

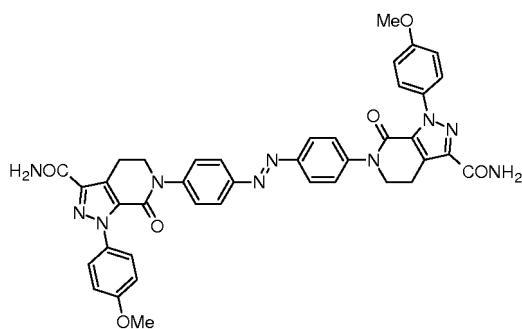
- a1) analizar la impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) mediante HPLC o LC/MS;
- 20 b1) analizar la muestra de Apixaban mediante HPLC o LC/MS,
- c1) detectar el máximo de HPLC o de LC/MS de la impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) comparando los tiempos de retención o los tiempos de retención relativos;

o;

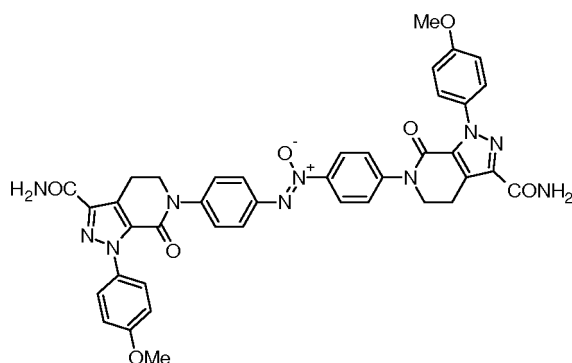
25 por medio del análisis de LC/MS que detecta el máximo que tiene $[M+1]^+$ igual a 751 o 767 uma.

Además de la identificación del máximo de la impureza del Apixaban, de acuerdo con otro aspecto de la invención, se ha encontrado un método para la cuantificación en Apixaban de las impurezas diméricas de Apixaban que tienen la siguiente fórmula (II) y/o fórmula (III):

30



(II)

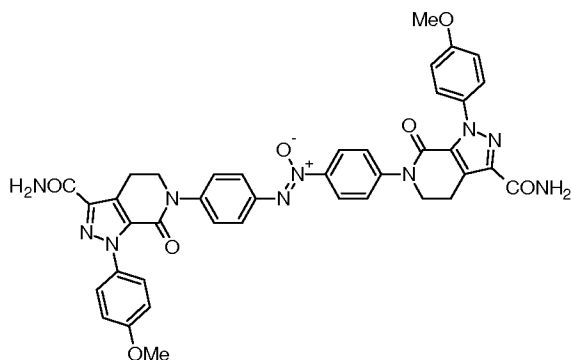


(III),

5 que comprende las siguientes etapas:

- a) medir las áreas de los máximos correspondientes a cada impureza dimérica de fórmula (II) y/o fórmula (III) en la muestra de Apixaban que tiene una cantidad desconocida de estos compuestos por medio de HPLC o LC/MS;
- b) medir las áreas de los máximos correspondientes a un "patrón de referencia" que contiene una cantidad conocida de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) por medio de HPLC o LC/MS;
- c) definir la cantidad de impurezas diméricas del Apixaban comparando las áreas medidas en la etapa a) con las medidas en la etapa b).

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el método para la determinación en Apixaban de la impureza dimérica de Apixaban tiene la siguiente fórmula (III):

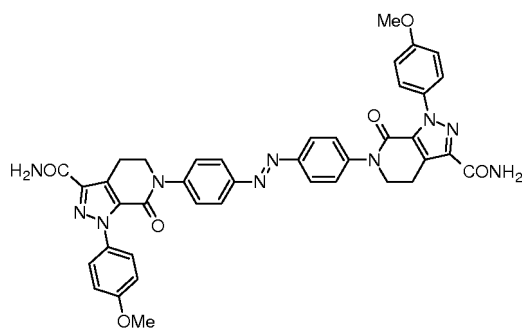


(III),

y el método para la cuantificación en Apixaban de la impureza dimérica de fórmula (III) comprende cada una de las etapas descritas previamente, respectivamente de a) a c1) para el método de determinación en Apixaban de las impurezas diméricas, y de a) a c) para el método de cuantificación en Apixaban de la impureza dimérica.

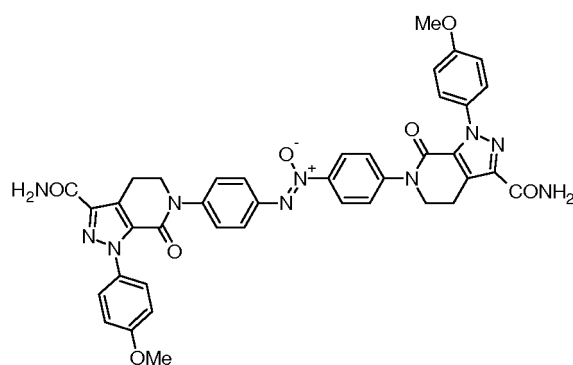
Otro aspecto de la invención es que las siguientes impurezas diméricas de Apixaban:

a) impureza dimérica de fórmula (II):



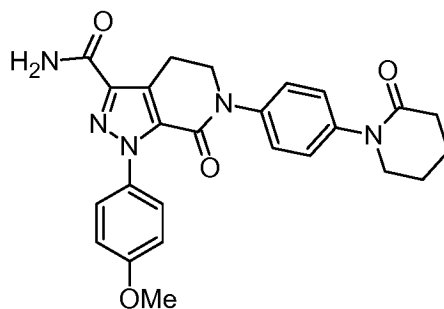
(II),

b) impureza dimérica de fórmula (III):



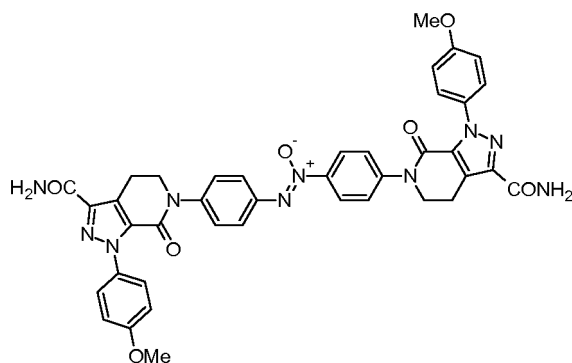
(III),

se pueden usar como un "marcador de referencia" o "patrón de referencia" para la identificación y/o la cuantificación de dicha impureza dimérica en Apixaban de fórmula (I):



(I).

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, la impureza dimérica de Apixaban es la impureza dimérica de fórmula (III):



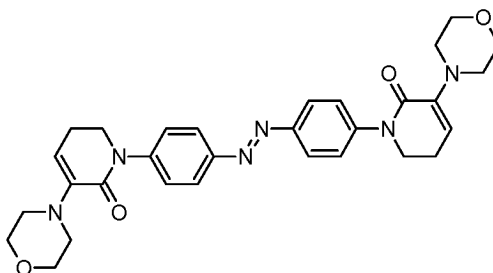
(III),

que se puede usar como un "marcador de referencia" o "patrón de referencia" para la identificación y/o la cuantificación de dicha impureza dimérica en Apixaban de fórmula (I).

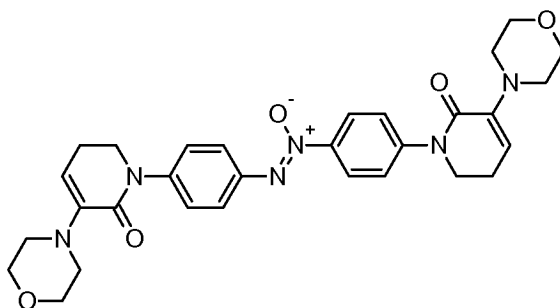
5

También se pueden usar las siguientes impurezas diméricas como un "marcador de referencia" o "patrón de referencia" para la identificación y/o la cuantificación de dichas impurezas diméricas en los siguientes compuestos relativos:

10 c) Impureza dimérica de fórmula (VI) y/o impureza dimérica de fórmula (VII):



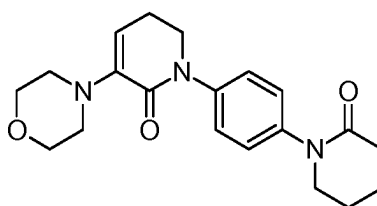
(VI)



(VII),

15

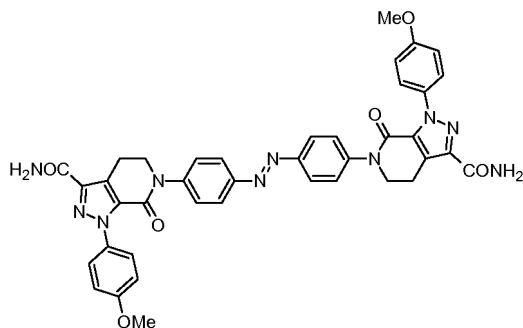
en el compuesto de la siguiente fórmula (X):



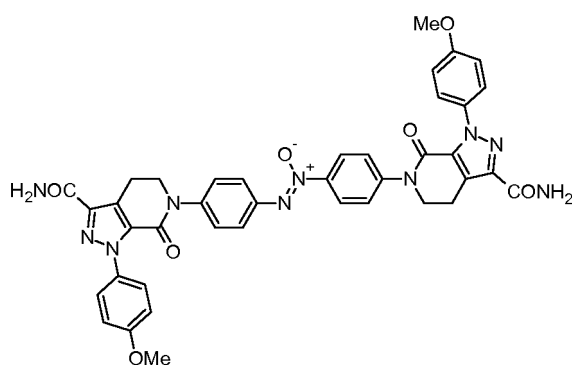
(X).

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento de la presente invención, el método para la cuantificación en Apixaban de cantidades comprendidas entre 1 y 100 partes por millón de la impureza dimérica de Apixaban que tiene la siguiente fórmula (II) y/o que tiene la fórmula (III):

5



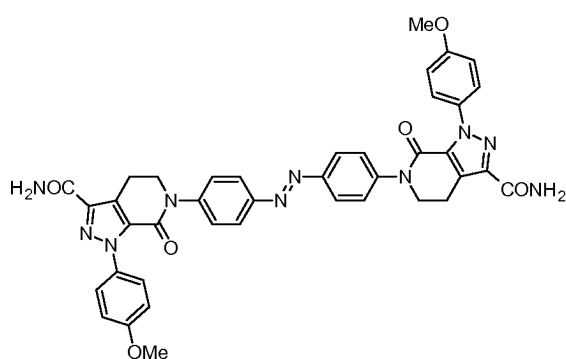
(II)



(III),

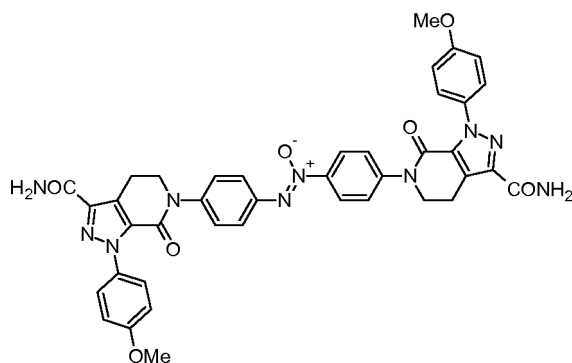
10 se lleva a cabo mediante LC/MS.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se pueden preparar las impurezas diméricas de Apixaban de fórmula (II) y/o fórmula (III): de acuerdo con un procedimiento que comprende las siguientes etapas:



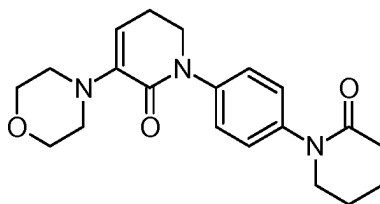
(II)

15



(III)

a) preparar una solución de 3-morfolin-1-(4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil)-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona de fórmula (IX):

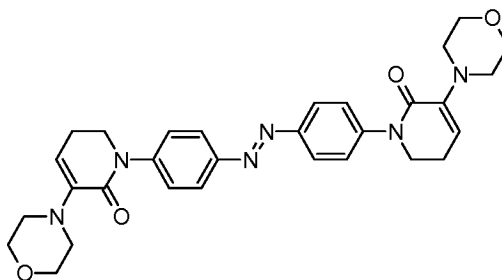


(IX)

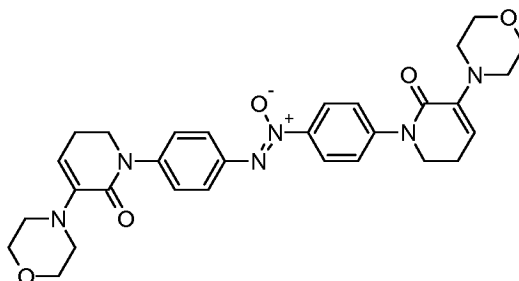
en una mezcla de alcohol C₁-C₃ y agua, en la que la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de 5 a 20 volúmenes, y la cantidad de agua es de 1 a 15 volúmenes, ambas comparadas con el compuesto de fórmula (IX);

b) filtrar la solución preparada en el etapa a);

c) recoger el sólido en el filtro que comprende las siguientes impurezas diméricas: una impureza dimérica de fórmula (VI) y/o una impureza dimérica de fórmula (VII):



(VI)



(VII)

d) separar la impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII),

e) convertir la impureza de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) de la etapa d) en impureza dimérica de Apixaban de fórmula (II) y/o (III).

Las etapas de separación d) se pueden llevar a cabo por medio de separaciones cromatográficas tales como, por ejemplo, mediante HPLC preparativa, TLC preparativa o mediante columna cromatográfica clásica. En este último caso, la columna cromatográfica clásica se puede llenar convenientemente con gel de sílice, y los compuestos se separan por elución con una mezcla de heptanos/AcOEt, preferentemente, en gradiente.

Los métodos de la técnica anterior para la preparación de Apixaban, que incluyen la preparación del compuesto de fórmula (X) mediante la reducción con sulfuro de sodio, como los desvelados en *Synthetic Communications*, 43; 72-79, 2013, proporcionan Apixaban que contiene impurezas de fórmula (II) y (III) en cantidades comprendidas entre el 0,28 % y el 1,0 %.

Otro aspecto de la presente invención es el propio Apixaban, ya que el procedimiento de la presente invención permite la preparación de Apixaban que contiene del 0,00 % al 0,10 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) según se determina por HPLC A/A%; dicha cantidad se limita a la cantidad de partida de la primera impureza de fórmula (VI) y/o (VII), que se genera durante la preparación del compuesto de fórmula (X) y se lleva al compuesto de fórmula (IX), sin cambiar las estructuras químicas ni las cantidades relativas.

En particular, partiendo de una cantidad comprendida entre el 5 % y el 2 % de la impureza dimérica de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) presentes en el compuesto de fórmula (IX), siguiendo el procedimiento de la presente invención, en particular, las etapas de a) a d), se permite la reducción o eliminación de dichas impurezas diméricas a la cantidad comprendida entre el 0,10 % y 0,02 % de las impurezas de fórmula (II) y/o (III) en Apixaban, según se determina por HPLC A/A%.

En cambio, partiendo de una cantidad comprendida entre el 2 % y el 0 % de la impureza dimérica de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) presentes en el compuesto de fórmula (IX), siguiendo el procedimiento de la presente invención, en particular, las etapas a) a d), se permite la reducción o eliminación de dichas impurezas diméricas a la cantidad comprendida entre el 0,02 % y 0,00 % de las impurezas de fórmula (II) y/o (III) en Apixaban, según se determina por HPLC A/A% (véase la Fig. 2).

Por lo tanto, otro aspecto de la presente invención es el producto final Apixaban que tiene una cantidad muy reducida de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) según se determina por HPLC A/A%.

En particular, por lo tanto, otro aspecto de la invención es el Apixaban que contiene del 0,02 % al 0,10 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III), determinado por el % de A/A de HPLC, Apixaban como el obtenido mediante el procedimiento de acuerdo con la presente invención de las etapas de a) a d), que comprende la conversión en Apixaban del compuesto de fórmula (IX) que comprende, una cantidad comprendida entre el 5 % y 2 %, según se determina por HPLC A/A%, de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y/o fórmula (VII).

La Fig. 1 muestra un esquema general de la síntesis de Apixaban, que incluye el arrastre de las impurezas a través de dicha síntesis en términos de estructuras químicas y cantidades de dichas impurezas, dichas cantidades de acuerdo con los métodos de la técnica anterior.

En comparación con la Fig. 2 que muestra un esquema general de síntesis de Apixaban, que incluye el procedimiento de acuerdo con la presente invención (etapas de a) a d), está claro el efecto traído por la presente invención, ya que la cantidad de impurezas del producto intermedio (IX) y luego del Apixaban final es mucho menor que en los procedimientos anteriores (véase la Fig. 1).

Como aspecto adicional de la presente invención, se debe considerar que las impurezas diméricas de Apixaban comprenden un grupo azo o azoxi funcional, siendo así compuestos azo o azoxi, por lo que existe una alta probabilidad de importante riesgo carcinogénico, de acuerdo con las disposiciones de "Guideline On The Limits Of Genotoxic Impurities" de EMEA, con fecha de 2006, y la guía en línea ICH M7, con fecha de 23 de junio de 2014.

De hecho, los compuestos azoxi son un grupo de compuestos químicos que comparten un grupo funcional común con estructura general $RN=N+(O^-)R$, dicho grupo funcional está presente en algunas de las impurezas diméricas de Apixaban, es decir, la impureza dimérica de fórmula (VII), la impureza dimérica de fórmula (V) y la impureza dimérica de fórmula (III).

Por lo tanto, se ha de elevar la alerta relacionada con la posible genotoxicidad de dichas impurezas diméricas.

PARTE EXPERIMENTAL

Los compuestos se nombran usando las reglas básicas de la nomenclatura IUPAC.

Los espectros de resonancia magnética de protones (RMN) se registraron en los instrumentos Varian a 400 MHz, o en un instrumento Bruker a 300 MHz y 400 MHz. Los cambios químicos se presentan en ppm (δ) usando la línea de disolvente residual como patrón interno. Los patrones de división se designan s, singlete; d, doblete; t, triplete; c,

cuadruplete; m, multiplete; b, ancho. Los espectros de RMN se registraron a una temperatura que varía de 20 °C a 30 °C.

El ultravioleta- visible (UV-Vis) se adquirió mediante un detector de HPLC/DAD.

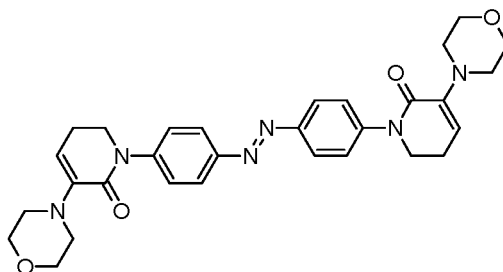
5

La siguiente tabla enumera las abreviaturas usadas:

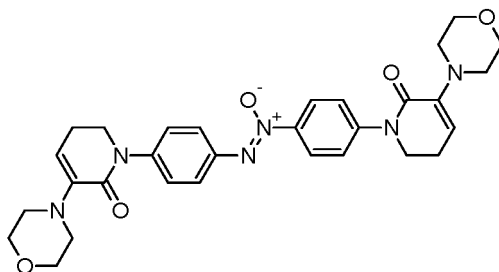
T	Temperatura
Ec.	equivalentes
10 TEA	Trietilamina
THF	Tetrahidrofurano
RMN	Resonancia magnética nuclear
HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
CL-EM	Cromatografía líquida-espectrometría de masas
15 UV-Vis	Ultravioleta-visible
DAD	Detector de matriz de diodos.

Ejemplo1: Preparación del compuesto de fórmula (IX) que comprende las impurezas diméricas relacionadas: (*E*)-1,1'-(4,4'-(diazen-1,2-diil)bis(4,1-fenileno))bis(3-morfolin-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona) de fórmula (VI) y óxido de (*Z*)-

20 1,2-bis(4-(3-morfolin-2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)fenil)diazeno de fórmula (VII):



(VI)

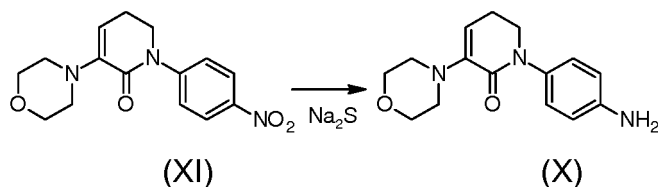


(VII).

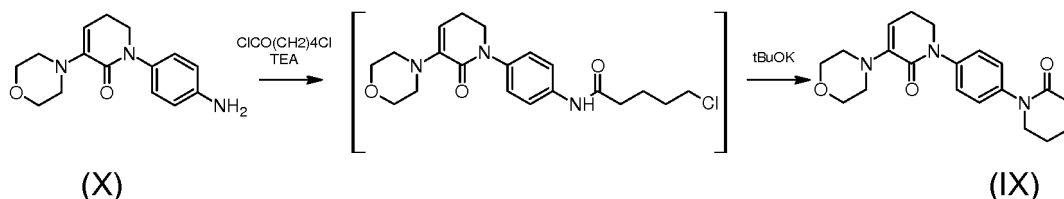
25

Ejemplo comparativo.

Esquema de síntesis:



30



El compuesto de fórmula (X) podría prepararse de acuerdo con el método desvelado en el *Journal Synthetic Communication*, 2013, vol. 43, pág. 72-79, en particular, de acuerdo con el párrafo titulado "1-(4-Aminophenyl)-3-(morpholin-4-yl)-5,6-dihydropyridin-2(1H)-one (13)" en la pág.76, partiendo del compuesto de fórmula (XI).

Por lo tanto, el compuesto de fórmula (X) se preparó de acuerdo con el siguiente método.

Se dosificó una solución de sulfato de sodio no hidratado (197 g, 2,5 eq.) en agua (350 ml) durante 20 minutos a T = 40/45 °C en una mezcla del compuesto de fórmula (XI) (100 g, 1,0 eq.) y metanol (1.000 ml). La mezcla se agitó a T = 40/45 °C durante 2 horas más hasta completar la reacción. La mezcla se destiló luego a presión reducida y T_{máx} = 45 °C hasta que se eliminaron 900 ml de disolvente. La suspensión resultante se enfrió hasta T=20/25 °C, se mantuvo en agitación durante 2 horas a esta temperatura y luego se filtró, lavando la torta húmeda con agua (2 x 100 ml). Tras secar a presión reducida y a T = 65 °C durante 10 horas, se obtuvieron 83 g del compuesto de fórmula (X). (92 % de rendimiento, % de A de HPLC: compuesto de fórmula (X) de 96,09 %).

Dicho compuesto de fórmula (X) obtenido de este modo contenía las siguientes impurezas diméricas:

- 0,48 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VI),
- 1,39 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VII).

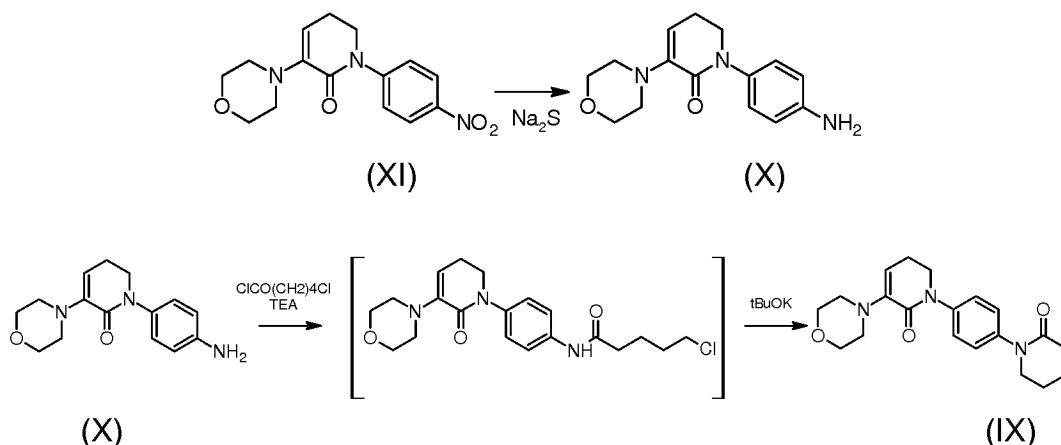
Se cargó un matraz de fondo redondo de 4 bocas con 60 g de dicho compuesto de fórmula (X) (1,0 eq.) preparado como se ha dicho anteriormente y que contiene las impurezas de fórmula (VI) y (VII), luego con 51,1 g de trietilamina (TEA) (2,3 equiv.) y 600 ml de tetrahidrofurano (THF). Se dosificó una solución de 51 g de cloruro de clorovalerilo (1,5 equiv.) en 120 ml de THF en 1-2 horas a T = 0/5 °C. La mezcla se agita a T = 0/5 °C durante 30 minutos más, manteniendo, después, la misma temperatura, se dosifica una solución de 73,9 g de *terc*-butoxido de potasio (3,0 eq.) en 300 ml de THF durante 30-45 minutos. Tras 30 minutos de agitación a T = 0/5 °C, la mezcla se calienta a T = 20/25 °C durante 2 horas más. Una vez que se verifica la finalización de la reacción, se destila el lote a presión reducida y T_{máx} = 35 °C hasta 4 volúmenes residuales (240 ml). La suspensión resultante se diluye con 480 ml de agua y se destila de nuevo en las mismas condiciones hasta 9 volúmenes residuales (900 ml). La mezcla se agita durante al menos 2 horas a T = 20/25 °C, y luego se filtra y se lava la torta húmeda con agua (2 x 60 ml).

Tras secar a presión reducida y T = 65 °C durante al menos 8 horas, se obtienen 64 g del compuesto de fórmula (IX) (rendimiento molar del 82 %). Este sólido contiene las siguientes impurezas diméricas:

- 0,17 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VI),
- 1,9 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VII).

Ejemplo 2: Preparación del siguiente compuesto de fórmula (IX), ilustrativo de la invención.

Esquema de síntesis:



El compuesto de fórmula (X) podría prepararse de acuerdo con el método desvelado en el *Journal Synthetic Communication*, 2013, vol. 43, pág. 72-79, en particular, el párrafo titulado "1-(4-Aminophenyl)-3-(morpholin-4-yl)-5,6-dihydropyridin-2(1H)-one (13)" en la pág.76, partiendo del compuesto de fórmula (XI).

Por lo tanto, el compuesto de fórmula (X) se preparó de acuerdo con el siguiente método.

Se dosificó una solución de sulfato de sodio no hidratado (197 g, 2,5 eq.) en agua (350 ml) durante 45 minutos a T = 40/45 °C en una mezcla de compuesto de fórmula (XI) (100 g, 1,0 eq.) y metanol (1.000 ml). La mezcla se agitó a T = 40/45 °C durante 2 horas más hasta completar la reacción. La mezcla se destiló luego a presión reducida y T_{máx} = 45 °C hasta que se eliminaron 930 ml de disolvente. La suspensión resultante se enfrió hasta T=20/25 °C, se mantuvo en agitación durante 1 hora a esta temperatura y luego se filtró, lavando la torta húmeda con agua (2 x 100 ml). Tras secar a presión reducida y a T = 65 °C durante 10 horas, se obtuvieron 82 g del compuesto de fórmula (X). (91 % de rendimiento, % de A de HPLC: compuesto de fórmula (X) del 96,16 %.

Dicho compuesto de fórmula (X) obtenido de este modo contenía las siguientes impurezas diméricas:

- 0,66 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VI),
- 1,50 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VII).

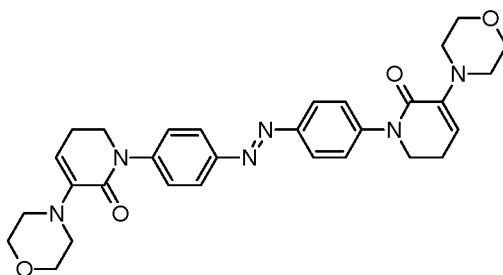
Se cargó un matraz de fondo redondo de 4 bocas con 80 g de dicho compuesto de fórmula (X) (1,0 eq.) preparado como se ha dicho anteriormente y que contiene las impurezas de fórmula (VI) y (VII), luego con 68,3 g de trietilamina (TEA) (2,3 equiv.) y 800 ml de tetrahidrofurano (THF). Se dosificó una solución de 68,3 g de cloruro de clorovalerilo (1,5 equiv.) en 160 ml de THF en 1-2 horas a T = 0/5 °C.

La mezcla se agita a T = 0/5 °C durante 30 minutos más, manteniendo, después, la misma temperatura, se dosifica una solución de 98,1 g de *tert*-butoxido de potasio (3,0 eq.) en 400 ml de THF durante 30-45 minutos. Tras 30 minutos de agitación a T = 0/5 °C, la mezcla se calienta a T = 20/25 °C durante 2 horas más. Una vez que se verifica la finalización de la reacción, se destila el lote a presión reducida y T_{máx} = 35 °C hasta 6 volúmenes residuales (480 ml) y luego se elimina con 560 ml de etanol en las mismas condiciones, nuevamente hasta 6 volúmenes residuales (480 ml). La mezcla resultante se diluye con 720 ml de etanol y 880 ml de agua, luego se calienta la solución opalescente obtenida hasta T = 40/45 °C y se filtra sobre dicalita, se lava con 80 ml de etanol precalentado (esta torta sólida es el material de partida del ejemplo 3). La solución filtrada se destila a presión reducida a 6 volúmenes residuales (480 ml). La mezcla se enfría hasta T = 20/25 °C y se agita a esta temperatura durante al menos 1 hora. La suspensión finalmente se filtra y se lava la torta húmeda con agua (2 x 80 ml). Tras secar a presión reducida y T = 65 °C durante al menos 8 horas, se obtienen 90,3 g del compuesto de fórmula (IX). (rendimiento molar del 86,8 %).

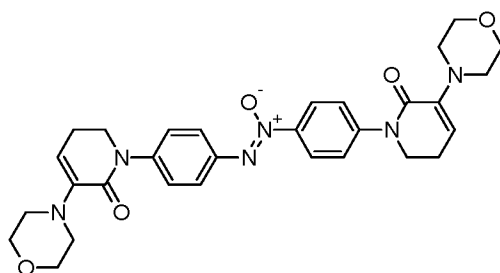
Este sólido contenía las siguientes impurezas diméricas:

- 0,04 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VI),
- 0,09 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VII).

Ejemplo 3: Preparación de las siguientes impurezas diméricas de fórmula (VI) y de fórmula (VII)



(VI)



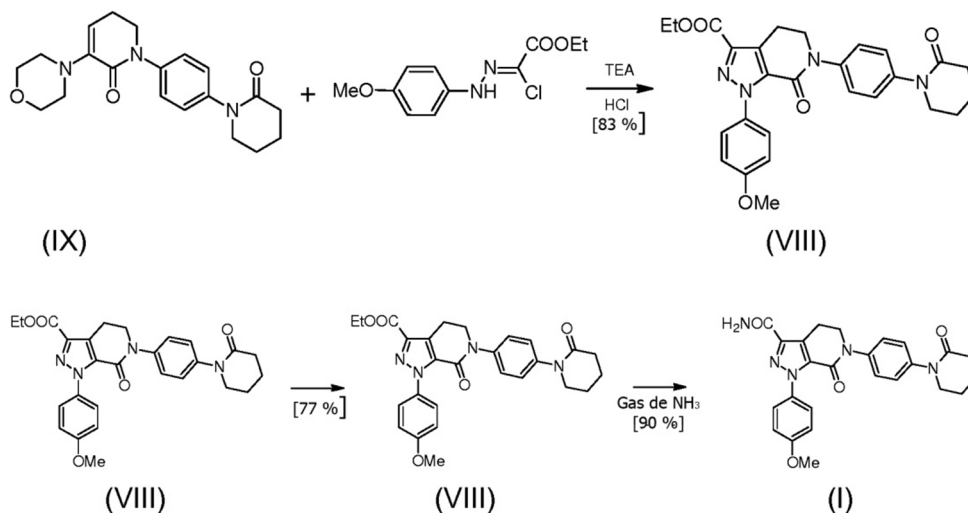
(VII).

- 5 Se carga la sustancia insoluble en solución etanólica recogida (la torta sólida del ejemplo 2 que comprende dicalita y las impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII)) en un matraz de fondo redondo dotado de un aparato Dean-Stark y se suspende en 600 ml de tolueno. La mezcla se calienta a reflujo, eliminando el agua hasta alcanzar el punto de ebullición del disolvente. La mezcla se enfría hasta $T = 80/90\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se filtra. El sólido recogido, que incluye las impurezas diméricas de fórmula (VI) y fórmula (VII) y dicalita, se carga en un matraz de fondo redondo, y se añaden
- 10 500 ml de diclorometano. La mezcla se calienta a reflujo, y se filtra y se lava con diclorometano (4 x 100 ml). La solución se concentra luego hasta un residuo a presión reducida, y el residuo se recoge con acetona, obteniéndose una suspensión agitable. La suspensión se filtra, proporcionando 5,8 g de un sólido amarillo que, tras el análisis de HPLC (Figura 2), dio lugar a una mezcla de las dos siguientes especies:
- 15 - 16,9 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VI),
 - 80,5 % (% de A/A de HPLC) de impureza dimérica de fórmula (VII).

La mezcla se analizó también mediante RMN; ya que las dos impurezas difieren solo en el estado de oxidación del grupo diazo, sus cambios químicos de ^1H se superponen, y el espectro resultante aparece como el de una sola especie. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3 , ppm), d: 8,32 (dd, $J_1 = 8\text{ Hz}$, $J_2 = 24\text{ Hz}$, 4H), 7,53 (m, 4H), 5,76 (s a, 2H), 3,88 (m, 12H), 2,96 (m, 8H), 2,57 (m, 4H). Los carbonos aromáticos en los espectros de RMN de ^{13}C y ^{135}RMN de DEPT muestran una desimetrización parcial, mientras que los grupos alifáticos y carbonilo muestran los mismos cambios químicos para las dos especies (100 MHz, CDCl_3 , ppm), d: 161,4 (C), 145,7(C), 145,1(C), 143,8(C), 143,7(C), 143,6(C), 141,3(C), 126,3(CH), 125,1(CH), 124,6(CH), 124,5(CH), 123,3(C), 122,8(CH), 115,1(CH), 114,7(CH), 66,8(CH_2), 50,6(CH_2), 48,5(CH_2), 23,4(CH_2). HPLC-MS: 11,3 min ESI-MS $m/z = 559$ (Impureza dimérica de fórmula (VII) $\text{PM} = 558\text{ }[\text{M}+\text{H}]^+$), 11,9 min ESI-MS $m/z = 543$ (Impureza dimérica de fórmula (VI) $\text{PM} = 542\text{ }[\text{M}+\text{H}]^+$).

30 Ejemplo 4: Preparación del compuesto de fórmula (I), partiendo del compuesto de fórmula (IX) del ejemplo 2. Efecto de la invención en Apixaban.

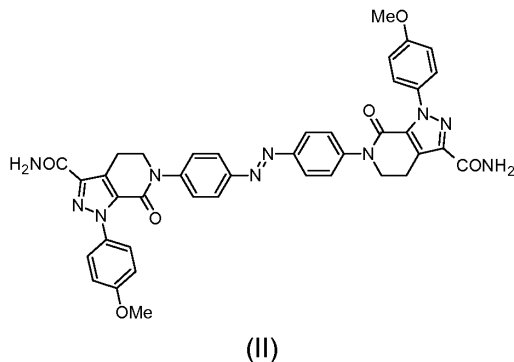
Esquema de síntesis:



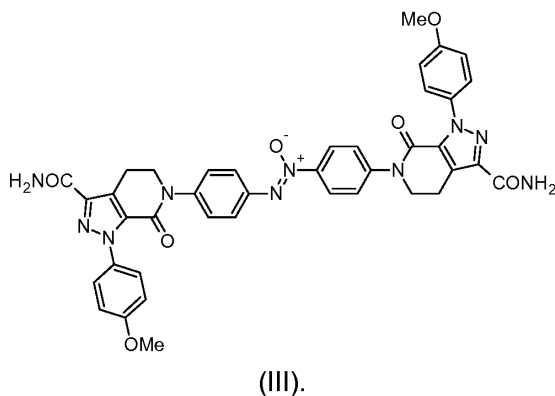
El compuesto de fórmula (VIII) se preparó de acuerdo con el método desvelado en el *Journal Synthetic Communication*, 2013, vol. 43, pág. 72-79, en particular, el párrafo titulado "Etil 1-(4-metoxifenil)-7-oxo-6-(4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-carboxilato (2)" en la página 78, partiendo del compuesto de fórmula (IX), preparado de acuerdo con el ejemplo 2.

Posteriormente, Realizando la preparación de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 11 de la solicitud EP EP14189007.9 o en el Ejemplo 6 del documento WO2007/001385, se obtuvo el compuesto de fórmula (I), Apixaban, que comprende las siguientes impurezas diméricas de Apixaban:

- 0,00 % de (*E*)-6,6'-(4,4'-(diazen-1,2-diil)bis(4,1-fenilen))bis(1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-carboxamida), que tiene la siguiente estructura (II):



- 0,01 % de óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-6(7H)-il)fenil)diazeno que tiene la siguiente estructura (III):



Ejemplo 8:

Método analítico para determinar la cantidad de:

- 5 - Impureza dimérica de fórmula (VI) y de fórmula (VII) en compuestos de fórmula (IX) y (X),
 - Impureza dimérica de fórmula (IV) y de fórmula (V) en compuesto de fórmula (VIII)
 - Impureza dimérica de fórmula (II) y de fórmula (III) en Apixaban de fórmula (I)

Dichos compuestos se pudieron identificar y controlar a través del siguiente método de HPLC:

10

Condiciones cromatográficas:

Columna: C18 XBridge de 150 x 4,6 mm y 3,5 µm
 Temp. Columna: 40 °C

Sistema cuaternario

Fase móvil A: H₂O MilliQ
 Fase móvil B: Acetonitrilo
 Fase móvil C: Metanol
 Gradiente: Tiempo (min) % de A % de B % de C

0	75	15	10
20	5	85	10
25	5	85	10

15

Sistema binario

Fase móvil A: H₂O MilliQ/Metanol 90/10
 Fase móvil B: Acetonitrilo/Metanol 90/10
 Gradiente: Tiempo (min) % de A % de B

1	83,5	16,5
21	5,5	94,5
25	5,5	94,5

Ejecución posterior: 7 min.
 Caudal: 1,0 ml/min
 Detector: UV a 243 nm
 Volumen de inyección: 5 µl
 Tiempo de ejecución: 25 min
 Diluyente de muestra: CH₂Cl₂/EtOH/H₂O 1:5:4

Aplicando las condiciones descritas anteriormente, los tiempos de retención esperados son como se indican a continuación:

20

Compuesto	TA	TRR
Compuesto de fórmula (IX)	8,02 min	1,14
Compuesto de fórmula (X)	4,70 min	0,67
Compuesto de fórmula (XI)	6,30 min	0,90
Impureza dimérica de fórmula (VI)	11,67 min	1,66
Impureza dimérica de fórmula (VII)	11,10 min	1,58
Compuesto de fórmula (VIII)	11,37 min	1,62
Impureza dimérica de fórmula (IV)	18,31 min	2,60
Impureza dimérica de fórmula (V)	17,75 min	2,52
Apixaban de fórmula (I)	7,03 min	1,00
Impureza dimérica de fórmula (II)	12,31 min	1,75
Impureza dimérica de fórmula (III)	12,00 min	1,71

Las cantidades de las impurezas diméricas descritas en la descripción y los ejemplos para los compuestos de fórmula (I), (VIII), (IX) y (X), en particular, en cantidades expresadas en el % de A/A de HPLC, se pueden llevar a cabo de acuerdo con el método de HPLC descrito en este ejemplo 8.

5 Método de LC-MS para la determinación de impurezas diméricas de Apixaban.

Parámetros de la LC			
Equipo:	Agilent 1100 Serie LC/MSD Trap		
Columna:	Poroshell SB-C18 150 x 4,6 mm		
	2,7 μm		
Temp. Columna:	40 °C		
Fase móvil A:	H_2O		
Fase móvil B:	Acetonitrilo/Metanol 80/20		
Gradiente:	Tiempo (min)	% de A	% de B
	0	85	15
	25	5	95
	30	5	95
Caudal:	1,0 ml/min		
Detector:	UV 243 nm		
Volumen de inyección	5 μl		
Tiempo de ejecución:	30 min		
Ejecución posterior	5 min		

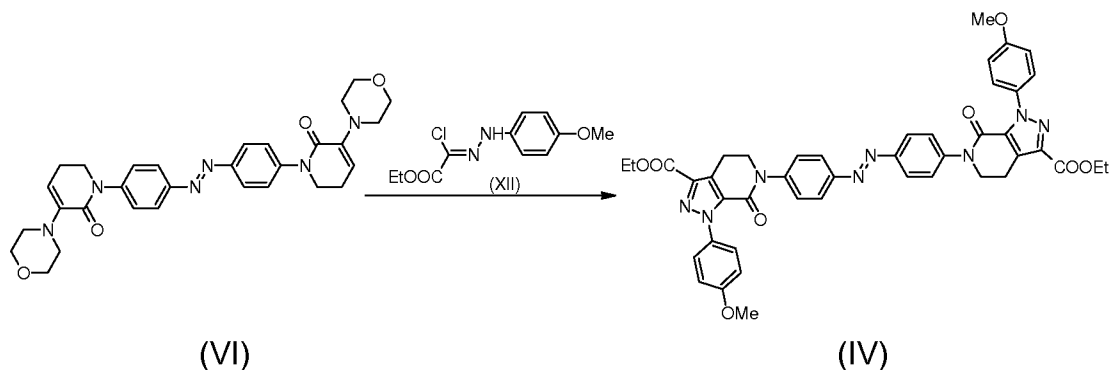
Parámetros de la MS	
Polaridad de la MS:	positiva
Ionización:	APCI
Presión de nebulización:	60 psi
Flujo del gas de secado:	5 l/min
Temperatura de gas de secado:	350 °C
Temperatura de vap.	400 °C
Corriente de la corona	4000 nA
Tensión de capilaridad	3500 V
Intervalo de masas:	100-900 uma

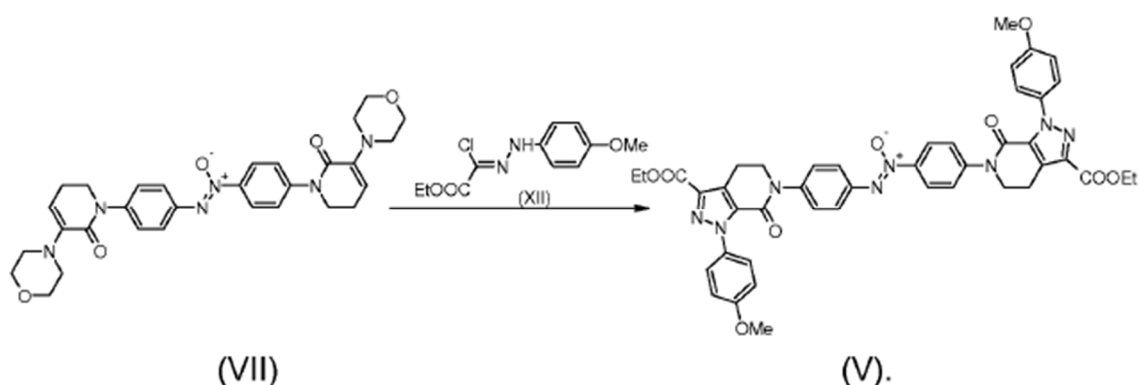
10

Preparación de muestras	
Diluyente de muestra:	$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:5:4
Concentración de la muestra	2 mg/ml

Ejemplo 9: Preparación de la impureza dimérica de fórmula (IV) y la impureza dimérica de fórmula (V), a partir de una mezcla de la impureza dimérica de fórmula (VI) y la impureza dimérica de fórmula (VII).

15 Esquema de síntesis:





En un matraz de fondo redondo, se cargaron: la mezcla de impureza dimérica de fórmula (VI) y de impureza dimérica de fórmula (VII) preparada volviendo a elaborar los ejemplos 2 y 3 a gran escala (14 g, 25 mmol, 1,0 eq. considerando el peso molecular de la impureza dimérica de las especies de fórmula (VII), el compuesto de fórmula (XII) (90 g, 350 mmol, 7,0 equiv.), trietilamina (76 g, 750 mmol, 15,0 equiv.), yoduro de potasio (8,5 g, 51 mmol, 1,0 equiv.) y acetato de etilo (1.960 ml). La suspensión se calentó a reflujo y se agitó durante 16 horas, luego se enfrió hasta $T = 20/25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se filtró para eliminar la sustancia insoluble, lavando la torta con acetato de etilo (3 x 20 ml).

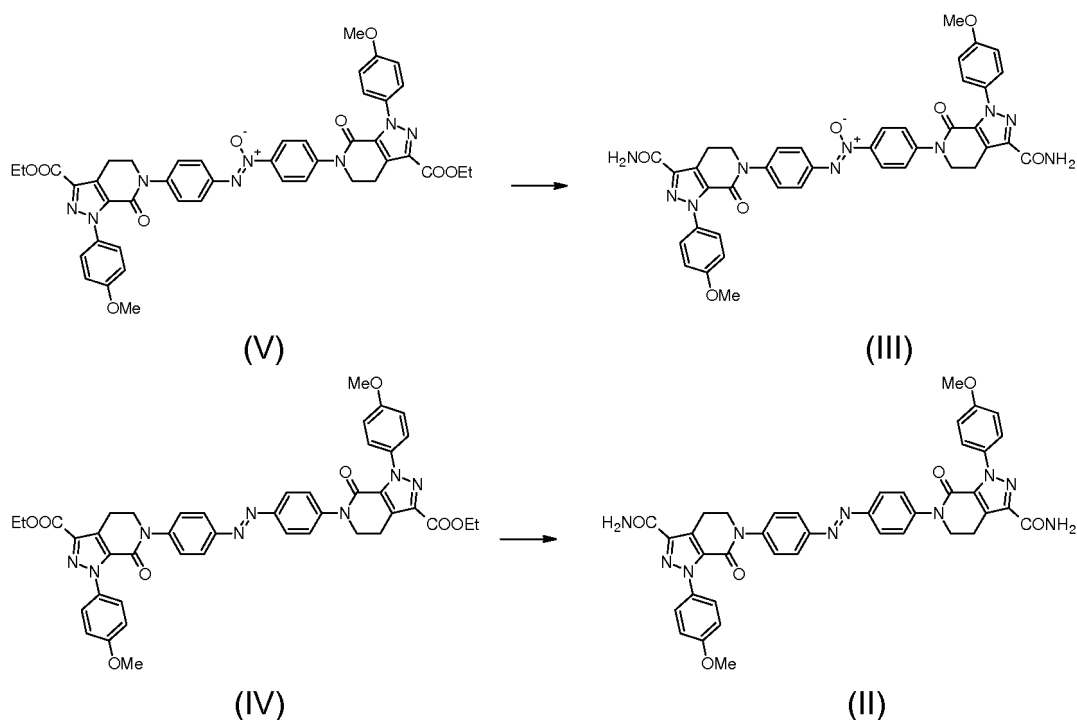
- 10 A la solución resultante, se añadió lentamente a $T = 20/25\text{ }^{\circ}\text{C}$ una solución acuosa de HCl al 32 % (72 ml, $d = 1,16\text{ g/ml}$) y la mezcla se agitó durante 30 minutos a esta temperatura.

Se filtró la suspensión y se suspendió el sólido húmedo recogido en una solución saturada de carbonato sódico (50 ml) a $T=20/25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tras 30 min de agitación a esta temperatura, la mezcla se filtró y la torta húmeda se lavó con solución saturada de carbonato de sodio (50 ml) y luego con agua (20 ml).

Tras secar a presión reducida y a $T = 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 8 horas, se obtuvieron 8,4 g de una mezcla de impurezas diméricas (40 % de rendimiento, % de A de HPLC: Dímero de fórmula (V) ($PM = 824$) 71,3 %; Dímero de fórmula (IV) ($PM = 808$), % de A/A de HPLC del 12,2 %).

Ejemplo 10: Preparación de la impureza dimérica de fórmula (V) y la impureza dimérica de fórmula (IV), a partir de la impureza dimérica de fórmula (III) y la impureza dimérica de fórmula (II).

Esquema de síntesis:



En un autoclave de acero inoxidable de 1 l, se cargaron la mezcla de la impureza dimérica de fórmula (IV) y la impureza dimérica de fórmula (V) del ejemplo 9 llevada a cabo a gran escala (15 g, 18,5 mmol, 1,0 eq. considerando el peso molecular de las especies de impureza dimérica de fórmula (V), PM = 824) y propilenglicol (600 ml). Tras las purgas de nitrógeno, se cargó el amoníaco hasta una presión interna estable de $P = 1,5/2,0$ bares a $T = 20/25$ °C. La mezcla se calentó luego hasta $T = 120$ °C, alcanzando una presión interna de $P = 9$ bares.

Tras 40 horas a esta temperatura, se enfrió la mezcla hasta $T = 20/25$ °C y se diluyó con propilenglicol (30 ml), agua (360 ml) y etanol (90 ml). La suspensión resultante se agitó durante 1 hora a $T = 20/25$ °C y, finalmente, se filtró lavando la torta con agua (60 ml). Se secó el material húmedo a presión reducida y $T = 65$ °C durante 8 horas, proporcionando 10,3 g de una mezcla de impurezas diméricas (74 % de rendimiento, % de A de HPLC: dímero de fórmula (III), PM = 766, del 48,53 %; dímero de fórmula (II), PM = 750, del 34,6 %).

Ejemplo 11: Separación cromatográfica de la mezcla de impurezas diméricas y ensayo analítico de impurezas individuales.

Métodos analíticos para separar los siguientes métodos de impurezas diméricas y la siguiente caracterización de cada impureza dimérica individual:

1. la mezcla de impureza dimérica de fórmula (VI) e impureza dimérica de fórmula (VII),
2. la mezcla de impureza dimérica de fórmula (IV) e impureza dimérica de fórmula (V),
3. la mezcla de impureza dimérica de fórmula (II) e impureza dimérica de fórmula (III).

1. Separación cromatográfica de la mezcla de impureza dimérica de fórmula (VI) e impureza dimérica de fórmula (VII).

La separación de dicha mezcla, obtenida en el ejemplo 3, se realizó a través de HPLC preparativa (Agilent Technologies serie 1200) aplicando las siguientes condiciones:

30	Condiciones cromatográficas:			
	Columna:	Zorbax-Rx-Sil, 21,2 x 250 mm, 7 μ m		
	Temp. Columna:	25 °C		
	Fase móvil A:	DCM		
	Fase móvil B:	EtOH		
	Gradiente:	Tiempo (min)	% de A	% de B
		0	97	3
		20	97	3
	Caudal:	20 ml/min		
	Detector	UV a 220 nm		
	Volumen de inyección:	300 μ l		
	Tiempo de ejecución:	20 min		
	Diluyente de muestra:	CH ₂ Cl ₂		
	Conc. de la muestra	5 mg/ml		

Caracterización de la impureza dimérica de fórmula (VII).

Tiempo de retención: 11,8 min (obtenido mediante las condiciones cromatográficas descritas anteriormente).

LC-MS (ESI+): $m/z = 559$, $[M+H]^+$

35 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,34 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 8,27 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 7,51 (m, 4H); 5,73 (m, 2H); 3,85 (m, 12H); 2,93 (m, 8H); 2,56 (m, 4H).

RMN de ¹³C y 135 RMN de DEPT (100 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 161,3 (C); 145,6 (C); 145,05 (C); 143,7 (C); 143,6 (C); 143,5 (C); 141,3 (C); 126,3 (CH); 124,6 (CH); 124,5 (CH); 122,7 (CH); 115,2 (CH); 114,9 (CH); 66,7 (CH₂); 50,5 (CH₂); 48,4 (CH₂); 23,4 (CH₂).

40

Espectro UV-Vis:

Absorción máxima a 350-360 nm.

Caracterización de la impureza dimérica de fórmula (VI).

45 Tiempo de retención: 14,3 min (obtenido mediante las condiciones cromatográficas descritas anteriormente).

LC-MS (ESI+): $m/z = 543$, $[M+H]^+$

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8,00 (m, 4H); 7,56 (m, 4H); 5,37 (m, 2H); 3,73 (m, 12H); 3,27 (m, 8H); 2,96 (m, 4H).

2. Separación cromatográfica de la mezcla de impureza dimérica de fórmula (IV) e impureza dimérica de fórmula (V),

5

La separación de dicha mezcla, obtenida en el ejemplo 9, se realizó a través de HPLC preparativa (Agilent Technologies serie 1200) aplicando las siguientes condiciones:

Condiciones cromatográficas:			
Columna:	Zorbax-Rx-Sil, 21,2 x 250 mm, 7 μm		
Temp. Columna:	25 °C		
Fase móvil A:	DCM		
Fase móvil B:	EtOH		
Gradiente:	Tiempo (min)	% de A	% de B
	0	98	2
	10	98	2
Caudal:	20 ml/min		
Detector	UV a 220 nm		
Volumen de inyección:	300 μl		
Tiempo de ejecución:	10 min		
Diluyente de muestra:	CH_2Cl_2		
Conc. de la muestra	10 mg/ml		

10

Caracterización de la impureza dimérica de fórmula (V).

Tiempo de retención: 3,0 min (obtenido mediante las condiciones cromatográficas descritas anteriormente).

LC-MS (ESI⁺): m/z = 825, $[\text{M}+\text{H}]^+$

15 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 8,32 (d, J = 9,2 Hz, 2H); 8,24 (d, J = 9,2 Hz, 2H); 7,48 (m, 8H); 6,95 (dd, J_1 = 8,8 Hz J_2 = 2 Hz, 4H); 4,49 (c, J = 6,8 Hz, 4H); 4,21 (m, 4H); 3,84 (s, 6H); 3,36 (m, 4H); 1,46 (t, J = 6,8 Hz, 6H).

RMN de ^{13}C y 135 RMN de DEPT (100 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 162,1 (C); 162,0 (C); 160,0 (C); 159,9 (C); 157,1 (C); 145,5 (C); 144,7 (C); 142,5 (C); 141,7 (C); 139,1 (C); 139,0 (C); 126,94 (CH); 126,93 (CH); 126,4 (CH); 125,2 (CH); 125,1 (CH); 122,79 (CH); 113,73 (CH); 113,71 (CH); 61,33 (CH_2); 61,29 (CH_2); 55,5 (CH_3); 50,9 (CH_2); 21,6 (CH_2); 14,4 (CH_3); Espectro UV-Vis:

20 Absorción máxima a 356-360 nm.

Caracterización de la impureza dimérica de fórmula (IV).

Tiempo de retención: 4,0 min (obtenido mediante las condiciones cromatográficas descritas anteriormente).

LC-MS (ESI⁺): m/z = 809, $[\text{M}+\text{H}]^+$

25 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ (ppm): 7,94 (d, J = 8,8 Hz, 4H); 7,50 (m, 8H); 6,95 (d, J = 9,2 Hz, 4H); 4,49 (c, J = 7,2 Hz, 4H); 4,22 (m, 4H); 3,84 (s, 6H); 3,36 (m, 4H); 1,46 (t, J = 7,2 Hz, 6H).

Espectro UV-Vis:

Absorción máxima a 356-360 nm.

30

3. Separación cromatográfica de la mezcla de impureza dimérica de fórmula (II) e impureza dimérica de fórmula (III).

La separación de dicha mezcla, obtenida en el ejemplo 10, se realizó a través de HPLC preparativa (Agilent Technologies serie 1200) aplicando las siguientes condiciones:

35

Condiciones cromatográficas:			
Columna:	Zorbax-Rx-Sil, 21,2 x 250 mm, 7 μm		
Temp. Columna:	25 °C		
Fase móvil A:	DCM		
Fase móvil B:	<i>i</i> -PrOH		
Gradiente:	Tiempo (min)	% de A	% de B
	0	95	5
	20	95	5
Caudal:	20 ml/min		
Detector	UV a 220 nm		
Volumen de inyección:	300 μl		

Tiempo de ejecución: 20 min
 Diluyente de muestra: CH₂Cl₂
 Conc. de la muestra: <5 mg/ML

Debido a la baja solubilidad de las especies, se preparó una solución de 5 mg/ml, y se filtró la materia insoluble, obteniéndose una solución transparente.

Caracterización de la impureza dimérica de fórmula (III).

Tiempo de retención: 13,6 min (obtenido mediante las condiciones cromatográficas descritas anteriormente).

5 LC-MS (ESI⁺): $m/z = 767$, [M+H]⁺

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 8,28 (d, $J = 9,2$ Hz, 2H); 8,18 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); 7,76 (s a, 2H); 7,63-7,52 (m, 8H); 7,47 (s a, 2H); 7,02 (d, $J = 8,8$ Hz, 4H); 4,17 (m, 4H); 3,82 (s, 6H); 3,25 (m, 4H).

Espectro UV-Vis: mostrado en la Fig. 4

10 Absorción máxima a 360-370 nm.

Caracterización de la impureza dimérica de fórmula (II).

Tiempo de retención: 14,6 min (obtenido mediante las condiciones cromatográficas descritas anteriormente).

LC-MS (ESI⁺): $m/z = 751$, [M+H]⁺

15 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,93 (d, $J = 8,8$ Hz, 4H); 7,76 (s a, 2H); 7,63-7,52 (m, 8H); 7,47 (s a, 2H); 7,02 (d, $J = 8,8$ Hz, 4H); 4,17 (m, 4H); 3,82 (s, 6H); 3,25 (m, 4H).

Espectro UV-Vis: mostrado en la Fig. 3

Absorción máxima a 350-360 nm.

20

Determinación de espectros de MS y UV de impurezas diméricas

Parámetros de la LC			
Equipo:	Agilent LC/MSD Trap SL		
Columna:	Poroshell SB-C18 150 x 4,6 mm 2,7 μm		
Temp. Columna:	40 °C		
Fase móvil A:	TFA al 0,1 % (v/v) en H ₂ O		
Fase móvil B:	Acetonitrilo/Metanol 80/20		
Gradiente:	Tiempo (min)	% de A	% de B
	0	85	15
	25	5	95
	30	5	95
Caudal:	1,0 ml/min		
Detector:	UV 243 nm		
Volumen de inyección	5 μl		
Tiempo de ejecución:	30 min		
Ejecución posterior	5 min		

25

Parámetros de la MS	
Polaridad de la MS:	positiva
Ionización:	ESI ⁺
Temp. de secado:	320 °C
Presión de nebulización:	70 psi
Flujo del gas de secado:	12 l/min
Transmisión de la trampa:	42,9
Capilar HV:	4100 V
Capilar de corriente:	40 nA
Intervalo de masas:	100-900 uma

Preparación de muestras

Diluyente de muestra: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$ 1:5:4
 Concentración de la muestra 0,3 mg/ml

En el ejemplo 1, usando métodos de la técnica anterior para la preparación del compuesto de fórmula (IX), dicho compuesto se obtuvo con una alta cantidad de impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII).

- 5 En el ejemplo 2, aplicando la enseñanza de la presente invención, es decir, filtrando una solución del compuesto (IX) en etanol y agua, el compuesto obtenido de fórmula (IX) tenía un contenido de cada impureza dimérica de fórmula (VI) y (VII) inferior al 0,10 %.

A modo comparativo del ejemplo 1 y 2, se puede resaltar así el efecto de la presente invención en relación con las etapas a) a d).

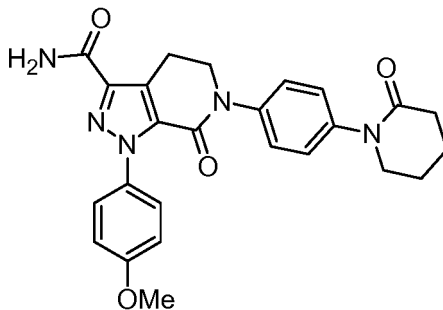
En el ejemplo 3, las impurezas de fórmula (VI) y (VII) se prepararon mediante el sólido eliminado del ejemplo 2, constituido por una mezcla de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y (VII).

- 15 El Ejemplo 4 proporciona evidencias de que, aplicando el método de la invención, el producto final Apixaban comprende un contenido de impurezas diméricas de fórmula (II) y (III) inferior al 0,10 % de área de HPLC.

Analizando los experimentos anteriores y los resultados proporcionados, en especial, considerando los niveles de impurezas diméricas del Apixaban, puede apreciarse el efecto proporcionado por el procedimiento de la presente invención para eliminar las impurezas diméricas, proporcionando así Apixaban esencialmente libre de impurezas diméricas.

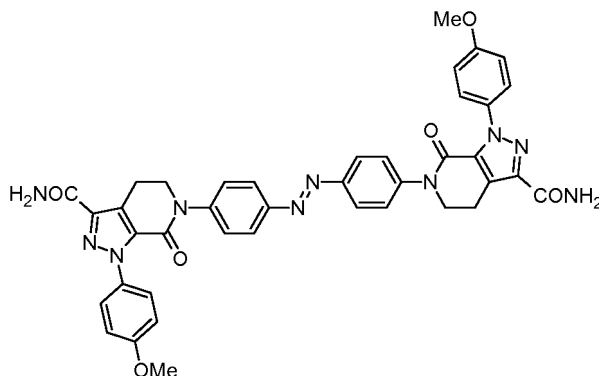
REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de Apixaban de fórmula (I):



(I)

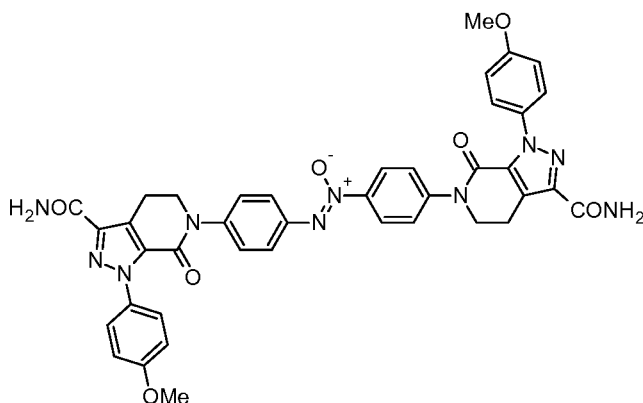
comprendiendo dicho Apixaban menos del 0,10 % de área de HPLC de la siguiente impureza dimérica de Apixaban: (E)-6,6'-(4,4'-(diazén-1,2-diil)bis(4,1-fenil))bis(1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-carboxamida) que tiene la siguiente estructura (II):



(II),

y/o de la impureza dimérica de Apixaban:

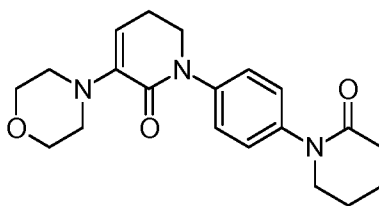
óxido de (Z)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-6(7H)-il)fenil)diazeno,



(III),

comprendiendo dicho procedimiento las siguientes etapas:

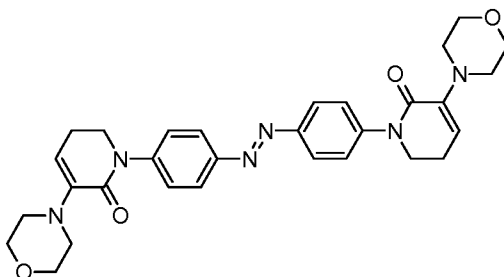
a) preparar una solución de 3-morfolin-1-(4-(2-oxopiperidin-1-il)fenil)-5,6-dihidropiridin-2(1H)-ona de fórmula (IX):



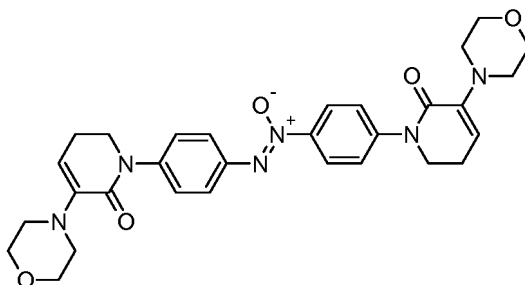
(IX)

en una mezcla de un alcohol C₁-C₃ y agua, en la que la cantidad de alcohol C₁-C₃ es de 5 a 20 volúmenes, y la cantidad de agua es de 1 a 15 volúmenes, ambos en comparación con el compuesto de fórmula (IX);

- 5 b) filtrar la solución preparada en la etapa a) para eliminar la siguiente impureza dimérica:
(*E*)-1,1'-(4,4'-(diazén-1,2-diil)bis(4,1-fenilén))bis(3-morfolin-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona) de fórmula (VI) y/o la impureza dimérica óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-morfolin-2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)fenil)diazén de fórmula (VII):

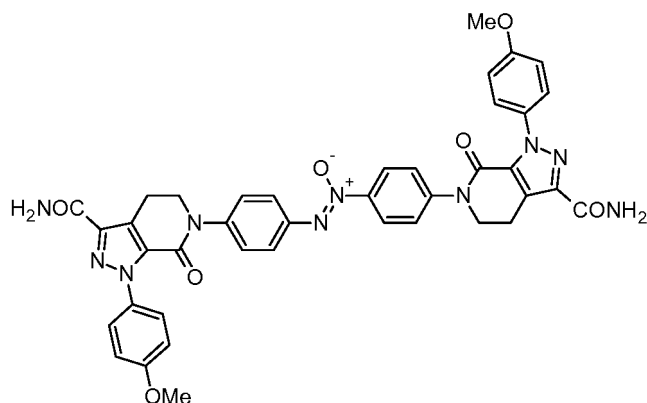


(VI)



(VII),

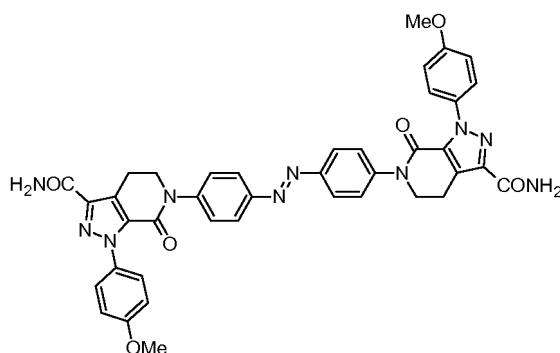
- 15 c) obtener, en el filtrado, una solución que comprende el compuesto purificado de fórmula (IX);
d) convertir el compuesto de fórmula (IX) de la etapa c) en Apixaban de fórmula (I).
2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que, en la etapa a), el alcohol C₁-C₃ es etanol.
3. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que la etapa b) se lleva a cabo a
20 una temperatura comprendida entre 30 °C y 50 °C.
4. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que, en la etapa a), se añade además un coadyuvante de filtración y/o carbón activado.
- 25 5. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la etapa b) se lleva a cabo por medio de un panel de dicalita.
6. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el Apixaban comprende menos del 0,10 % de área de HPLC de la siguiente impureza dimérica de Apixaban: óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-carbamoyl-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1*H*-pirazolo[3,4-*c*]piridin-6(7*H*)-il)fenil)diazén, que tiene la siguiente fórmula (III):
- 30



(III),

en el que, en la etapa b), se elimina la impureza dimérica precursora de fórmula (VII).

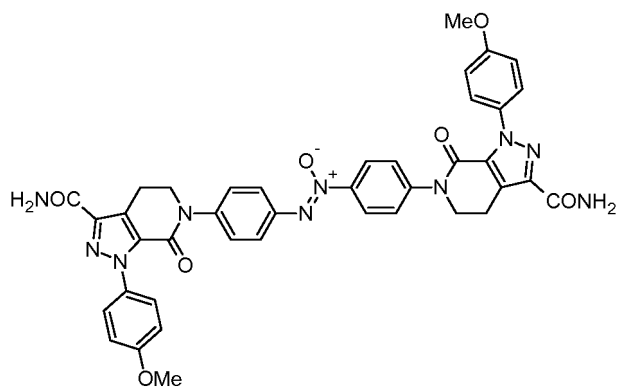
- 5 7. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el Apixaban comprende menos del 0,01 % de área de HPLC de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III).
8. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el Apixaban contiene del 0,00 % al 0,02 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III), según se determina por HPLC A/A%, que
- 10 comprende la conversión del compuesto de fórmula (IX) en Apixaban, y en el que dicho compuesto de fórmula (IX) comprende una cantidad de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) comprendida entre el 0,1 % y el 2 %, según se determina por HPLC A/A%.
9. Procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el Apixaban contiene del
- 15 0,02 % al 0,10 % de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III), según se determina por HPLC A/A%, que comprende la conversión del compuesto de fórmula (IX) en Apixaban, y en el que dicho compuesto de fórmula (IX) comprende una cantidad de las impurezas diméricas de fórmula (VI) y/o fórmula (VII) comprendida entre el 2 % y el 5 %, según se determina por HPLC A/A%.
- 20 10. Impurezas diméricas de Apixaban o de uno de sus precursores seleccionadas del grupo de:
- A) (E)-6,6'-(4,4'-(diazen-1,2-diil)bis(4,1-fenilen))bis(1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-carboxamida) que tiene la siguiente fórmula (II):



(II),

25

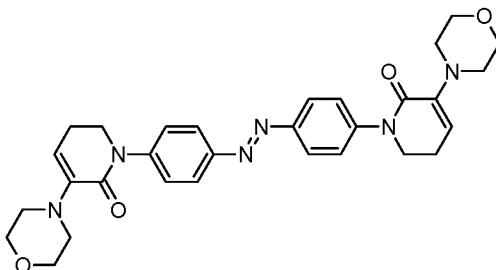
- B) óxido de (Z)-1,2-bis(4-(3-carbamoil-1-(4-metoxifenil)-7-oxo-4,5-dihidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-6(7H)-il)fenil)diazeno que tiene la siguiente fórmula (III):



(III),

C) (*E*)-1,1'-(4,4'-(diazen-1,2-diil)bis(4,1-fenileno))bis(3-morfolin-5,6-dihidropiridin-2(1*H*)-ona) que tiene la siguiente fórmula (VI):

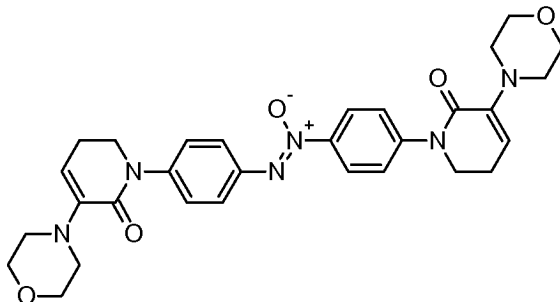
5



(VI),

D) óxido de (*Z*)-1,2-bis(4-(3-morfolin-2-oxo-5,6-dihidropiridin-1(2*H*)-il)fenil)diazeno que tiene la siguiente fórmula (VII):

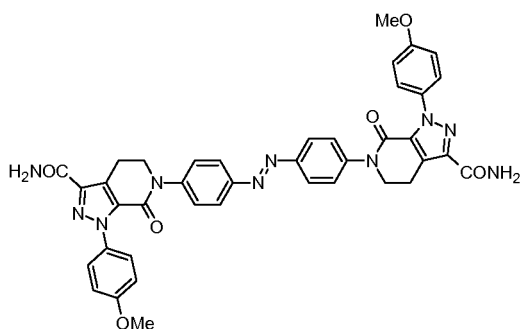
10



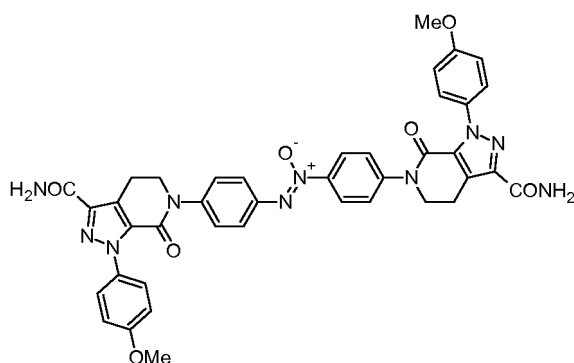
(VII).

11. Método para la determinación en Apixaban de la impureza dimérica de Apixaban que tiene la siguiente fórmula (II) y/o que tiene la fórmula (III):

15



(II)



(III)

5 que comprende las siguientes etapas:

- a) añadir una cantidad conocida de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) a la muestra de Apixaban;
- b) llevar a cabo el análisis por HPLC o LC/MS de la muestra de Apixaban de la etapa a);
- c) detectar el máximo de HPLC o de LC/MS de la impureza dimérica;

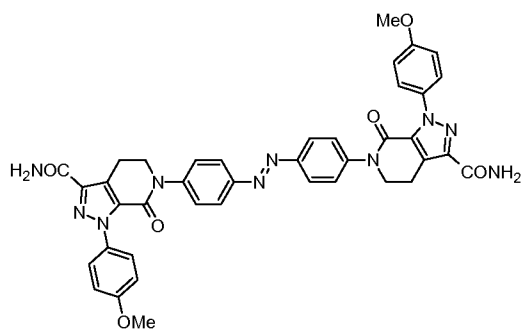
o

- a1) análisis de la impureza dimérica mediante HPLC o LC/MS,
- b1) análisis de la muestra de Apixaban mediante HPLC o LC/MS,
- c1) detección de los picos de HPLC o de LC/MS de la impureza dimérica comparando los tiempos de retención o los tiempos de retención relativos;

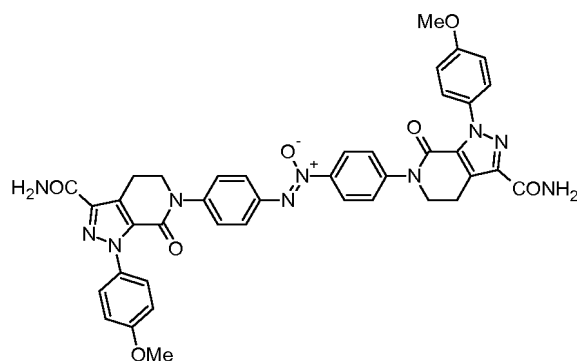
o

20 por medio del análisis de LC/MS que detecta el pico que tiene $[M+1]^+$ igual a 751 o 767 uma.

12. Método para la cuantificación en Apixaban de la impureza dimérica de Apixaban que tiene la siguiente fórmula (II) y/o que tiene la fórmula (III):



(II)



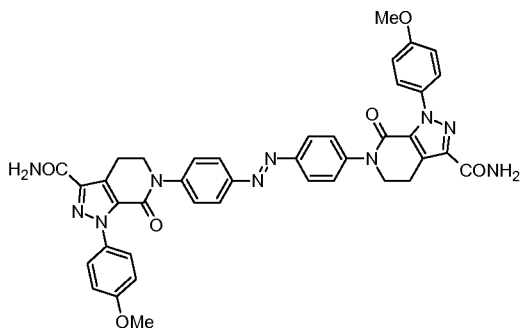
(III),

5 que comprende las siguientes etapas:

- a) medir las áreas de los picos correspondientes a cada impureza dimérica de fórmula (II) y/o fórmula (III) en la muestra de Apixaban que tiene una cantidad desconocida de estos compuestos por medio de HPLC o LC/MS;
- b) medir las áreas de los picos correspondientes a un "patrón de referencia" que contiene una cantidad conocida de impureza dimérica de fórmula (II) y/o de fórmula (III) por medio de HPLC o LC/MS;
- c) definir la cantidad de impurezas diméricas del Apixaban comparando las áreas medidas en la etapa a) con las medidas en la etapa b).

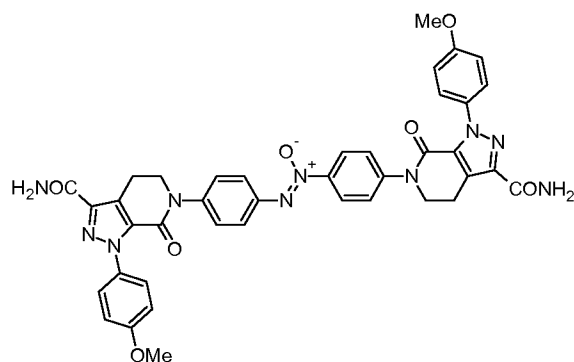
13. Uso de las siguientes impurezas diméricas de Apixaban:

a) impureza dimérica de fórmula (II):



(II),

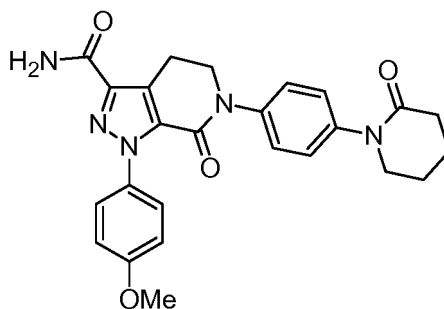
b) impureza dimérica de fórmula (III):



(III),

como un "marcador de referencia" o "patrón de referencia" para la identificación y/o la cuantificación de dicha impureza dimérica en Apixaban de fórmula (I):

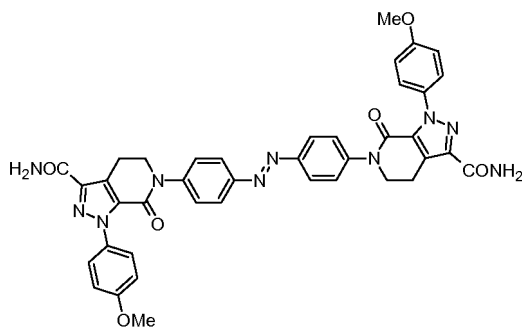
5



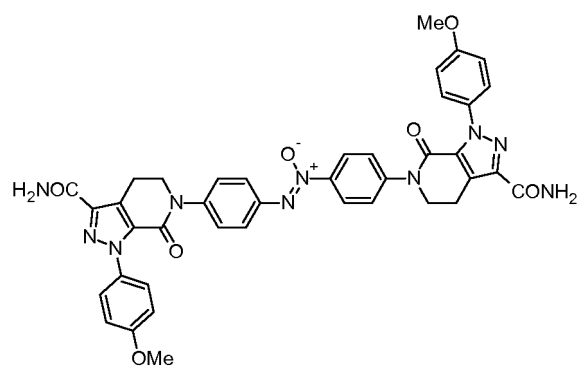
(I).

14. Método para la cuantificación en Apixaban de cantidades comprendidas entre 1 y 100 partes por millón de la impureza dimérica de Apixaban que tiene la siguiente fórmula (II) y/o que tiene la fórmula (III):

10



(II)



(III),

en el que dicha determinación se lleva a cabo mediante LC/MS.

Figura 1

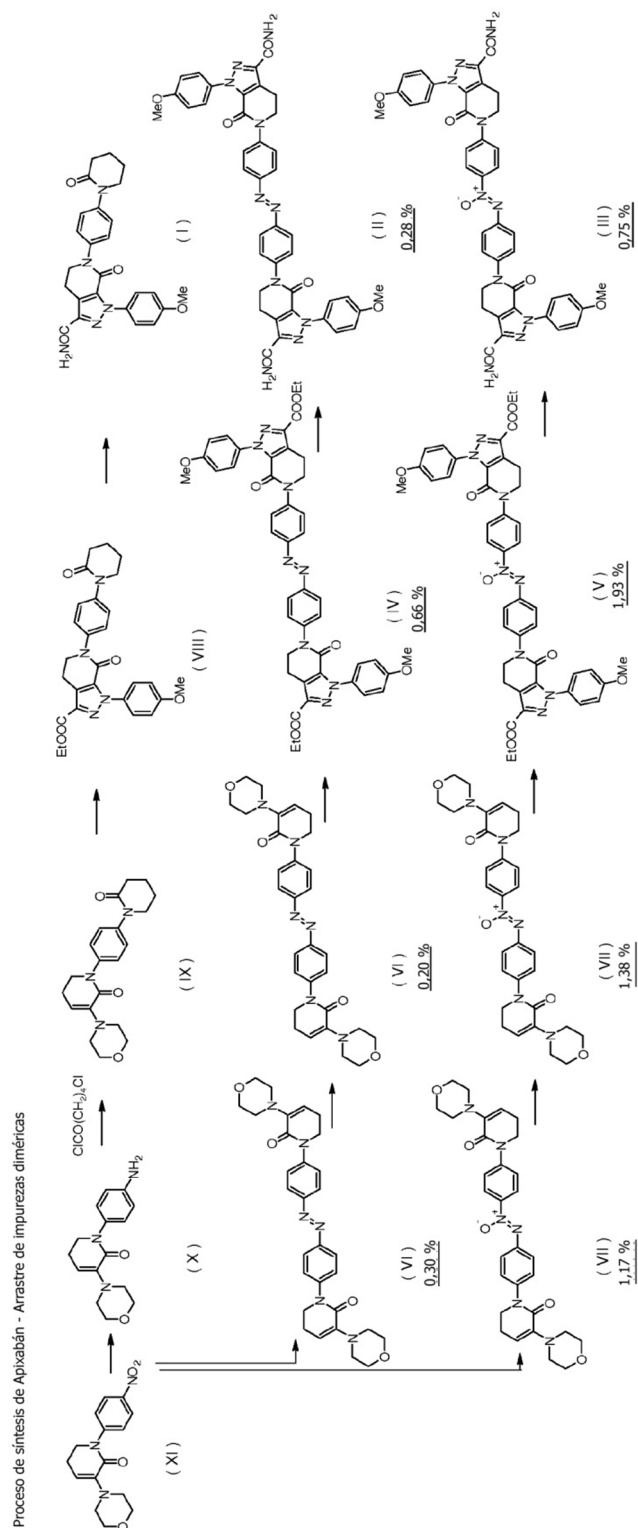


Figura 2

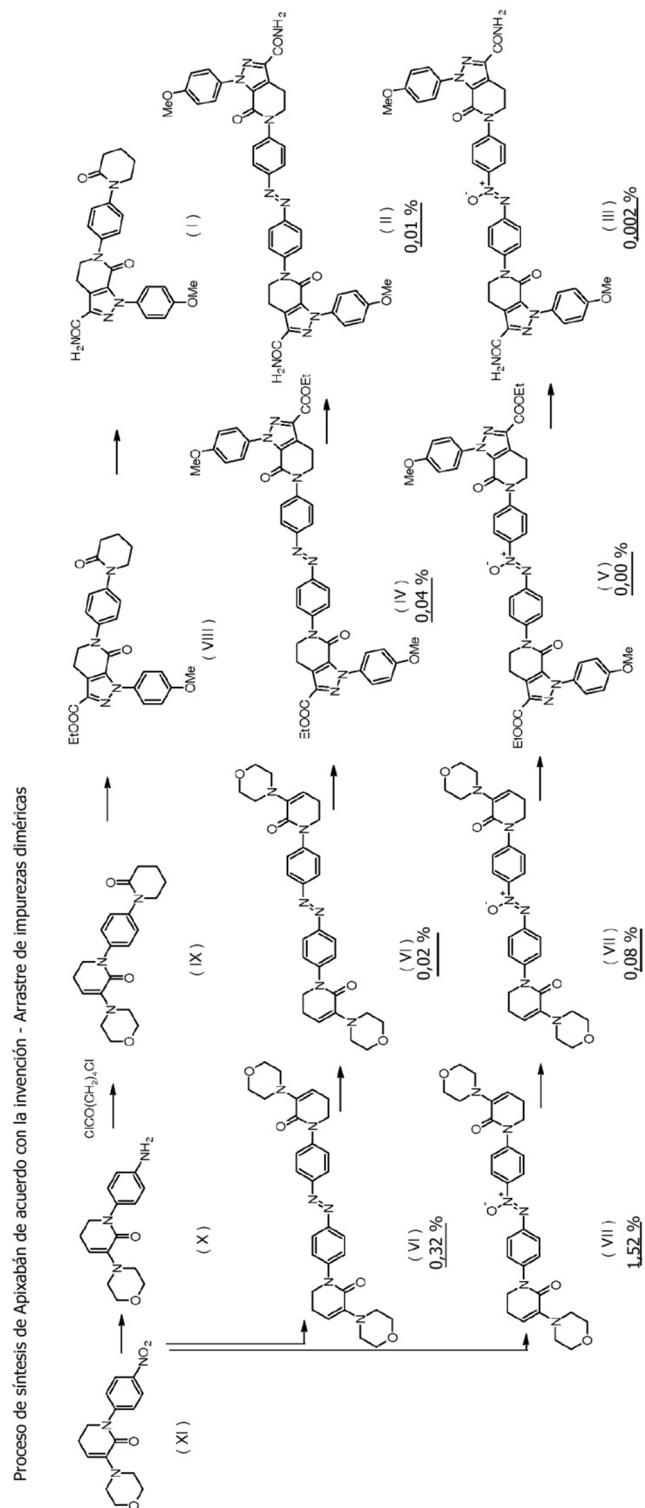


Figura 3

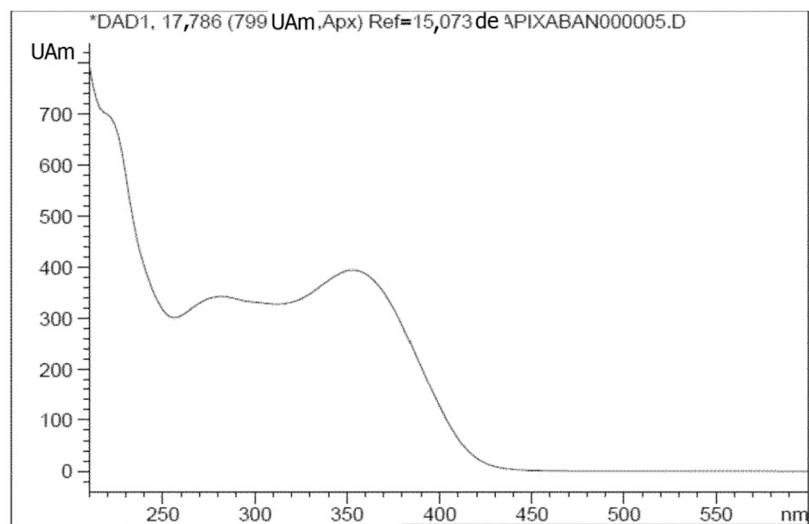


Figura 4

