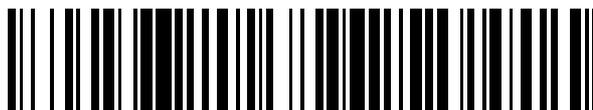


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 444**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/5025 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.07.2015 PCT/GB2015/052143**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.02.2016 WO16016618**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2015 E 15744308 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.03.2018 EP 3174881**

54 Título: **[1,2,4]Triazolol[4,3-b]piridazinas para su uso en el tratamiento de enfermedades proliferativas**

30 Prioridad:

28.07.2014 US 201462029676 P

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

30.05.2018

73 Titular/es:

**ASTRAZENECA AB (100.0%)
SE-151 85 Södertälje, SE**

72 Inventor/es:

**BRADBURY, ROBERT HUGH;
RABOW, ALFRED ARTHUR;
WARING, MICHAEL JAMES;
MCCABE, JAMES FRANCIS;
GLOSSOP, STEVEN CHRISTOPHER;
MAHMOOD, ARSHED y
COTTER, ZOE ANN**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 670 444 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

[1,2,4]Triazolo[4,3-b]piridazinas para su uso en el tratamiento de enfermedades proliferativas

La invención trata sobre ciertos compuestos de tipo triazolopiridazina (TPDZ) sustituida o sus sales farmacéuticamente aceptables, que poseen actividad contra el cáncer y, por lo tanto, son útiles en métodos de tratamiento del cuerpo humano o animal. La invención también trata sobre procesos para la producción de dichos compuestos de tipo TPDZ, composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos o sus sales farmacéuticamente aceptables. Se divulgan métodos de tratamiento de distintos tipos de cáncer en animales de sangre caliente tales como el hombre.

La invención también se refiere a compuestos de tipo TPDZ que son inhibidores de una o más proteínas que contienen un bromodominio, en particular la familia BET de proteínas que contienen un bromodominio.

Las proteínas que contienen un bromodominio están implicadas en diversas enfermedades y son objeto de un gran interés como dianas terapéuticas. El bromodominio es un pliegue estructural sumamente conservado que reconoce residuos de lisina acetilada y se encuentra en grandes proteínas multidominio asociado con el control de la transcripción de la remodelación de la cromatina, actividad metil o acetiltransferasa o helicasas. La familia BET de proteínas que contienen un bromodominio comprende cuatro miembros (BRD2, BRD3, BRD4 y BRDt) todos los cuales muestran una arquitectura de dominio común de los bromodominios tándem N-terminal capaces de unirse a residuos de lisina acetilada en histonas y factores de transcripción. BRD4 desempeña una importante función en la regulación transcripcional de los genes tal como lo evidencia su asociación con el factor b de elongación de la transcripción positivo (pTEFb) (Jang *et al. Mol. Cell*, **2005**, 19, 523-534), mediador cofactor de la transcripción general (Chiang, *F1000 Biol. Rep*, **2009**, 1, 98), factor proinflamatorio específico de genes NFkB (Huang *et al. Mol. Cell Biol.* **2009**, 29, 1375-1387) y reguladores transcripcionales codificados en virus (You *et al. Cell*, 2004, 117, 349-360). Se ha observado que BRD4 tiene una carga asimétrica en los potenciadores extra grandes que están asociados con un pequeño subconjunto de genes que constituyen a menudo los programas oncogénicos y transcripcionales específicos del linaje en un contexto celular concreto (Loven *et al. Cell*, **2013**, 153, 320-334). De manera similar, se han señalado BRD2 y BRD3 como reguladores de la transcripción que se unen a las regiones hiperacetiladas de la cromatina de genes que promueven el crecimiento (LeRoy *et al. Mol. Cell*. **2008**, 30, 51-60). También se ha señalado que BRD4 o BRD3 se puede fusionar con NUT (proteína nuclear en los testículos) y formar oncogenes novedosos, BRD4-NUT o BRD3-NUT, en una forma sumamente maligna de neoplasia epitelial (French *et al. Cancer Research*, 2003, 63, 304-307 y French *et al. Journal Clinical Oncology*, 2004, 22, 4135-4139). Los datos sugieren que las proteínas de fusión BRD-NUT contribuyen a la carcinogénesis (French *et al.* 2008, *Oncogene*, 27, 2237-2242). También se ha observado que el gen BRD4 está alterado en la forma de una amplificación génica en el cáncer de ovario seroso y otros tipos de cáncer en la base de datos del Atlas del Genoma del Cáncer (TCGA). Se ha indicado que todos los miembros de la familia BET desempeñan alguna función controlando o ejecutando aspectos del ciclo celular y se ha demostrado que están complejados con los cromosomas durante la división celular, lo que sugiere una función en el mantenimiento de la memoria epigenética. No es de extrañar que recientemente se haya establecido que los miembros de la familia BET son importantes para el mantenimiento de muchos tipos de tumores, por ejemplo, leucemia mieloide aguda y de linaje mixto (AML, por sus siglas en inglés), mieloma múltiple (MM), linfoma, glioblastoma y neuroblastoma. La inhibición de BRD4 suprime de manera potente Myc, ER, Bcl2 y otros oncogenes que están alterados con frecuencia en el cáncer. Se cree que la modulación de estos genes clave contribuye al fenotipo antitumoral de la inhibición de BET.

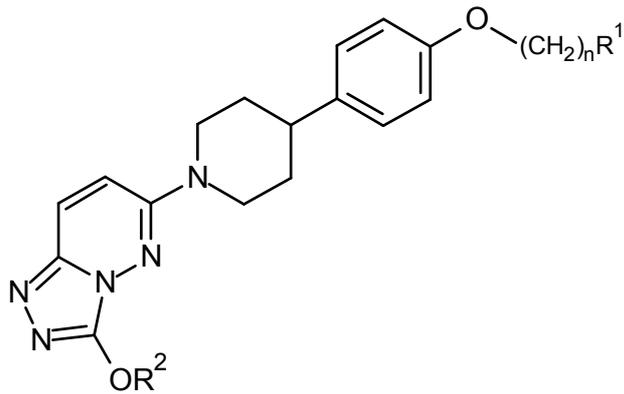
Además, se ha demostrado que los inhibidores de BET tienen propiedades antiinflamatorias (Nicodeme *et al. Nature*, **2010**, 468, 1119-1123) y reactivan la transcripción de VIH latente en modelos de líneas celulares de latencia (Banerjee *et al. J Leukoc Biol*, **2012**, 92, 1147-1154).

Recientemente, se han señalado unos pocos compuestos como inhibidores de bromodominios, por ejemplo, derivados de benzodiazepinas tales como los divulgados en el documento WO2011/054553. Se han divulgado triazolopiridazinas para su uso en el tratamiento del cáncer, por ejemplo, en el documento WO 2010/092371 y en el documento WO 2010/131022.

Sin embargo, se sigue necesitando desarrollar inhibidores de bromodominios potentes y novedosos que se puedan utilizar para tratar enfermedades e indicaciones en las que las proteínas que contienen bromodominios están implicadas.

Se ha observado que los compuestos de la invención poseen actividad como inhibidores de proteínas que contienen bromodominios, tales como la familia BET de bromodominios, por ejemplo, BRD4, BRD2, BRD3 y BRDt, y el tándem de dominios de estos, por ejemplo, BRD4(1) y BRD4(2).

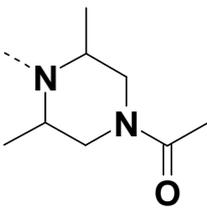
De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables



(I)

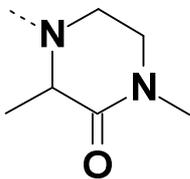
donde:-

R¹ es el grupo



5

o el grupo



y ---- indica el punto de unión;

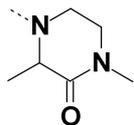
R² es un alquilo C₁-C₄; y

10 n es 2 o 3.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I) como se ha definido anteriormente.

En un aspecto adicional de la invención, R² es metilo.

En un aspecto adicional más de la invención, R¹ es el grupo



15 R² es alquilo C₁-C₄; y

n es 2.

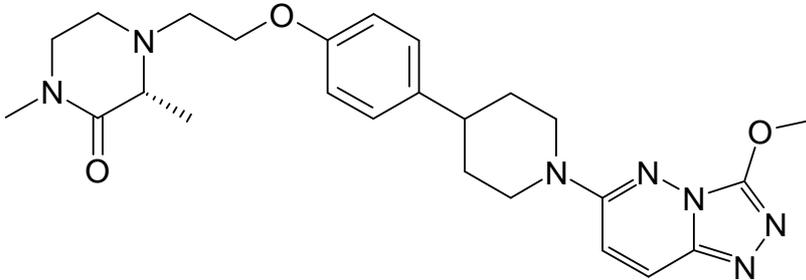
En un aspecto de la invención, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto seleccionado entre:

4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona;

1-(4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanolona;

4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona; y
 1-(4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona.

En otro aspecto de la invención, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de Fórmula (IA):

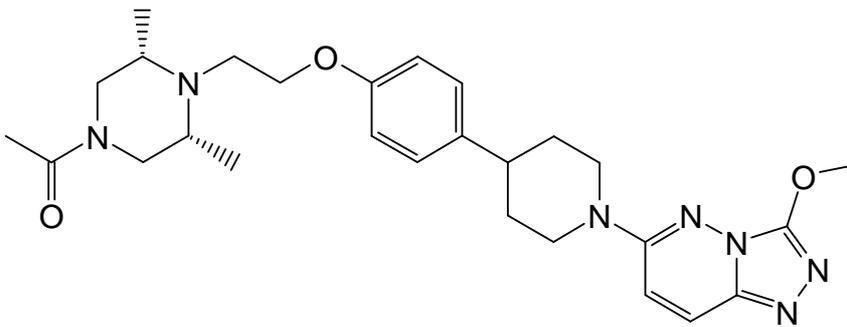


5

(IA)

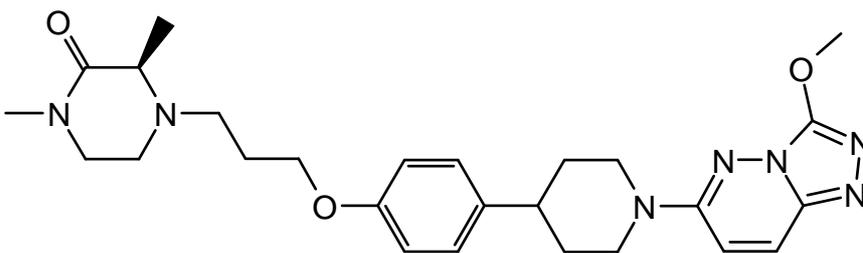
El compuesto de Fórmula (IA) también se denomina posteriormente en la presente Compuesto A.

En otro aspecto, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de Fórmula (IB):



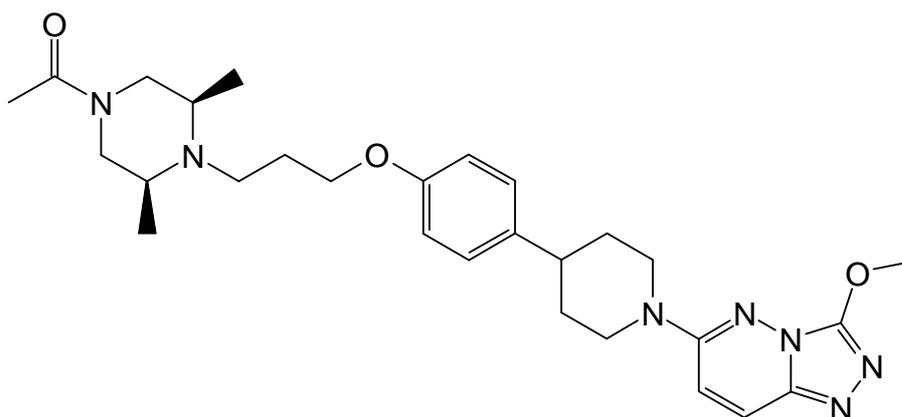
(IB)

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de Fórmula (IC):



(IC)

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, el compuesto de Fórmula (I) es un compuesto de Fórmula (ID):



(ID)

5 Un aspecto adicional proporciona cualquiera de los aspectos definidos en la presente (por ejemplo, el aspecto de la reivindicación 1) siempre que uno o más Ejemplos específicos (por ejemplo, uno, dos o tres Ejemplos específicos) seleccionados a partir del grupo constituido por los Ejemplos 1, 2, 3 y 4, se excluyan individualmente.

10 Algunos de los compuestos de Fórmula (I) pueden ser cristalinos y pueden tener más de una forma cristalina. Se sobreentenderá que la invención engloba cualquier forma cristalina o amorfa, o mezclas de estas, donde dicha forma posee propiedades útiles respecto a la actividad inhibidora de BET y, tal como la actividad inhibidora de BRD2, BRD3, BRD4 y BRDt. La manera de determinar la eficacia de una forma cristalina o amorfa mediante las pruebas estándar descritas posteriormente en la presente es sobradamente conocida.

Se sabe generalmente que los materiales cristalinos se pueden analizar utilizando técnicas convencionales tales como, por ejemplo, análisis por difracción de rayos X de polvo (posteriormente en la presente XRPD) y calorimetría diferencial de barrido (posteriormente en la presente DSC).

15 A modo de ejemplo, el compuesto del Ejemplo 1 muestra cristalinidad y se ha identificado una forma cristalina, la Forma A.

En consecuencia, un aspecto adicional de la invención es la Forma A del Compuesto A (Ejemplo 1).

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente $2\text{-theta} = 20.9^\circ$, medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

20 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente $2\text{-theta} = 16.7^\circ$, medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en aproximadamente $2\text{-theta} = 20.9^\circ$ y 16.7° , medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

25 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A, que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en aproximadamente $2\text{-theta} = 20.9, 16.7, 20.2, 21.2, 27.4, 18.0, 16.8, 23.6, 15.1$ y 15.5° , medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD sustancialmente idéntico al XRPD que se muestra en la Figura A, medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

30 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en $2\text{-theta} = 20.9^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta , medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en $2\text{-theta} = 16.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta , medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

35 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en $2\text{-theta} = 20.9^\circ$ y $16.7^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta , medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del Compuesto A que tiene un patrón de difracción de rayos X de polvo con picos específicos en $2\text{-theta} = 20.9, 16.7, 20.2, 21.2, 27.4, 18.0, 16.8, 23.6, 15.1$ y $15.5^\circ \pm 0.2^\circ$

2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

5 Cuando se afirma que la invención se refiere a una forma cristalina de la Forma A del Compuesto A, el grado de cristalinidad es convenientemente superior a aproximadamente un 60%, más convenientemente superior a aproximadamente un 80%, preferentemente superior a aproximadamente un 90% y más preferentemente superior a aproximadamente un 95%. De la forma más preferida, el grado de cristalinidad es superior a aproximadamente un 98%.

10 Algunos de los compuestos de Fórmula (I) pueden formar cocrystalos con moléculas coformadoras específicas. Se debe sobreentender que la presente invención engloba cualquiera de tales cocrystalos, los cuales poseen propiedades útiles respecto a la actividad inhibidora de BET y, tal como, la actividad inhibidora de BRD2, BRD3, BRD4 y BRDt. La manera de determinar la eficacia de tales cocrystalos mediante las pruebas estándar descritas posteriormente en la presente es sobradamente conocida.

En consecuencia, la invención proporciona un cocrystal de un compuesto de Fórmula (I) y una molécula coformadora.

En consecuencia, en un aspecto adicional de la invención, se proporciona un cocrystal del Compuesto A y la molécula coformadora ácido 6-hidroxi-2-naftoico.

15 Para que no haya lugar a dudas, el término "cocrystal" se refiere a un sistema multicomponente en el cual existe una molécula o moléculas de API (principio farmacéutico activo) hospedadora y una molécula o moléculas huésped (o coformadoras) en la misma red cristalina. En un cocrystal, tanto la molécula de API como la molécula huésped (o coformadora) existen como sólidos a temperatura ambiente cuando están solas en su forma pura (para distinguir la forma cocrystalina de los solvatos o hidratos). En un cocrystal, la molécula de API y la molécula coformadora interactúan mediante puentes de hidrógeno y posiblemente otras interacciones no covalentes.

20 Para preparar cocrystalos del Compuesto A con ácido 6-hidroxi-2-naftoico, donde el Compuesto A es el API, se puede conseguir una gama de relaciones molares/estequiometrías de API-coformador, por ejemplo, una relación molar global de API:coformador de 1:1, aunque esto puede variar ligeramente, dependiendo, por ejemplo, de las mediciones de caracterización. En consecuencia, la invención proporciona un cocrystal del Compuesto A y la molécula coformadora ácido 6-hidroxi-2-naftoico con una relación molar del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico en el intervalo de 1:0.8 a 1:1.2. En un aspecto de la invención, se proporciona un cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico.

En un aspecto adicional de la invención, el cocrystal del Compuesto A con el ácido 6-hidroxi-2-naftoico está en una forma cristalina, la Forma A.

30 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico.

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 19.4°, medido utilizando radiación CuK α .

35 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 12.5°, medido utilizando radiación CuK α .

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en aproximadamente 2-theta = 19.4° y 12.5°, medido utilizando radiación CuK α .

40 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en aproximadamente 2-theta = 19.4, 12.5, 12.8, 18.1, 24.2, 23.4, 14.0, 18.6, 17.0 y 17.9°, medido utilizando radiación CuK α .

45 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD sustancialmente idéntico al patrón de XRPD que se muestra en la Figura I, medido utilizando radiación CuK α .

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = 19.4° \pm 0.2° 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

50 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = 12.5° \pm 0.2° 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

- De acuerdo con la presente invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en 2-theta = 19.4° y 12.5° donde dichos valores pueden ser $\pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .
- 5 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma A, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en 2-theta = 19.4, 12.5, 12.8, 18.1, 24.2, 23.4, 14.0, 18.6, 17.0 y 17.9°, donde dichos valores pueden ser $\pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .
- En un aspecto adicional de la invención, el cocrystal del Compuesto A con ácido 6-hidroxi-2-naftoico está en una forma cristalina, la Forma B. De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico.
- 10 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 15.2°, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 6.1°, medido utilizando radiación CuK α .
- 15 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en aproximadamente 2-theta = 15.2 y 6.1°, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en aproximadamente 2-theta = 15.2, 6.1, 16.8, 12.2, 26.1, 28.4, 18.3, 3.1 y 20.7°, medido utilizando radiación CuK α .
- 20 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD sustancialmente idéntico al patrón de difracción de rayos X de polvo que se muestra en la Figura K, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = 15.2° \pm 0.2° 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .
- 25 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = 6.1° \pm 0.2° 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en 2-theta = 15.2° y 6.1° \pm 0.2° 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .
- 30 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en 2-theta = 15.2, 6.1, 16.8, 12.2, 26.1, 28.4, 18.3, 3.1 y 20.7°, donde dichos valores pueden ser $\pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A con el ácido 6-hidroxi-2-naftoico está en una forma cristalina, la Forma C.
- 35 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico.
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 8.2°, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en aproximadamente 2-theta = 24.8°, medido utilizando radiación CuK α .
- 45 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en aproximadamente 2-theta = 8.2 y 24.8°, medido utilizando radiación CuK α .
- De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma B, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en aproximadamente 2-theta = 8.2, 24.8, 18.9, 29.0, 14.8, 15.5 y 16.3°, medido utilizando radiación CuK α .
- 50

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD sustancialmente idéntico al patrón de difracción de rayos X de polvo que se muestra en la Figura M.

5 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = $8.2^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos un pico específico en 2-theta = $24.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

10 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en 2-theta = 8.2 y $24.8^\circ \pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

15 De acuerdo con la invención, se proporciona una forma cristalina, la Forma C, del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, que tiene un patrón de XRPD con picos específicos en 2-theta = $8.2, 24.8, 18.9, 29.0, 14.8, 15.5$ y 16.3° , donde dichos valores pueden ser $\pm 0.2^\circ$ 2-theta, medido utilizando radiación CuK α .

20 Cuando se afirma que la invención se refiere a una forma cristalina del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, el grado de cristalinidad es convenientemente superior a aproximadamente un 60%, más convenientemente superior a aproximadamente un 80%, preferentemente superior a aproximadamente un 90% y más preferentemente superior a aproximadamente un 95%. De la forma más preferida, el grado de cristalinidad es superior a aproximadamente un 98%.

Se sobreentenderá que los valores 2-theta del patrón de difracción de rayos X de polvo pueden variar ligeramente de un instrumento a otro o de una muestra a otra y, por lo tanto, los valores indicados no se deben interpretar como absolutos.

25 Existe constancia de que se puede obtener un patrón de difracción de rayos X de polvo que tiene uno o más errores de medición dependiendo de las condiciones de medición (tales como el equipo o el instrumento empleado). En particular, existe constancia en general de que las intensidades en un patrón de difracción de rayos X de polvo pueden fluctuar dependiendo de las condiciones de medición. Por lo tanto, se sobreentenderá que el Compuesto A, Forma A, de la invención no se limita a los cristales que proporcionan patrones de difracción de rayos X de polvo idénticos al patrón de difracción de rayos X de polvo que se muestra en la Figura A, y que cualesquiera cristales que proporcionan patrones de difracción de rayos X de polvo sustancialmente idénticos a los que se muestran en la Figura A quedan incluidos en el alcance de la invención. De manera similar, se sobreentenderá que la Forma A del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico de la invención no se limita a los cristales que proporcionan patrones de difracción de rayos X de polvo idénticos al patrón de difracción de rayos X de polvo que se muestra en las Figuras C o I, y que cualesquiera cristales que proporcionan patrones de difracción de rayos X de polvo sustancialmente idénticos a los que se muestran en las Figuras C o I quedan incluidos en el alcance de la invención. De manera similar, se sobreentenderá que las Formas B y C del cocrystal (1:1) del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico de la invención no se limitan a los cristales que proporcionan patrones de difracción de rayos X de polvo idénticos al patrón de difracción de rayos X de polvo que se muestra en las Figuras K y M, respectivamente, y que cualesquiera cristales que proporcionan patrones de difracción de rayos X de polvo sustancialmente idénticos a los que se muestran en las Figuras K y M quedan incluidos en el alcance de la invención. Un experto en la técnica de la difracción de rayos X de polvo será capaz de juzgar la identidad sustancial entre patrones de difracción de rayos X de polvo.

45 Los expertos en la técnica de la difracción de rayos X de polvo sobreentenderán que la intensidad relativa de los picos se puede ver afectada, por ejemplo, por granos con un tamaño superior a 30 micras y relaciones entre las dimensiones no unitarias, lo cual puede afectar al análisis de las muestras. El experto también comprenderá que la posición de las reflexiones se puede ver afectada por la altura exacta a la cual se sitúa la muestra en el difractómetro y la calibración del cero del difractómetro. Puede que también tenga un pequeño efecto la planaridad de la superficie de la muestra. Así pues, los datos de los patrones de difracción presentados no se deben considerar como valores absolutos. (Jenkins, R y Snyder, R.L. 'Introduction to X-Ray Powder Diffractometry' John Wiley & Sons 1996; Bunn, C.W. (1948), Chemical Crystallography, Clarendon Press, Londres; Klug, H. P. y Alexander, L. E. (1974), X-Ray Diffraction Procedures).

50 Por lo general, un error de medición de un ángulo de difracción en un difractograma de rayos X de polvo es de aproximadamente $\pm 0.2^\circ$ 2-theta y dicho grado de error de medición debería tenerse en cuenta cuando se considera el patrón de difracción de rayos X de polvo en las Figuras A, C, I, K y M y cuando se lean las Tablas A-E (remítase al Ejemplo 1). Por otra parte, se debe sobreentender que las intensidades podrían fluctuar dependiendo de las condiciones experimentales y la preparación de la muestra (orientación preferida).

55 Los compuestos de Fórmula (I) incluyen uno o más centros quirales. En la medida en que una estructura o nombre químico de esta memoria descriptiva no indique la quiralidad, se pretende que la estructura o el nombre englobe cualquier estereoisómero único (es decir, cualquier isómero quiral único) que corresponde a esa estructura o nombre, así como también cualquier mezcla de estereoisómeros (p. ej., un racemato). En la técnica es muy conocida la manera

en la que se pueden preparar tales formas ópticamente activas. Por ejemplo, se puede obtener cualquier estereoisómero único aislándolo de una mezcla de isómeros (p. ej., un racemato) empleando, por ejemplo, la separación cromatográfica quirál. En otras realizaciones, se obtiene un único estereoisómero por síntesis directa a partir de, por ejemplo, un material de partida quirál.

- 5 Un enantiómero o diastereoisómero particular de un compuesto descrito en la presente puede ser más activo que otros enantiómeros o diastereoisómeros del mismo compuesto.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que es un único enantiómero con un exceso enantiomérico (% ee) $\geq 95\%$, $\geq 98\%$ o $\geq 99\%$. Convenientemente, un único enantiómero está presente con un exceso enantiomérico (% ee) $\geq 99\%$.

- 10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que es un único enantiómero con un exceso enantiomérico (% ee) comprendido en el intervalo de un 95 a un 100%.

- 15 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I) que es un único enantiómero con un exceso enantiomérico (% ee) $\geq 95\%$, $\geq 98\%$ o $\geq 99\%$, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, asociado con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptables. Convenientemente, el único enantiómero está presente con un exceso enantiomérico $\geq 99\%$.

- 20 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), que es un único enantiómero con un exceso enantiomérico (% ee) comprendido en el intervalo de un 95 a un 100%, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, asociado con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

Se pretende que la invención incluya todos los isótopos de los átomos que aparecen en los presentes compuestos. Se sobreentenderá que los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número másico. Por ejemplo, los isótopos del hidrógeno incluyen tritio y deuterio y los isótopos del carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C .

- 25 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se utiliza para especificar que un objeto (por ejemplo, una sal, forma farmacéutica, diluyente o portador) es adecuado para su uso en pacientes. Se puede consultar una lista a modo de ejemplo de sales farmacéuticamente aceptables en *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, P. H. Stahl y C. G. Wermuth, editores, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002. Una sal farmacéuticamente aceptable adecuada de un compuesto de Fórmula (I) es, por ejemplo, una sal de adición de ácido. Una sal de adición de ácido de un compuesto de Fórmula (I) se puede formar poniendo en contacto el compuesto con un ácido orgánico o inorgánico adecuado en condiciones conocidas por el experto. Una sal de adición de ácido se puede formar, por ejemplo, empleando un ácido inorgánico seleccionado a partir del grupo constituido por ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. Una sal de adición de ácido también se puede formar empleando un ácido orgánico seleccionado a partir del grupo constituido por ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido maleico, ácido oxálico, ácido acético, ácido fórmico, ácido benzoico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido metanosulfónico, ácido bencenosulfónico y ácido *para*-toluenosulfónico.
- 30
- 35

Se sobreentenderá que los compuestos de Fórmula (I), y sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden existir en formas solvatadas y no solvatadas. Por ejemplo, una forma solvatada puede ser una forma hidratada. Se debe sobreentender que la invención engloba todas estas formas solvatadas y no solvatadas.

- 40 Los compuestos de Fórmula (I) se pueden administrar en forma de un profármaco, que es un compuesto que se descompone en el cuerpo humano o animal para liberar el compuesto de la invención. Tales profármacos, farmacéuticamente aceptables, de compuestos de Fórmula (I) también forman un aspecto de la presente divulgación. Se conocen varias formas de profármacos en la técnica. Remítase a, por ejemplo,

a) Design of Pro-drugs, editado por H. Bundgaard, (Elsevier, 1985);

- 45 b) A Textbook of Drug Design and Development, editado por Krogsgaard-Larsen y

H. Bundgaard, Capítulo 5 "Design and Application of Pro-drugs", de H. Bundgaard, págs. 113-191 (1991);

c) H. Bundgaard, *Advanced Drug Delivery Reviews*, **8**, 1-38 (1992);

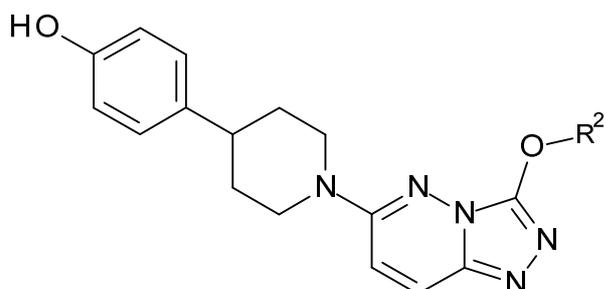
d) H. Bundgaard, *et al.*, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **77**, 285 (1988); y

e) N. Kakeya, *et al.*, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, 692 (1984).

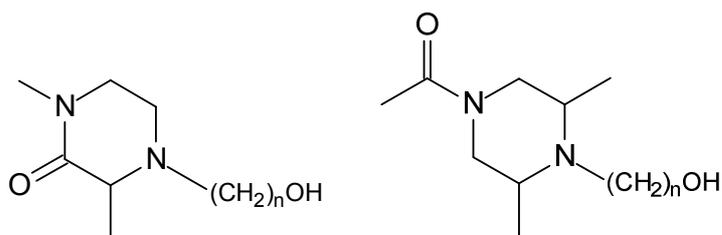
- 50 Otro aspecto de la invención proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables. Se ilustra un proceso adecuado mediante el siguiente proceso representativo en el que, a menos que se indique de otra forma, R^1 , R^2 y n tienen los significados definidos anteriormente en la presente. Los materiales de partida necesarios se pueden obtener mediante procedimientos estándar de química orgánica. La

preparación de tales materiales de partida se describe junto con las siguientes variantes representativas del proceso y en los Ejemplos adjuntos. De forma alternativa, los materiales de partida necesarios se pueden obtener mediante procedimientos análogos a los ilustrados y estos se encuentran dentro de las competencias de un químico orgánico.

- 5 Los compuestos de Fórmula (I) se generan convenientemente mediante una reacción de acoplamiento, por ejemplo, una reacción de un compuesto de Fórmula (II) con un compuesto de Fórmula (IIIa) o Fórmula (IIIb) en presencia de una trialquilfosfina, tal como trialquil tributilfosfina, y un reactivo de tipo diazeno, tal como (*E*)-diazeno-1,2-diilbis(piperidin-1-ilmetanona, en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y una temperatura adecuada, tal como 5 °C.



10 (II)



(IIIa)

(IIIb)

- 15 Los compuestos de Fórmula (II) se pueden generar, por ejemplo, mediante la reacción de un compuesto de Fórmula (IV) con 4-(piperidin-4-il)fenol en presencia de una base, tal como *N,N*-diisopropiletilamina, en un disolvente adecuado, tal como etanol, y a una temperatura adecuada, tal como 55 °C.

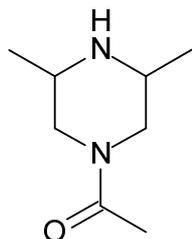


(IV)

Los compuestos de Fórmula (IV) se pueden generar, por ejemplo, mediante la reacción de 3-cloro-6-hidrazinilpiridazina con un tetrametoxialcano, tal como tetrametoximetano, a una temperatura adecuada tal como 90 °C.

- 20 Los compuestos de Fórmula (IIIa) se pueden generar haciendo reaccionar clorhidrato de 1,3-dimetilpiperazin-2-ona con 2-bromoetanol con una base, tal como carbonato de potasio, en un disolvente, tal como 2-metiltetrahydrofurano, a una temperatura adecuada, tal como 100 °C.

- 25 Los compuestos de Fórmula (IIIb) se pueden generar haciendo reaccionar 1-(3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (compuesto V) con 2-bromopropan-1-ol con una base, tal como carbonato de potasio, en un disolvente, tal como 2-metiltetrahydrofurano, a una temperatura adecuada, tal como 80 °C.



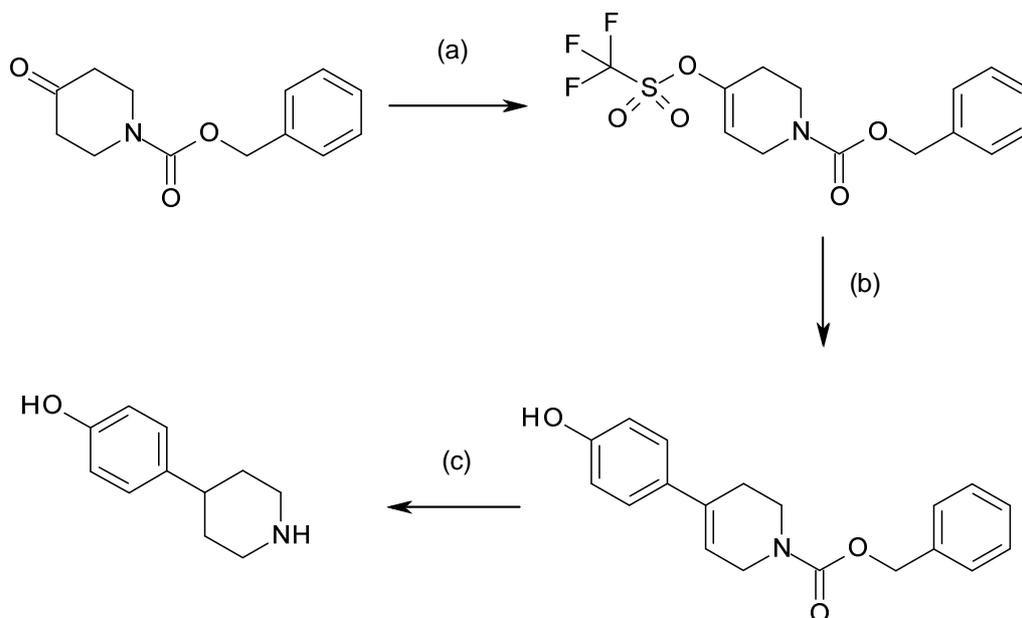
(V)

5

Se puede generar 1-(3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona haciendo reaccionar *N*-acetil-*N*-(2-(trifluorometil)fenil)acetamida con 2,6-dimetilpiperazina en un disolvente, tal como etanol, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.

Se puede generar *N*-acetil-*N*-(2-(trifluorometil)fenil)acetamida haciendo reaccionar cloruro de acetilo con 2-(trifluorometil)anilina y piridina en un disolvente adecuado tal como tolueno a una temperatura adecuada, tal como 50 °C.

Se puede generar 4-(piperidin-4-il)fenol, por ejemplo, de acuerdo con el siguiente esquema de reacción (Esquema 1)



10

Esquema 1

En el Esquema (1), se pueden utilizar las siguientes condiciones de reacción:-

15

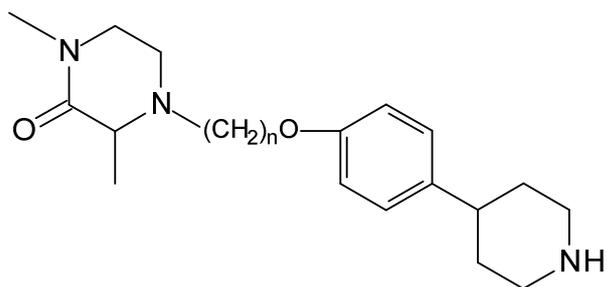
etapa (a): una base, tal como bis(trimetilsilil)amiduro de litio y un agente sulfonilante, tal como 1,1,1-trifluoro-*N*-fenil-*N*-(trifluorometilsulfonyl)metanosulfonamida, en presencia de un disolvente, tal como THF, a una temperatura adecuada, tal como entre -78 y 0 °C;

etapa (b): ácido 4-hidroxifenilborónico en presencia de un catalizador de paladio II, tal como 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodichloropaladio(II), una base, tal como carbonato de sodio y un disolvente, tal como dioxano-agua, a una temperatura adecuada, tal como 80 °C; y

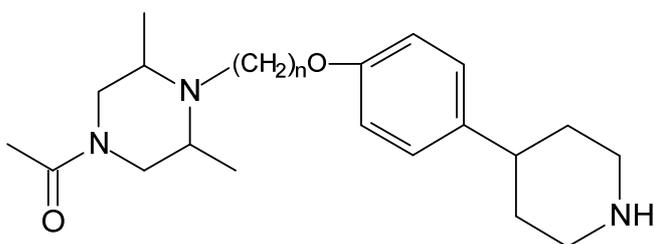
20

etapa (c) hidrógeno en presencia de un catalizador de hidrogenación, tal como paladio sobre carbón al 5%, en un disolvente, tal como metanol.

Los compuestos de Fórmula (I) también se pueden generar, por ejemplo, mediante la reacción de un compuesto de Fórmula (VIa) o un compuesto de Fórmula (VIb) con un compuesto de Fórmula (IV), tal como se ha descrito anteriormente, en presencia de una base, tal como trietilamina, en un disolvente adecuado, tal como dimetilformamida, y a una temperatura adecuada, tal como 56 °C.

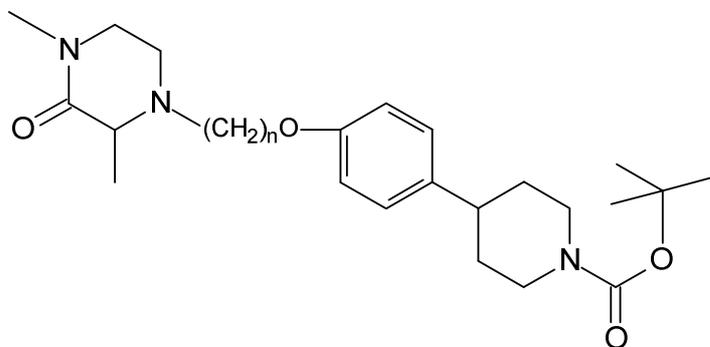


(VIa)



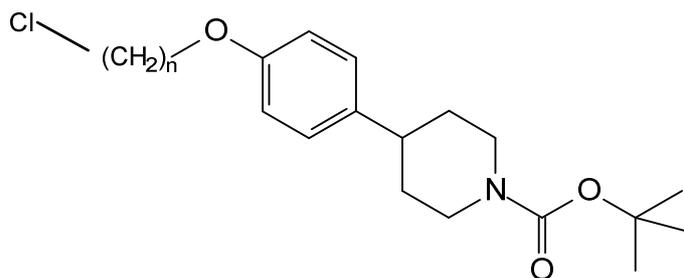
(VIb)

- 5 Los compuestos de Fórmula (VIa) se pueden generar haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (VIIa) con un ácido, tal como cloruro de hidrógeno, en presencia de un disolvente adecuado, tal como dioxano, y a una temperatura adecuada tal como 20 °C.



(VIIa)

- 10 Los compuestos de Fórmula (VIIa) se pueden generar haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (VIIIa) con 1,3-dimetilpiperazino-2-one en presencia de una base, tal como *N,N*-diisopropiletilamina, en presencia de un catalizador, tal como yoduro de potasio, y un disolvente, tal como dimetilacetamida, y a una temperatura adecuada, tal como 120 °C.

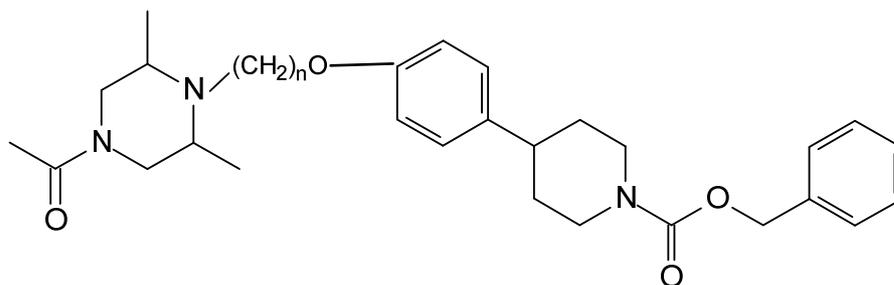


(VIIIa)

Los compuestos de Fórmula (VIIa) se pueden generar haciendo reaccionar 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo con 1-bromo-3-cloroalcano y una base, tal como carbonato de potasio, y un disolvente, tal como diclorometano, a una temperatura adecuada, tal como 80 °C.

5 Se puede generar 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo haciendo reaccionar 4-(piperidin-4-il)fenol (generado tal como se ha descrito anteriormente en la presente) con dicarbonato de di-*tert*-butilo en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada, tal como 0 °C.

Los compuestos de Fórmula (VIIb) se pueden generar haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (VIIb) en presencia de un disolvente adecuado, tal como metanol, y un catalizador adecuado, tal como paladio sobre carbón al 10%, en una atmósfera de hidrógeno.

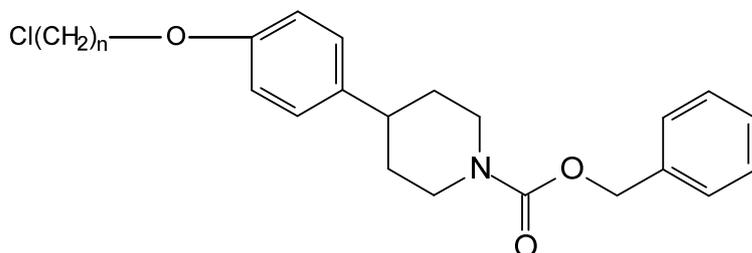


10

(VIIb)

Los compuestos de Fórmula (VIIb) se pueden generar haciendo reaccionar compuestos de Fórmula (VIIIb) con 1-(3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona, generada tal como se ha descrito anteriormente, en presencia de una base adecuada, tal como *N,N*-diisopropiletilamina, en presencia de un catalizador, tal como yoduro de potasio, y un disolvente, tal como dimetilacetamida, y a una temperatura adecuada, tal como 120 °C.

15



(VIIIb)

Los compuestos de Fórmula (VIIIb) se pueden generar haciendo reaccionar 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo con 1-bromo-3-cloroalcano y una base, tal como carbonato de potasio, y un disolvente, tal como diclorometano, a una temperatura adecuada, tal como 80 °C.

20

Se puede generar 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo haciendo reaccionar 4-(piperidin-4-il)fenol (generado tal como se ha descrito anteriormente en la presente) con cloroformiato de bencilo y DIPEA en un disolvente adecuado, tal como diclorometano, y a una temperatura adecuada.

Tal como se ha mencionado anteriormente, un aspecto de la invención es un cocrystal del Compuesto A con ácido 6-hidroxi-2-naftoico.

25

El cocrystal se puede preparar mezclando el Compuesto A en un disolvente adecuado con ácido 6-hidroxi-2-naftoico en un disolvente adecuado. Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para preparar un cocrystal del Compuesto A con ácido 6-hidroxi-2-naftoico, comprendiendo el método la etapa de mezclar una solución del Compuesto A, que está en un disolvente adecuado, con ácido 6-hidroxi-2-naftoico, que está en un disolvente adecuado. Los disolventes adecuados incluirían disolventes que solubilicen ambos componentes y que no formen solvatos ni con el Compuesto A ni con el ácido 6-hidroxi-2-naftoico. De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un cocrystal del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico que se puede obtener mediante las etapas de

30

i) mezclar una solución del Compuesto A en un disolvente adecuado con ácido 6-hidroxi-2-naftoico en un disolvente adecuado; y

35

ii) secar la mezcla resultante de la etapa (i) para obtener un sólido.

En un aspecto de la invención, el disolvente adecuado es metanol.

Se observó que el cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico tiene varias propiedades ventajosas en comparación con la forma de base libre del Compuesto A. En particular, se observó que es significativamente menos higroscópico que la base libre del Compuesto A. También se observó que el cocrystal es más estable que la base libre del Compuesto A cuando se expone a diversas condiciones de temperatura y humedad.

Ensayos biológicos

Los siguientes ensayos se utilizaron para evaluar los efectos de los compuestos de la presente invención.

Ensayo BROMOscan™ (de Discoverx)

Discoverx estudió la capacidad de los compuestos para unirse a una proteína con bromodominio utilizando su ensayo competitivo dirigido al sitio de unión del ligando patentado. Los compuestos suministrados se utilizaron de manera anónima.

El ensayo BROMOscan se basa en el principio de que los compuestos de prueba que se unen a la proteína con bromodominio previenen su unión a un ligando inmovilizado y, de esta manera, reducen la cantidad de proteína capturada sobre un soporte sólido. Por el contrario, las moléculas de prueba que no se unen al bromodominio no tienen ningún efecto en la cantidad de proteína capturada sobre el soporte sólido. Se identifican los "positivos" midiendo la cantidad de bromodominio capturado en la prueba frente a las muestras de control utilizando un método de qPCR cuantitativo, exacto y ultrasensible que detecta la etiqueta de ADN asociada. De manera similar, se calculan las constantes de disociación (Kd) para las interacciones entre el compuesto de prueba-bromodominio midiendo la cantidad de proteína con bromodominio capturada sobre el soporte sólido en función de la concentración del compuesto de prueba.

Ensayo Alpha-screen

Se estudió la capacidad de los compuestos para unirse a una proteína con bromodominio en un ensayo AlphaScreen®. El ensayo se basa en la interacción entre la proteína con bromodominio marcada con histidina, que se puede unir a microesferas donantes con un quelato de níquel, y un péptido de acetilisina biotinilado correspondiente a una secuencia de aminoácidos de histona, que se puede unir a microesferas aceptoras conjugadas con estreptavidina. La interacción proteína-péptido se puede detectar mediante la emisión de luz a 520-620 nm. En presencia de los compuestos que se unen a BRD4, se observa una señal menor ya que la interacción proteína-péptido se reduce.

1. El ensayo se realizó de la siguiente manera: -se utilizaron placas con el compuesto de Greiner BioOne (n.º de cat. 784075). Los compuestos se prepararon utilizando el dispensador acústico Echo de Labcyte con los compuestos en un volumen final de 40 nL por pocillo normalizados respecto a un 0.5% (v/v) de DMSO en condiciones del ensayo final. Los compuestos se estudiaron en un formato de respuesta a la concentración de 12 puntos realizado una sola vez.

2. Se añadieron 4 µL de proteína BRD4 (6His-TEV-BRD4, residuos de aminoácidos 42-169, que corresponden al dominio BD1) (concentración final del ensayo = 50 nM) por pocillo utilizando la estación de trabajo con microfluidos BioRAPTR® Flying Reagent Dispenser de Beckman Coulter.

3. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente.

4. Se añadieron 4 µL del péptido acetilisina (H4K5,8,12,16(Ac)₄-biotina:(NH₂-) YSGRG(K-Ac)GG(K-Ac)GLG(K-Ac)GGA(K-Ac)RHR(K-Biotina)(-COOH)) (concentración final del ensayo = 50 nM) por pocillo utilizando la estación de trabajo con microfluidos BioRAPTR® Flying Reagent Dispenser de Beckman Coulter.

5. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente.

6. Se añadieron 4 µL de una solución premezclada de microesferas con estreptavidina y níquel (microesferas suministradas por Perkin Elmer) por pocillo utilizando el BioRaptr como anteriormente (concentración final del ensayo = 4 µg/mL). Se mantuvieron las placas en la oscuridad después de la adición.

7. Se incubaron durante 60 minutos a temperatura ambiente manteniendo la placa de ensayo en la oscuridad.

8. A continuación, se leyeron las placas utilizando el lector de placas Envision de Perkin Elmer, excitación por láser a 680 nm y emisión detectada a 520-620 nm.

9. Se analizaron los datos utilizando el software Genedata y se calcularon los valores de CI₅₀.

Ensayo antiproliferativo

Se evaluó el efecto antiproliferativo de los compuestos mediante el ensayo AlamarBlue en células MM1.S que se obtuvieron originalmente a partir de un paciente con mieloma múltiple. Este ensayo se basa en la Resazurina, un tinte indicador no fluorescente que se convierte en resofurina fluorescente rojo brillante mediante las reacciones de reducción de las células metabólicamente activas. La cantidad de fluorescencia producida es proporcional al número de células vivas. Las células MM.1S se cultivan en medio RPMI-1640 (Gibco®) más un 10% de suero bovino fetal (FBS) y L-glutamina 1 mM. 12-24 horas antes de añadir la dosis del compuesto, se sembraron 90 µL de una suspensión celular (18 750 células) en placas de microvaloración de 96 pocillos (negras, fondo plano). El día en el que se añadió el compuesto, los compuestos se diluyeron 1:3 en serie en DMSO al 100% utilizando 2-10 columnas de una placa de microvaloración de 96 pocillos. La columna 11 de la placa en serie del compuesto contuvo únicamente DMSO. A continuación, todos los pocillos se diluyeron adicionalmente 1:30 con medio. Se añadieron 10 µL de compuesto o DMSO solo en medio por triplicado en las columnas 2-11 de las placas con las células. Además, en 1 placa se añadieron 10 µL de medio y se reveló utilizando AlamarBlue. Las placas que se revelaron el día de la adición del compuesto se denominaron Día 0. Las placas a las que se les habían añadido dosis se cultivaron 3 días en condiciones normales (RPMI-1640 más un 10% de FBS y L-glutamina 1 mM). Después de 3 días de cultivo, las placas a las que se les habían añadido dosis se revelaron utilizando MTS o AlamarBlue. Para cada concentración del compuesto, se calculó el % de crecimiento neto mediante

(Pocillo al que se le añadió una dosis el Día 3-Promedio del Día 0)/(Promedio del control con DMSO del Día 3-Promedio del Día 0).

Se calculó la IG₅₀, la concentración que provoca un 50% de inhibición del crecimiento, de cada compuesto utilizando el % del crecimiento neto tal como lo define el Instituto Nacional del Cáncer (NCI, por sus siglas en inglés).

Ensayo para monitorizar la modulación de la proteína cMyc

Se cultivaron células MM1.S de mieloma múltiple en medio RPMI-1640 que contenía un 10% de FBS y un 1% de L-glutamina en condiciones estandarizadas en una incubadora humidificada (37°C y un 5% de CO₂). Se evaluó el impacto de la modulación de la proteína cMyc inducida por los inhibidores de bromodominios tiñendo y cuantificando el nivel de la proteína cMyc después del tratamiento del compuesto utilizando un ensayo con un citómetro de flujo, que se llevó a cabo en un formato con placa de 96 pocillos con 200 000 células por pocillo. Las células se trataron con los compuestos diluidos en serie 16 horas antes de fijarlos con paraformaldehído al 2% (concentración final) durante 10 minutos a 37 °C. Después de haberlas permeabilizado con metanol al 90% enfriado con hielo a 4 °C durante 30 min, las células se lavaron, se bloquearon con tampón (FBS al 0.5% en tampón salino tamponado con fosfato (PBS)) durante 10 minutos a temperatura ambiente y se tiñeron con un anticuerpo contra cMyc durante 1 hora (Cell Signaling Technology® 5605, dilución 1:200). Las células se lavaron y tiñeron incubándolas con anticuerpo anti-IgG de conejo conjugado con Alexa-488 (Cell Signaling Technology® n.º 4412, dilución 1:1000) a TA durante 30 minutos. Después de la tinción, las células se lavaron de nuevo y se fijaron con paraformaldehído al 2% en PBS y estuvieron listas para el análisis mediante el citómetro de flujo BD FACSCalibur™. La media geométrica de la fluorescencia se calculó mediante FlowJo (TreeStar Inc), la señal de inhibición máxima se determinó mediante un tratamiento con el compuesto de control con una dosis elevada a lo largo de cada placa, y se determinó una señal de inhibición mínima mediante tratamiento con DMSO. Se calculó la CI₅₀ ajustando los puntos de los datos dosis-respuesta que se normalizan contra las señales máx y mín como porcentaje de la inhibición utilizando un modelo de regresión no lineal logística de 4 parámetros estándar.

Aunque las propiedades farmacológicas de los compuestos de Fórmula (I) varían con los cambios estructurales, como era de esperar, en general se puede demostrar la actividad que poseen los compuestos de Fórmula (I) para las siguientes concentraciones o dosis en una o más de las pruebas anteriores.

Se generaron los siguientes datos para los Ejemplos (los datos a continuación pueden ser el resultado de un único experimento o un promedio de múltiples experimentos repetidos):

45 Tabla X

Ejemplo	CI ₅₀ para BRD4(1) mediante Alpha screen/ µM	K _D mediante DiscoverX/ µM							
		BRD4(1)	BRD4(2)	BRD2(1)	BRD2(2)	BRD3(1)	BRD3(2)	BRDT(1)	BRDT(2)
1	0.12 (n=2)	0.047 (n=2)	0.13 (n=4)	0.10 (n=2)	0.28 (n=2)	0.064 (n=2)	0.43 (n=2)	0.095 (n=2)	0.45 (n=2)
2	0.035 (n=2)	0.026 (n=6)	0.29 (n=6)	0.083 (n=2)	0.35 (n=2)	0.057 (n=2)	0.92 (n=2)	0.035 (n=2)	1.1 (n=2)

3	0.30 (n=2)	0.11 (n=2)	0.34 (n=4)	0.16 (n=2)	0.53 (n=2)	0.11 (n=2)	0.67 (n=2)	0.093 (n=2)	0.99 (n=2)
4	0.14 (n=4)	0.057 (n=2)	0.25 (n=2)						

Número de repeticiones en paréntesis

Tabla Y

Ejemplo	IG ₅₀ antiproliferativa con MM1.S/ µM	Cl ₅₀ "MoA" con MM1.S/ µM
1	0.0049 (n=9)	0.011 (n=12)
2	<0.0020 (n=3)	<0.0020 (n=4)
3	0.0075 (n=2)	0.025 (n=1)
4	0.0051 (n=3)	0.012 (n=2)

Número de repeticiones en paréntesis

Modelos de xenoinjerto

- 5 También se investigó el Compuesto A en un modelo de xenoinjerto tal como se describe a continuación.

Se obtuvieron ratones hembra CB17 SCID con una edad entre 6 y 8 semanas de Charles River Laboratories (Wilmington, MA) y se mantuvieron en condiciones exentas de patógenos específicos en una instalación acreditada por la AAALAC (siglas en inglés de la Asociación para la Evaluación y Acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio). Se les proporcionó alimentos irradiados y agua autoclavada sin límites.

- 10 Las células MV-4-11 (Consortio Americano para el Cultivo Tisular) se resuspendieron en 0.1 mL de medio sin suero y Matrigel (Becton Dickinson) con una relación 1:1. Se inyectaron las células (10⁷/ratón) subcutáneamente en el costado derecho de los ratones. Se permitió que los tumores crecieran hasta que alcanzaron un volumen promedio de 200 mm³ para determinar la eficacia y a continuación, se distribuyeron de manera aleatoria los ratones en grupos de 8. El compuesto A se solubilizó en HPMC al 0.5%/Tween80 al 0.1% para la administración de las dosis. Para determinar la eficacia, se administró por vía oral el Compuesto A o el vehículo una vez al día (qd) durante 21 días con una cantidad de 10 mg/kg (mpk). Se midieron el peso corporal y el volumen tumoral dos veces a la semana durante 21 días. Los resultados se muestran en la Figura E y demuestran el efecto del Compuesto A sobre el volumen tumoral.

- 20 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, según se ha definido en la presente, asociado con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable. De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, según se ha definido en la presente, asociado con un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

- 25 Las composiciones de la invención pueden estar en una forma adecuada para uso oral (por ejemplo, en forma de comprimidos, grageas, cápsulas duras o blandas, suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones, polvos o gránulos dispersables, jarabes o elixires), para uso tópico (por ejemplo, en forma de cremas, pomadas, geles, o soluciones o suspensiones acuosas u oleosas), para administración por inhalación (por ejemplo, en forma de un polvo finamente dividido o un aerosol líquido), para administración por insuflación (por ejemplo, en forma de un polvo finamente dividido) o para administración parenteral (por ejemplo, en forma de una solución acuosa u oleosa estéril para la administración de dosis intravenosa, subcutánea, intramuscular o intramuscular o en forma de un supositorio para la administración de dosis rectal). En un aspecto de la invención, la composición farmacéutica de la invención es una composición adecuada para el uso oral.

- 30 Las composiciones de la invención se pueden obtener mediante procedimientos habituales, utilizando excipientes farmacéuticos habituales de uso común en la técnica. Por lo tanto, las composiciones destinadas al uso oral pueden contener, por ejemplo, uno o más agentes colorantes, edulcorantes, saborizantes y/o conservantes.

- 35 Para obtener más información sobre la formulación, se remite al lector al Capítulo 25.2 del Volumen 5 de Comprehensive Medicinal Chemistry (Corwin Hansch; Director del Comité editorial), Pergamon Press 1990.

El compuesto de Fórmula (I) o el cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se administrará normalmente a un animal de sangre caliente con una dosis unitaria comprendida en el intervalo entre 5 y 5000 mg/m² de área corporal del animal, es decir, aproximadamente entre 0.1 y 100 mg/kg, y esto normalmente proporciona una dosis

5 terapéuticamente eficaz. Una forma de dosis unitaria, tal como un comprimido o una cápsula, contendrá habitualmente, entre 0.5 mg y 250 mg y, por lo tanto, entre 1 y 250 mg de principio activo. La dosis diaria necesariamente variará dependiendo del animal o paciente hospedador tratado, la vía concreta de administración y la gravedad de la enfermedad que está siendo tratada. Por consiguiente, el facultativo médico que esté tratando cualquier animal o
 10 paciente concreto puede determinar la dosificación óptima. Los compuestos o cocristales de la presente invención son potencialmente valiosos como agentes antiproliferativos y/o agentes aniquiladores de células con el objeto de confinar y/o tratar distintos cánceres hematológicos (también denominados cánceres líquidos) y una enfermedad de tipo tumor sólido. Especialmente, los compuestos o cocristales de la invención se espera que sean útiles en la prevención o
 15 tratamiento de aquellos tumores que están asociados con la amplificación de una o más de las proteínas que contienen bromodominios de la familia BET, convenientemente la amplificación de BRD4, o que dependen de oncogenes clave que pueden ser regulados por una o más de las proteínas que contienen bromodominios de la familia BET, convenientemente BRD4, por ejemplo, cáncer de ovario, leucemia mieloide aguda y de linaje mixto (AML), mieloma múltiple (MM), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL, por sus siglas en inglés), cáncer de próstata resistente a la castración (CRPC, por sus siglas en inglés), cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC, por sus siglas en inglés),
 20 cáncer de pulmón microcítico (SCLC, por sus siglas en inglés), cáncer de mama, glioblastoma y neuroblastoma.

Se pretende que el término "tratamiento" tenga su significado normal de tratamiento de una enfermedad con el fin de aliviar completa o parcialmente alguno o todos sus síntomas, o de corregir o compensar la patología subyacente. El término "terapia" también incluye la "profilaxis" a menos que se indique específicamente lo contrario. Los términos "terapéutico" y "terapéuticamente" se deben interpretar en consecuencia.

20 Se pretende que el término "profilaxis" tenga su significado normal e incluye la profilaxis primaria para prevenir el desarrollo de la enfermedad y la profilaxis secundaria donde la enfermedad ya se ha desarrollado y el paciente está temporal o permanentemente protegido contra la exacerbación o empeoramiento de la enfermedad o el desarrollo de nuevos síntomas asociados con la enfermedad.

25 El término "tratamiento" se utiliza indistintamente con "terapia". De manera similar, el término "tratar" se puede considerar como "aplicar una terapia" donde la "terapia" es tal como se define en la presente.

La expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto de Fórmula (I) o cocrystal tal como se describe en cualquiera de las reivindicaciones de la presente que es eficaz para proporcionar potencialmente una terapia a un sujeto. En el caso del cáncer, la cantidad eficaz puede provocar cualquiera de los cambios observables o medibles en un sujeto tal como se ha descrito en la definición de la "terapia", "tratamiento" y "profilaxis". Por ejemplo, la cantidad
 30 eficaz puede reducir potencialmente el número de células cancerosas o tumorales; reducir potencialmente el tamaño tumoral global; inhibir o detener potencialmente la infiltración de las células tumorales en los órganos periféricos incluidos, por ejemplo, los tejidos blandos y el hueso; inhibir y detener potencialmente la metástasis tumoral; inhibir y detener potencialmente el crecimiento tumoral; aliviar potencialmente en cierta medida uno o más de los síntomas asociados con el cáncer; reducir potencialmente la morbimortalidad; mejorar potencialmente la calidad de vida o una combinación de tales efectos. Una cantidad eficaz puede ser una cantidad suficiente para reducir los síntomas de una enfermedad sensible a la inhibición de una o más proteínas que contienen bromodominios. Para la terapia contra el
 35 cáncer, la eficacia *in vivo* se puede medir, por ejemplo, evaluando la duración de la supervivencia, el tiempo hasta el avance de la enfermedad (TTP, por sus siglas en inglés), las tasas de respuesta (RR, por sus siglas en inglés), la duración de la respuesta y/o la calidad de vida.

40 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del compuesto de Fórmula (I):coformador, convenientemente un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en la terapia.

45 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para la producción de un medicamento.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso como un medicamento en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

50 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en la generación de un efecto antiproliferativo o aniquilador de células en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

55 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en la generación de un efecto antiproliferativo o aniquilador de células en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para la generación de un efecto antiproliferativo o aniquilador de células en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un método para producir un efecto antiproliferativo o aniquilador de células en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, según se ha definido anteriormente en la presente.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en la prevención o tratamiento del cáncer en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

15 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en la prevención o tratamiento del cáncer en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

20 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un método para la prevención o tratamiento del cáncer en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente.

25 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en la prevención o tratamiento de los cánceres hematológicos (también denominados cánceres líquidos) y cánceres sólidos en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

30 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en la prevención o tratamiento de cánceres hematológicos y sólidos en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

35 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un método para la prevención o tratamiento de cánceres hematológicos y sólidos en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente.

40 Un aspecto de la invención proporciona compuestos de Fórmula (I) que inhiben potencialmente una o más proteínas que contienen bromodominios, es decir, las proteínas que contienen bromodominios de la familia BET, y tales como BRD2, BRD3, BRD4 y BRDt y, adecuadamente, BRD4. Convenientemente, tales compuestos pueden ser útiles para el tratamiento de un trastorno proliferativo tal como el cáncer en un paciente, donde el trastorno proliferativo es un trastorno mediado por proteínas que contienen bromodominios. Con la expresión "trastorno mediado por proteínas que contienen bromodominios" se hace referencia a cualquier enfermedad u otra afección dañina en la cual se sabe que una o más de las proteínas que contienen bromodominios desempeñan una función.

45 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en la prevención o tratamiento de un cáncer dependiente de BET en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

Con la expresión "cáncer dependiente de BET" los autores hacen referencia a cualquier cáncer en el cual una o más proteínas que contienen bromodominios de la familia BET, tales como BRD2, BRD3, BRD4 y BRDt, desempeñan una función.

50 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente, para su uso en la prevención o tratamiento de un cáncer dependiente de BRD4 en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

55 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha

definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en la prevención o tratamiento de un cáncer dependiente de BET en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en la prevención o tratamiento de un cáncer dependiente de BRD4 en un animal de sangre caliente tal como el hombre.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un método para la prevención o tratamiento de cáncer dependiente de BET en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente.

15 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un método para la prevención o tratamiento de cáncer dependiente de BRD4 en un animal de sangre caliente, tal como el hombre, que necesite tal tratamiento que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente.

20 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en el suministro de un efecto inhibidor de una o más proteínas que contienen bromodominios de la familia BET.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, para su uso en el suministro de un efecto inhibidor de BRD4.

25 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en el suministro de un efecto inhibidor de una o más proteínas que contienen bromodominios de la familia BET.

30 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, en la producción de un medicamento para su uso en el suministro de un efecto inhibidor de BRD4.

35 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un método para proporcionar un efecto inhibidor sobre una o más de las proteínas que contienen bromodominios de la familia BET que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, según se ha definido anteriormente en la presente.

40 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente divulgación, se proporciona un método para proporcionar un efecto inhibidor sobre BRD4 que comprende administrar a dicho animal una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, según se ha definido anteriormente en la presente.

El cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico puede estar en la Forma A, B o C, tal como se define en la presente y, convenientemente, está en la Forma A.

45 El tratamiento contra el cáncer descrito en la presente se puede aplicar como una monoterapia o puede conllevar, además de los compuestos de la invención inmunoterapia o quimioterapia o radioterapia o cirugía tradicional. Tal quimioterapia se puede administrar a la vez, simultánea, secuencialmente o por separado respecto al tratamiento con el compuesto de la invención.

50 Cuando se emplea una terapia combinada, la cantidad del compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o el cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico descrito en esta memoria descriptiva y la cantidad del otro agente o agentes farmacéuticamente activos son, cuando se combinan, eficaces conjuntamente para tratar un trastorno objetivo en el paciente animal. En este contexto, las cantidades combinadas están en una "cantidad terapéuticamente eficaz" si, cuando se combinan, son suficiente para disminuir los síntomas de una enfermedad sensible a la inhibición de una o más proteínas que contienen bromodominios. Normalmente, tales cantidades pueden ser determinadas por un experto en la técnica, por ejemplo, partiendo del intervalo posológico descrito en esta memoria descriptiva para el compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico tal como se define en la presente y un intervalo

55

o intervalos posológicos aprobados o publicados de otra manera del compuesto o compuestos farmacéuticamente activos.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un producto farmacéutico que comprende el compuesto de Fórmula (I) y una sustancia antitumoral adicional para el tratamiento conjunto del cáncer.

- 5 En un aspecto de este tipo de la invención, se proporciona un producto farmacéutico que comprende el compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, tal como se ha definido anteriormente en la presente, y un agente antitumoral adicional para el tratamiento conjunto del cáncer.

En tales aspectos el producto farmacéutico comprende un compuesto de Fórmula (I) y un coformador en forma de un cocrystal.

- 10 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un producto farmacéutico que comprende un cocrystal del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, tal como se ha definido anteriormente en la presente, y una sustancia antitumoral adicional para el tratamiento conjunto del cáncer.

Tal tratamiento conjunto puede conllevar uno o más de los siguientes agentes antitumorales:-

- 15 (i) fármacos antiproliferativos/antineoplásicos y sus combinaciones, tales como los empleados en la oncología médica, tales como agentes alquilantes (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalán, clorambucil, busulfán, temozolamida y nitrosoureas); antimetabolitos (por ejemplo, gemcitabina y antifolatos tales como fluoropirimidinas como 5-fluorouracilo, pemetrexel y tegafur, raltitrexed, metotrexato, arabinósido de citosina e hidroxiurea); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas tales como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina y mitramicina); e inhibidores de topoisomerasas (por ejemplo, epipodofilotoxinas como etopósido y tenipósido, amsacrina, topotecán y camptotecina e irinotecán); inhibidores de mecanismo de reparación del ADN tales como CHK cinasa; inhibidores de proteínas cinasas dependientes del ADN; inhibidores de poli(ADP-ribosa)-polimerasa (inhibidores de PARP, incluido olaparib); e inhibidores de Hsp90 tales como tanespimicina y retaspimicina.

- 20 (ii) compuestos que inhiben el avance del ciclo celular tales como agentes antimitóticos (por ejemplo, alcaloides de la vinca como vincristina, vinblastina, vindesina y vinorelbina; eptilonas tales como ixabepilona y patupilona; taxoides como taxol, taxotere y docetaxel; inhibidores de cinasas semejantes a polo; e inhibidores de proteínas motoras de tipo cinesina tales como los inhibidores de la proteína Eg5); inhibidores de aurora cinasas (por ejemplo, AZD1152, PH739358, VX-680, MLN8054, R763, MP235, MP529, VX-528 y AX39459); e inhibidores de cinasas dependientes de ciclinas tales como inhibidores de CDK2 y/o CDK4; e inhibidores de la función de las proteínas centroméricas tales como inhibidores de CENP-E;

- 25 (iii) agentes citostáticos que alteran el crecimiento dependiente de hormonas tales como antiestrógenos (por ejemplo, tamoxifeno, fulvestrant, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno e iodoxifeno), antiandrógenos (por ejemplo, bicalutamida, flutamida, nilutamida y acetato de ciproterona), antagonistas de LHRH o agonistas de LHRH (por ejemplo, goserelina, leuprorelina y buserelina), progestágenos (por ejemplo, acetato de megestrol), inhibidores de la aromatasas (por ejemplo, como anastrozol, letrozol, vorazol y exemestano); inhibidores de la 5 α -reductasa tales como finasteride e inhibidores de CYP17A1 tales como abiraterona;

- 30 (iv) agentes antiinvasivos, por ejemplo, inhibidores de la familia de cinasas c-Src como AZD0530 (saracatinib); dasatinib ((BMS-354825), *J. Med. Chem.*, 2004, 47, 6658-6661) y bosutinib (SKI-606) e inhibidores de metaloproteinasas como marimastat, inhibidores de la función del receptor activador del plasminógeno urocina o anticuerpos contra la heparansa; inhibidores de FAK o cinasa de adhesión focal; inhibidores que son moléculas de bajo peso molecular del receptor cinasa MET (por ejemplo, volitinib/AZD6904); anticuerpos contra el receptor cinasa MET o el factor de crecimiento de hepatocitos, ligando de MET (por ejemplo, onartuzumab);

- 35 (v) inhibidores de la función del factor de crecimiento: por ejemplo, tales inhibidores incluyen anticuerpos contra el factor de crecimiento, anticuerpos contra el receptor del factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab [Herceptin™], el anticuerpo anti-EGFR panitumumab, el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab [Erbix, C225] y cualquiera de los anticuerpos contra el factor de crecimiento o el receptor del factor de crecimiento divulgados por Stern *et al. Critical reviews in oncology/haematology*, 2005, Vol. 54, págs. 11-29); tales inhibidores también incluyen inhibidores de tirosina cinasas, por ejemplo, inhibidores de la familia del factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, inhibidores de la familia EGFR de tirosina cinasas tales como gefitinib (ZD1839), erlotinib (OSI-774) y CI 1033, inhibidores de la tirosina cinasa erbB2 tales como lapatinib; inhibidores de ervB1/2 mixtos tales como afatinib; e inhibidores irreversibles de EGFR y Her2 tales como HKI-272, inhibidores irreversibles de EGFR tales como AZD9291; inhibidores de la familia del factor de crecimiento de hepatocitos y sus receptores; inhibidores de la familia del factor de crecimiento insulínico que incluyen inhibidores de cinasas que son moléculas de bajo peso molecular y anticuerpos dirigidos contra los factores de crecimiento de tipo insulínico y receptores del factor de crecimiento de tipo insulínico;
- 40 inhibidores de la familia de factores de crecimiento derivados de trombocitos y sus receptores tales como imatinib y/o nilotinib (AMN107); inhibidores de c-kit, inhibidores de AnLK, inhibidores de la cinasa FIt3, inhibidores de la cinasa c-abl e inhibidores de la cinasa TRK o CSF-1R;

- (vi) inhibidores de las cinasas de la transducción de señales como FGFR (por ejemplo, AZD4547), PIM (por ejemplo, AZD1208), MEK (por ejemplo, Selumetinib (AZD6244), AKT (por ejemplo, AZD5363), inhibidores de cinasas TOR (que incluyen TORC1 y TORC2, por ejemplo, AZD2014) e inhibidores de la PI3-cinasa, que incluyen isoformas tales como PI3K- α , PI3K- β o PI3K- δ (por ejemplo, AZD8186); inhibidores de serina/treonina-cinasas tales como cinasas Ras o Raf (por ejemplo, sorafenib o vemurafenib); inhibidores de PDK, SGK, PI4K o PIP5K, JAK, STAT (que incluye STAT3, del cual es un inhibidor AZD9150) e IRAK4; inhibidores de ATR (por ejemplo, AZD6738) o inhibidores de ATM; inhibidores de BTK tales como ibrutinib, inhibidores de SYK tales como fostamatinib, e inhibidores de cinasas dependiente de ciclinas; inhibidores de la farnesil-transferasa tales como tipifarnib (R115777) lonafarnib (SCH66336) e inhibidores de la cinasa Wee-1 (por ejemplo, AZD1775 tal como se describe en el documento WO2007/126128);
- (vii) agentes antiangiogénicos tales como aquellos que inhiben los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular, por ejemplo, el anticuerpo contra el factor del crecimiento celular endotelial antivascular bevacizumab [Avastin™] y, por ejemplo, un inhibidor del receptor tirosina cinasa del VEGF tal como vandetanib (ZD6474), sorafenib, vatalanib (PTK787), sunitinib (SU11248), axitinib (AG-013736), pazopanib (GW 786034) y cediranib (AZD2171), compuestos tales como aquellos divulgados en los documentos WO97/22596, WO97/30035, WO97/32856 y WO98/13354 y compuestos con otros mecanismos de acción (por ejemplo, linomida, inhibidores de la función de la integrina $\alpha\beta 3$ y angioestatina);
- (viii) agentes que provocan daño vascular como Combretastatina A4 y los compuestos divulgados en los documentos WO99/02166, WO00/40529, WO00/41669, WO01/92224, WO02/04434 y WO02/08213;
- (ix) terapias antisentido, por ejemplo, aquellas relacionadas con las dianas mencionadas anteriormente, tales como ISIS 2503, un antisentido anti-ras;
- (x) estrategias de terapia génica que incluyen, por ejemplo, estrategias para reemplazar genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrante, GDEPT (siglas en inglés de terapia mediante profármacos y enzimas de genes dirigidos) tales como aquellas que emplean la citosina-desaminasa, timidina-cinasa o una enzima bacteriana de tipo nitrorreductasa y estrategias para aumentar la tolerancia del paciente a la quimioterapia o radioterapia tales como la terapia génica para la resistencia a múltiples fármacos;
- (xi) estrategias de inmunoterapia que incluyen, por ejemplo, las estrategias *ex vivo* e *in vivo* para aumentar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tales como la transfección con citocinas tales como la interleucina 2, interleucina 4 o factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; estrategias para reducir la anergia de los linfocitos T o la función reguladora de los linfocitos T; estrategias para estimular la respuesta de los linfocitos T a los tumores, tales como anticuerpos bloqueantes contra CTLA4 (por ejemplo, ipilimumab y tremelimumab), B7H1, PD-1 (por ejemplo, BMS-936558 o MEDI-4736) y anticuerpos agonistas contra CD137; estrategias que emplean células inmunitarias transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citocinas; estrategias que emplean líneas de células tumorales transfectadas con citocinas, estrategias que utilizan anticuerpos contra antígenos asociados a tumores y anticuerpos que hacen disminuir tipos de células diana (p. ej., anticuerpos anti-CD20 no conjugados tales como Rituximab, los anticuerpos anti-CD20 radiomarcados Bexxar y Zevalin, y el anticuerpo anti-CD54 Campath); pauta de quimioterapia R-CHOP (Rituximab junto con ciclofosfamida, clorhidrato de doxorubicina, vincristina sulfato y prednisona); estrategias que utilizan anticuerpos antiidiopáticos; estrategias que estimulan la función de los linfocitos citolíticos naturales; y estrategias que utilizan los conjugados anticuerpo-toxina (p. ej., el anticuerpo anti-CD33 Mylotarg); inmunotoxinas tales como moxetumumab pasudotox; agonistas del receptor de tipo toll 7 o del receptor de tipo toll 9;
- (xii) inhibidores de la degradación proteica mediada por el complejo endopeptidásico multicatalítico que incluyen, sin carácter limitante, inhibidores del complejo endopeptidásico multicatalítico Velcade™ (Bortezomib) o carfilzomib, inhibidores de ubiquitina lipasas, inhibidores de ubiquitina-proteasas, inhibidores de la nedilación de proteínas e inhibidores de la sumolización de proteínas; y
- (xiii) otros agentes de tratamiento habituales tales como ciclofosfamida, prednisona, lenalidomida o talidomida.
- De acuerdo con este aspecto de la invención se proporciona una combinación adecuada para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un agente antitumoral adicional, en particular cualquiera de los agentes antitumorales enumerados anteriormente en (i)-(xiii).
- De acuerdo con este aspecto de la invención se proporciona una combinación adecuada para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende un cocrystal del Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico y un agente antitumoral adicional, en particular cualquiera de los agentes antitumorales enumerados anteriormente en (i)-(xiii).
- En un aspecto adicional de la invención se proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables combinado con un agente antitumoral adicional, en particular un agente antitumoral seleccionado entre los enumerados anteriormente en (i)-(xiii).
- En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un cocrystal del Compuesto A: Ácido 6-hidroxi-2-naftoico combinado con un agente antitumoral adicional, en particular un agente antitumoral seleccionado entre los enumerados anteriormente en (i)-(xiii).

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un kit que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, combinado con un agente antitumoral. En ciertas realizaciones, el kit comprende adicionalmente instrucciones para el uso de dicho compuesto o compuestos o cocrystal.

5 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, se proporciona un kit que comprende:

a) un compuesto de Fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o un cocrystal del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico en una primera forma farmacéutica unitaria;

b) un agente antitumoral adicional en una segunda forma farmacéutica unitaria; y

c) un medio de envase para contener dichas primera y segunda formas farmacéuticas.

10 La invención se ilustrará a continuación mediante los siguientes ejemplos en los cuales, generalmente:

(i) las temperaturas se proporcionan en grados Celsius (°C); a menos que se indique de otra forma, las operaciones se llevaron a cabo a temperatura ambiente, es decir, a una temperatura en el intervalo de 18 a 25 °C;

15 (ii) las soluciones orgánicas se secaron con sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio anhidro; la evaporación del disolvente se llevó a cabo utilizando un evaporador rotatorio a presión reducida (de 600 a 4000 Pascales; de 4.5 a 30 mmHg) con una temperatura del baño de hasta 60°C;

(iii) cromatografía significa cromatografía flash en gel de sílice; la cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo en placas de gel de sílice;

(iv) en general, el desarrollo de las reacciones se controló por TLC y/o LC-MS analítica y los tiempos de reacción se indican solamente con fines ilustrativos;

20 (v) se obtuvieron datos de espectros de masas y/o de espectros de resonancia magnética nuclear (RMN) satisfactorios para los productos finales;

(vi) se facilitan los rendimientos únicamente con fines ilustrativos y no son necesariamente los que pueden obtenerse mediante el desarrollo diligente del procedimiento; se repitieron las preparaciones si se requirió más material;

25 (vii) cuando se proporcionan, los datos de RMN están en forma de valores delta para los protones de diagnóstico principales, se proporcionan en partes por millón (ppm) con relación al tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, determinados a 300, 400 o 500 MHz utilizando sulfóxido de dimetilo perdeuterado (DMSO-d6) como disolvente salvo que se indique lo contrario; se han empleado las siguientes abreviaturas: s, singulete; d, doblete; t, triplete; c, cuadruplete; m, multiplete; sa, singulete ancho; dd, doble doblete; td, triple doblete; cd, cuádruple doblete;

30 (viii) para el análisis de RMN en estado sólido con polarización cruzada con giro en ángulo mágico de carbono (¹³C) que se lleva a cabo en el Ejemplo 1, se registraron los espectros del cocrystal, base libre del Compuesto A y coformador en un espectrómetro de RMN Avance de Bruker que funcionaba con una frecuencia de ¹H de 400 MHz. Las muestras se giraron aproximadamente en ángulo mágico con una frecuencia de 9 kHz y se utilizó un pulso de contacto de 2 ms para permitir la transferencia de la magnetización del protón al carbono. Se utilizó un retraso entre ciclos de 5 s para permitir la relajación de la red de spin;

35 (ix) para el análisis de RMN en estado sólido con polarización cruzada con giro en ángulo mágico de nitrógeno (¹⁵N) que se lleva a cabo en el Ejemplo 1, se registraron los espectros del cocrystal en un espectrómetro de RMN Avance de Bruker que funcionaba con una frecuencia de ¹H de 400 MHz. Las muestras se giraron aproximadamente en ángulo mágico con una frecuencia de 5 kHz y se utilizó un pulso de contacto de 2 μs y 2 ms para permitir la transferencia de la magnetización del protón al carbono. Se utilizó un retraso entre ciclos de 5 s para permitir la relajación de la red de spin;

40 (x) los símbolos químicos tienen su significado habitual; se utilizan unidades y símbolos del SI;

(xi) los datos de espectros de masas (MS) y LC-MS se generaron en un sistema LC-MS donde el componente de HPLC comprendió generalmente un equipo de Agilent 1100, HT (2790 y 2795) Alliance de Waters o una bomba HP1100 y un haz de diodos con un automuestreador CTC y se llevó a cabo en una columna Gemini de Phenomenex C18 5 μm, 50 x 2 mm (o similar) eluyendo con un eluyente ácido (por ejemplo, utilizando un gradiente entre 0 - 95% de agua / acetonitrilo con 5% de una mezcla de un 1% de ácido fórmico en agua:acetonitrilo 50:50 (v/v)), o eluyente básico (por ejemplo, utilizando un gradiente entre 0 - 95% de agua / acetonitrilo con 5% de una mezcla de 0.1% de amoniaco 880 en acetonitrilo); y el componente MS comprende generalmente un espectrómetro de masas ZQ de Waters que barre un intervalo de masas apropiado. Se generan los cromatogramas para la intensidad máxima de base positiva y negativa de electronebulización (ESI), y cromatograma de absorción total de UV desde 220-300 nm y se proporcionan los valores de m/z; en general, solamente se reseñan los iones que indican la masa original y salvo que se indique otra cosa el valor citado es (M+H)⁺ para la forma de ion positivo y (M-H)⁻ para la forma de ion negativo;

(xii) a menos que se indique de otra forma, los compuestos que contienen un carbono sustituido asimétricamente no se han resuelto;

(xiii) la cromatografía líquida de alta resolución preparativa (HPLC) se llevó a cabo en un instrumento Gilson utilizando las siguientes condiciones:-

5 Columna: sílice de fase inversa C18, por ejemplo, Waters 'Xbridge', sílice de 5 μm , 19 x 100 mm, o 30 x 100 mm, utilizando mezclas de disolventes cada vez menos polares como eluyente (relación decreciente de disolvente A respecto al disolvente B); disolvente A: agua con un 1% de hidróxido de amonio; disolvente B: acetonitrilo; caudal: 28 mL/min o 61 mL/min; gradiente: adaptado para adecuarse a cada compuesto - generalmente duración de 7-10 min; longitud de onda: 254 nm;

10 (xiv) la cromatografía de intercambio catiónico fuerte (SCX) se llevó a cabo en cartuchos preempaquetados (por ejemplo, cartuchos ISOLUTE SCX-2 con base de ácido propilsulfónico suministrados por International Sorbent Technology), utilizando un eluyente básico (por ejemplo, amoníaco 1 M en metanol);

(xv) en la presente, se han utilizado las siguientes abreviaturas cuando ha sido necesario:-

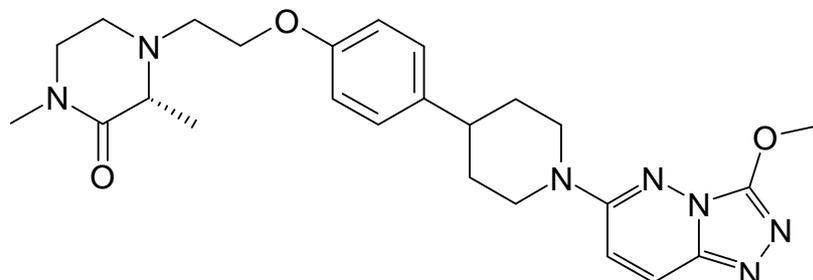
	ADDP	1,1'-(azodicarbonil)dipiperidina
15	DCM	diclorometano
	DIPEA	<i>N,N</i> -diisopropiletilamina
	DMA	<i>N,N</i> -dimetilacetamida
	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	DME	Dimetoxietano
20	DMSO	sulfóxido de dimetilo
	Et ₂ O	éter dietílico
	EtOAc	acetato de etilo
	EtOH	etanol
	HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
25	MeOH	metanol
	MgSO ₄	sulfato de magnesio
	MTBE	éter <i>tert</i> -butil metílico
	RMN	resonancia magnética nuclear
	SCX	intercambio catiónico fuerte
30	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano;

(xvii) para el análisis de XRPD del Ejemplo 1, la muestra se colocó sobre una oblea de silicio y se analizó utilizando el difractor CubiX Pro de PANalytical. Las muestras se midieron en una geometría de reflexión en una configuración $\theta - 2\theta$ a lo largo del intervalo de barrido de 2° a 40° 2θ con una exposición nominal de 25 segundos por 35 0.02° de incremento. La muestra se giró a 30 revoluciones por minuto (para mejorar la estadística del recuento) y se irradió con rayos X generados con un tubo de cobre de foco fino largo que funcionaba a 45 kV y 40 mA con una longitud de onda de 1.5418 Å. Los expertos en la técnica de la difracción de rayos X de polvo sobreentenderán que la intensidad relativa de los picos se puede ver afectada, por ejemplo, por granos con un tamaño superior a 30 micras y relaciones entre las dimensiones no unitarias lo que puede afectar al análisis de las muestras. El experto también comprenderá que la posición de las reflexiones se puede ver afectada por la altura exacta a la cual se sitúa la muestra en el difractor y la calibración del cero del difractor. Puede que también tenga un pequeño efecto la planaridad de la superficie de la muestra. Así pues, los datos de los patrones de difracción presentados no se deben considerar como valores absolutos.

(xviii) calorimetría diferencial de barrido: instrumento analítico: DSC Q1000 de TA Instruments.
45 Normalmente, se calentaron menos de 5 mg de material contenido en una cápsula de aluminio estándar dotada de

una tapa en el intervalo de temperaturas de 25 °C a 300 °C con una velocidad de calentamiento constante de 10 °C por minuto. Se empleó un gas de purga con nitrógeno - velocidad de flujo de 50 mL por minuto.

Ejemplo 1: Preparación de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona, Forma A

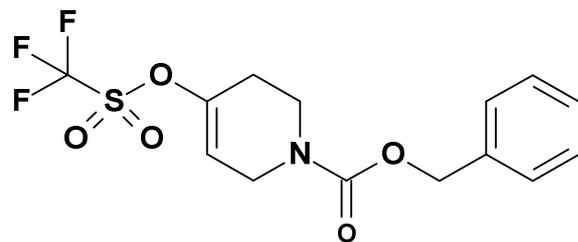


5

Se añadió tributilfosfina (102 mL, 414.92 mmol) en porciones a una suspensión de 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol (67.5 g, 207.46 mmol) en DCM anhidro bien desgasificado (1.7 L) a 5 °C en nitrógeno. La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se añadió en porciones (*E*)-diazeno-1,2-diilbis(piperidin-1-ilmetanona) (105 g, 414.92 mmol). A continuación, se añadió gota a gota una solución de (R)-4-(2-hidroxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (46.4 g, 269.70 mmol) en DCM (200 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y se filtró. La solución transparente se diluyó con más DCM (1 L) y a continuación, se acidificó con HCl 2 M (400 mL) y se añadió agua (400 mL). La solución acuosa combinada se lavó con DCM (3 x 1 L) y a continuación EtOAc (1 L). A continuación, la solución acuosa se basificó con Na₂CO₃ sólido hasta pH=10 y se extrajo con DCM (3 x 1.5 L). La solución orgánica combinada se lavó con agua (500 mL) y salmuera saturada (500 mL), a continuación se secó con MgSO₄ y se evaporó a sequedad para obtener el material crudo. Este se purificó mediante cromatografía flash en sílice, eluyendo con EtOH:EtOAc:heptano:NH_{3(ac)} 1.8:4:4:0.2. Las fracciones que contenían el producto deseado se evaporaron a sequedad para obtener una espuma amarilla. Esta se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (columna Chiralpak AS, sílice de 20µm, diámetro de 100 mm, longitud de 250 mm), heptano/EtOH de 50/50 a 400 mL/min. Las fracciones que contenían el producto deseado se evaporaron a sequedad y el sólido resultante se agitó como una suspensión en éter dietílico (300 mL) durante 18 horas, se filtró y se secó para obtener (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (69 g, 69.4 %) como un sólido amarillo pálido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.22 (3H, d), 1.62 (2H, cd), 1.82 (2H, d), 2.6 - 2.79 (3H, m), 2.79 (3H, s), 2.85 - 3.09 (4H, m), 3.13 (1H, c), 3.2 - 3.26 (2H, m), 4.03 (2H, t), 4.17 (3H, s), 4.28 (2H, d), 6.85 (2H, d), 7.15 (2H, d), 7.29 (1H, d), 7.85 (1H, d). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 480

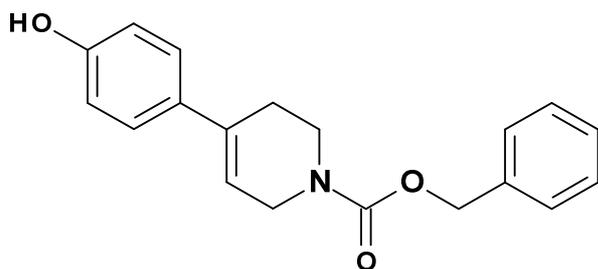
El 4-[1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il]fenol utilizado como material de partida se preparó tal como sigue:

Preparación de 4-(trifluorometilsulfonilo)-5,6-dihidropiridino-1(2H)-carboxilato de bencilo



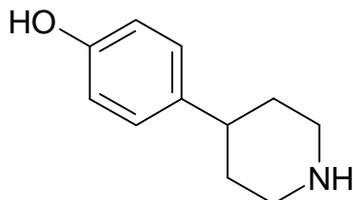
Una solución de 4-oxopiperidino-1-carboxilato de bencilo (88.57 g, 379.70 mmol) en THF (300 mL) se añadió gota a gota a bis(trimetilsilil)amiduro de litio (1M en THF) (418 mL, 417.67 mmol) a -78°C, durante un período de 1 hora en nitrógeno. La mezcla resultante se agitó a -78°C durante 90 minutos, a continuación se añadió gota a gota una solución de 1,1,1-trifluoro-*N*-fenil-*N*-(trifluorometilsulfonil)metanosulfonamida (142 g, 398.68 mmol) en THF (600 mL) durante un período de 1 hora. La mezcla resultante se agitó a -78°C durante 30 minutos, a continuación se permitió que se calentara hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se inactivó con hidróxido de sodio acuoso 2 M (450 mL). Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio acuoso 2 M (360 mL). El disolvente se evaporó, a continuación el residuo se redisolvió en Et₂O (1500 mL) y la solución se lavó con agua (500 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener 4-(trifluorometilsulfonilo)-5,6-dihidropiridino-1(2H)-carboxilato de bencilo (124 g, 81%) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2.43 (2H, m), 3.62 (2H, m), 4.06 (2H, m), 5.10 (2H, s), 6.02 (1H, m), 7.34 (5H, m).

Preparación de 4-(4-hidroxifenil)-5,6-dihidropiridino-1(2H)-carboxilato de bencilo



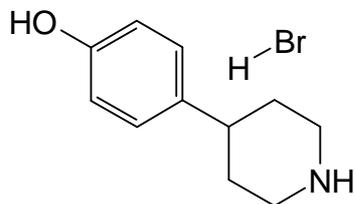
Se añadió carbonato de sodio (96 g, 909.79 mmol) a 4-(trifluorometilsulfonilo)-5,6-dihidropiridino-1(2*H*)-carboxilato de bencilo (123.1 g, 303.26 mmol) y ácido 4-hidroxifenilborónico (46.0 g, 333.59 mmol) en una mezcla de dioxano (1000 mL) y agua (250 mL). La mezcla resultante se burbujeó con nitrógeno durante 10 minutos, a continuación se añadió 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodichloropaldio (II) (5.49 g, 7.58 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (2 L) y se lavó con agua (2 L). La fase acuosa se reextrajo con DCM (1 L), a continuación los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera saturada (500 mL), se secaron con MgSO₄, se filtraron y se evaporaron para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash en sílice con un gradiente de elución de un 10 a un 30% de EtOAc en isohexano. Las fracciones que contenían el producto deseado se evaporaron a sequedad, a continuación se purificaron con isohexano, se filtraron y se secaron para obtener 4-(4-hidroxifenil)-5,6-dihidropiridino-1(2*H*)-carboxilato de bencilo (62.3 g, 66.4 %) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2.44 (2H, m), 3.61 (2H, m), 4.05 (2H, m), 5.12 (2H, s), 5.99 (1H, m), 6.73 (2H, d), 7.26 (2H, d), 7.32 - 7.40 (5H, m), 9.45 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 310.

Preparación de 4-(piperidin-4-il)fenol



Se agitaron 4-(4-hidroxifenil)-5,6-dihidropiridino-1(2*H*)-carboxilato de bencilo (37.7 g, 121.86 mmol) y paladio sobre carbón al 5% (7.6 g, 3.57 mmol) en MeOH (380 mL) en una atmósfera de hidrógeno a 5 bar y 25 °C durante 2 horas. El catalizador se separó mediante filtración, se lavó con MeOH y los disolventes se evaporaron. El material crudo se purificó con Et₂O (200 mL), a continuación el producto deseado se recogió mediante filtración y se secó al vacío para obtener 4-(piperidin-4-il)fenol (20.36 g, 94%) como un sólido blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.46 (2H, m), 1.65 (2H, m), 2.45 (1H, m), 2.58 (2H, m), 3.02 (2H, m), 6.68 (2H, d), 7.00 (2H, d), 9.15 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 178

Preparación de bromhidrato de 4-(piperidin-4-il)fenol



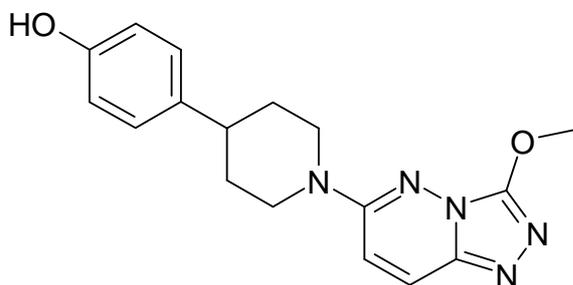
Se añadió gota a gota bromuro de hidrógeno (al 48% en agua) (0.283 mL, 2.48 mmol) a una suspensión de 4-(piperidin-4-il)fenol (0.4 g, 2.26 mmol) en THF (23 mL). La suspensión resultante se agitó durante 30 minutos. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó con THF (20 mL) y se secó al vacío para obtener bromhidrato de 4-(piperidin-4-il)fenol (0.580 g, 100%) como un polvo blanco. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.74 (2H, cd), 1.86 (2H, d), 2.71 (1H, tt), 2.96 (2H, td), 3.33 (2H, d), 6.68 - 6.73 (2H, m), 6.97 - 7.02 (2H, m), 8.48 (2H, s a), 9.18 (1H, s a).

Preparación de 6-cloro-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazina



5 Se suspendió 3-cloro-6-hidrazinilpiridazina (18 g, 124.51 mmol) en DME (330 mL), se trató con tetrametoximetano (26.5 mL, 199.22 mmol) y la mezcla resultante se agitó a 90 °C durante 3 horas. El DME se eliminó por evaporación, el residuo se disolvió en un 5% de MeOH/DCM y a continuación se filtró a través de un lecho de sílice. El filtrado se evaporó a sequedad y a continuación se añadió MTBE (200 mL) y se mantuvo en forma de suspensión espesa durante 1 hora. El sólido se filtró y se secó al vacío para obtener 6-cloro-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazina (19.78 g, 86 %) como un polvo de color crema. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 4.25 (3H, s), 7.30 (1H, d), 8.22 (1H, d). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 185

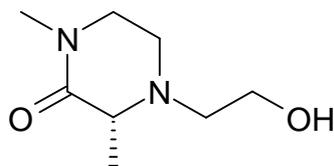
Preparación de 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol



10 Se añadió 6-cloro-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazina (19.73 g, 106.91 mmol) a bromhidrato de 4-(piperidin-4-il)fenol (18.4 g, 71.28 mmol) en EtOH (200 mL). A esta mezcla se añadió DIPEA (62.2 mL, 356.38 mmol) y la reacción se agitó a 55 °C durante 18 horas. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente, se vertió sobre agua agitada vigorosamente (1600 mL) y se agitó vigorosamente durante 2 horas. El precipitado sólido se separó mediante filtración y se lavó secuencialmente con H₂O (200 mL) y Et₂O (200 mL). El sólido resultante se secó al vacío para obtener 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol (15.30 g, 66.0%) como un sólido marrón pálido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.59 (2H, cd), 1.81 (2H, d), 2.67 (1H, ddt), 2.9 - 3.02 (2H, m), 4.17 (3H, s), 4.23 - 4.31 (2H, m), 6.63 - 6.71 (2H, m), 7.02 (2H, dd), 7.29 (1H, d), 7.84 (1H, d), 9.14 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 326

20 La (*R*)-4-(2-hidroxietyl)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona utilizada como material de partida se preparó tal como sigue:-

Preparación de (*R*)-4-(2-hidroxietyl)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona



25 Se añadió 2-bromoetanol (108 mL, 1518.54 mmol) a una mezcla de clorhidrato de (*R*)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (50 g, 303.71 mmol) y carbonato de potasio (126 g, 911.12 mmol) en 2-metiltetrahydrofurano (500 mL). La mezcla se agitó a 100 °C durante 16 horas. La mezcla se filtró y se evaporó a sequedad para obtener el producto crudo. Este se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice eluyendo con de un 1 a un 5% de MeOH en DCM, se combinaron las fracciones puras y se evaporaron a sequedad para obtener (*R*)-4-(2-hidroxietyl)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (36.0 g, 68.8%) como un aceite amarillo espeso.

30 ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.19 (3H, d), 2.42 (1H, dt), 2.59 (2H, tt), 2.79 (3H, s), 2.93 - 3.1 (2H, m), 3.17 - 3.25 (2H, m), 3.47 (2H, c), 4.41 (1H, t).

35 El producto final, (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etyl)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona, se analizó por XRPD y DSC y se observó que era cristalino. El XRPD de una muestra del material generó un patrón de difracción como se muestra en la Figura A. La Forma A de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etyl)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona se caracteriza por al menos un pico a un valor 2θ de 20.9° o 16.7°, medido utilizando radiación CuKα. Los diez picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla A.

Tabla A: Diez picos de XRPD más prominentes para la Forma A de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona

Ángulo 2-Theta (2θ)	% de intensidad
20.9	100.0
16.7	53.4
20.2	38.1
21.2	27.2
27.4	26.5
18.0	23.4
16.8	20.0
23.6	18.1
15.1	14.2
15.5	13.9

donde los valores de 2-theta son $\pm 0.2^\circ$.

5 El análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma A de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona mostró una endoterma de fusión con un inicio a 106.4 °C y un máximo a 111.2 °C. En la Figura B se muestra una curva de DSC.

Ejemplo 1.1: Preparación del cocrystal (1:1) de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A.

10 Se añadieron aproximadamente 3 g de la Forma A de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona a un matraz de fondo redondo que contenía 10 mL de metanol. A continuación, se añadió gota a gota una solución independiente que contenía 1 equivalente molar (1.18 g) de ácido 6-hidroxi-2-naftoico en 5 mL de metanol al matraz de fondo redondo y la reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. El material se filtró el día siguiente y se lavó con metanol (5 mL). El sólido recuperado se secó con aire y a continuación, se transfirió a un horno a vacío donde se secó adicionalmente durante toda la noche a 50 °C. Se obtuvo el cocrystal (1:1) de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona: ácido 6-hidroxi-2-naftoico como un sólido blanquecino. Se determinó por XRPD que la forma era cristalina.

20 Este material se analizó mediante XRPD y DSC. El XRPD de una muestra del material generó un patrón de difracción como se muestra en la Figura C. La Forma A del cocrystal (1:1) de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se caracteriza por al menos un pico a un valor 2θ de 19.5° o 12.5°, medido utilizando radiación CuKα. Los diez picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla B.

Tabla B - Diez picos de XRPD más prominentes para la Forma A del cocrystal (1:1) de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico

Ángulo 2-Theta (2θ)	% de intensidad
19.5	100
12.5	80.4
18.1	79.8
12.8	66.4
24.2	60.9
14.1	56.5

23.4	51.8
17.9	40.2
18.6	38.6
17.0	37.3

donde los valores de 2-theta son $\pm 0.2^\circ$.

El análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma A del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico mostró una endoterma de fusión con un inicio a 186.3 °C y un máximo a 188.3 °C. En la Figura D se muestra una curva de DSC.

Los cocrystal se pueden definir en función de la ΔpK_a , es decir ($pK_a(\text{base}) - pK_a(\text{ácido})$). Si la ΔpK_a es < 1 , el complejo API:molécula coformadora se clasifica como un cocrystal. (Clasificación reguladora de los cocrystal farmacéuticos, Directrices de la FDA de EE. UU., abril de 2013). Se determinó que el pK_a para el centro básico de la piperazinona en el Compuesto A fue de 4.8 y el pK_a de la molécula coformadora ácido 6-hidroxi-2-naftoico 4.3, lo que proporciona una ΔpK_a que es < 1 y, por lo tanto, es coherente con la formación de un cocrystal.

Se llevó a cabo el análisis por RMN en estado sólido con polarización cruzada con giro en ángulo mágico de ^{13}C con el producto final del Ejemplo 1.1, (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona y el ácido 6-hidroxi-2-naftoico coformador. Los espectros se muestran en la Figura F. El espectro inferior de la Figura F (es decir, del producto del Ejemplo 1.1) no fue la suma del espectro de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (espectro del centro) y del coformador (espectro superior). En el espectro superior hay un pico a aproximadamente 172 ppm, atribuido al ácido carboxílico totalmente protonado en el coformador. (Si el ácido carboxílico en el coformador no estuviera protonado, entonces se esperaría que el pico estuviera a 177 ppm en lugar de 172 ppm). En el espectro del centro hubo un pico a aproximadamente 169 ppm atribuido al carbonilo en (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona. En el espectro del producto del Ejemplo 1.1, hubo 3 picos en la región del carbonilo que no son coherentes con los picos de los espectros superior o del centro. Además, en este espectro no hubo un pico a 177 ppm. Se esperaría que un pico de este tipo estuviera presente si el ácido carboxílico coformador no está protonado y sería indicativo de que se ha transferido un protón entre el coformador y la base libre y se ha formado una sal. La ausencia de este pico es coherente con la formación de un cocrystal.

Se llevó a cabo un análisis de RMN en estado sólido con polarización cruzada con giro en ángulo mágico de ^{15}N con el producto final del Ejemplo 1.1. Los espectros se registraron con tiempos de contacto de 2 ms y 200 μs y se muestran en la Figura G. El espectro registrado con el tiempo de contacto mayor fue coherente con al menos 8 entornos de nitrógeno diferentes en el cocrystal mientras que con un tiempo de contacto más corto no se observaron picos. Esto fue coherente con la situación en la que ninguno de los átomos de nitrógeno exhibe un acoplamiento dipolar fuerte con un protón como sería el caso si se hubiera transferido totalmente un protón entre el coformador y la base como se observaría para una sal.

La estequiometría del cocrystal de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se determinó mediante RMN de protón. El material generó un espectro de RMN como se muestra en la Figura H. Se determinó la estequiometría mediante la integración de resonancia debida a la (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona, por ejemplo, utilizando la resonancia a 6.85ppm (2H) y la comparación con una resonancia debida al ácido 6-hidroxi-2-naftoico, por ejemplo, utilizando la resonancia a 8.46 (1H) y determinando la relación entre los picos, permitiendo que el número de protones generara la señal de resonancia. Se determinó que la estequiometría (relación molar) fue de 1:1.

^1H RMN (500 MHz, DMSO, 27°C) 1.22 (3H, d), 1.62 (2H, cd), 1.82 (2H, d), 2.63 - 2.79 (3H, m), 2.81 (3H, s), 2.85 - 3.09 (4H, m), 3.13 (1H, c), 3.20 - 3.28 (2H, m), 4.03 (2H, t), 4.17 (3H, s), 4.28 (2H, d), 6.85 (2H, d), 7.12 - 7.21 (4H, m), 7.29 (1H, d), 7.75 (1H, d), 7.83 - 7.89 (2H, m), 7.96 (1H, d), 8.47 (1H, s), 10.15 (1H, sa), 12.81 (1H, sa)

Por lo tanto, la RMN de ^1H , la RMN en estado sólido de ^{13}C y ^{15}N y la ΔpK_a , a las que se hace referencia anteriormente, fueron coherentes con la formación del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico.

45 **Ejemplo 1.2 Preparación del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A**

Se mezcló 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol (0.818 kg, 2.34 mol) con ADDP (1.19 kg, 4.67 mol) y DCM (9.8 L, 150 mol) y se agitó a aproximadamente 10 °C. Se añadió en porciones tributilfosfina (0.98 kg, 47.6 mol) a la mezcla de reacción durante 30 minutos y a continuación, se agitó durante 30 minutos. A continuación, se añadió gota a gota una solución de (*R*)-4-(2-hidroxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (0.503 kg, 2.80 mol) en DCM (1.64 L, 25.6 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas.

- A continuación, la mezcla de reacción se filtró lavando con DCM para eliminar el subproducto ADDP. El filtrado se agitó con ácido clorhídrico acuoso y la fase orgánica inferior se desechó. La fase acuosa se lavó adicionalmente con DCM y la fase orgánica inferior se desechó. A continuación, la solución acuosa se basificó con Na₂CO₃ hasta pH 9-10 y se extrajo con DCM. La fase de DCM se lavó adicionalmente con agua, se evaporó y se sometió a una evaporación azeotrópica con metanol para eliminar el agua residual y obtener el material crudo. El material crudo se disolvió en metanol (7.5 L, 190 mol) y se calentó hasta 60 °C en el recipiente 1. Se disolvió ácido 6-hidroxinaftaleno-2-carboxílico (0.360 kg, 1.87 mol) en metanol (3.8 L, 94 mol) en el recipiente 2. A continuación, se añadió gota a gota un 10% de la solución de recipiente 2 al recipiente 1 durante 10 minutos. La temperatura del recipiente 1 se mantuvo en aproximadamente 60 °C.
- Se añadió al recipiente material seminal del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico (1.2 g, 0.0018 mol), que se puede obtener como se ha descrito en el Ejemplo 1.1 y la temperatura se mantuvo a 60 °C durante aproximadamente 1 hora. Los contenidos restantes del recipiente 2 se añadieron a continuación gota a gota al recipiente 1 durante aproximadamente 16 horas. La suspensión espesa resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente durante 5 horas y a continuación, se filtró y se lavó con metanol. El sólido recuperado se secó en un horno a vacío a 50 °C para obtener el cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona: ácido 6-hidroxi-2-naftoico (56.45% de rendimiento).
- ¹H RMN (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1.43 (d, J=7.00 Hz, 3 H) 1.54 - 1.69 (m, 2 H) 1.80 (d, J=11.36 Hz, 2 H) 2.74 (tt, J=12.06, 3.41 Hz, 1 H) 2.84 (s, 3 H) 2.91 - 3.03 (m, 2 H) 3.25 - 3.63 (m, 6 H) 3.83 (d, J=6.88 Hz, 1 H) 4.10 - 4.34 (m, 7 H) 6.89 (d, J=8.69 Hz, 2 H) 7.09 - 7.22 (m, 4 H) 7.28 (d, J=10.34 Hz, 1 H) 7.72 (d, J=8.72 Hz, 1 H) 7.79 - 7.88 (m, 2 H) 7.92 (d, J=8.88 Hz, 1 H) 8.44 (d, J=0.63 Hz, 1 H) 10.12 (s a, 1H). *m/z* (ES+), [M+H]⁺ = 480.

Se determinó por XRPD que la forma era cristalina.

Preparación de 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol

- Se mezcló 3-cloro-6-hidrazinilpiridazina (0.753 kg) con tetrametoximetano (8.231 mol, 1.22 kg) en metanol (5.7 L) y se agitó. A continuación, la mezcla resultante se calentó y agitó a 55 °C durante 2 horas. Después de enfriar hasta 45 °C, se añadió bromhidrato de 4-(piperidin-4-il)fenol (preparado como se ha descrito anteriormente) (1.000 kg, 3.874 mol). A continuación, se añadió gota a gota DIPEA (2.03 L, 11.6 mol) durante un periodo de aproximadamente 10 minutos y la reacción se agitó adicionalmente. Se añadió metanol (5.1 L, 126 mol) y la mezcla de reacción se agitó durante al menos 48 horas a aproximadamente 45 °C. La mezcla se filtró y el filtrado se lavó con metanol y agua. El sólido aislado se secó en un horno a vacío a aproximadamente 50 °C para obtener 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol (65% de rendimiento).

¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.59 (2H, cd), 1.81 (2H, d), 2.67 (1H, ddt), 2.9 - 3.02 (2H, m), 4.17 (3H, s), 4.23 - 4.31 (2H, m), 6.63 - 6.71 (2H, m), 7.02 (2H, dd), 7.29 (1H, d), 7.84 (1H, d), 9.14 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 326

- El cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se analizó mediante XRPD y DSC. El XRPD de una muestra del material generó un patrón de difracción que se muestra en la Figura I. La Forma A del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se caracteriza por al menos un pico a un valor 2 θ de 19.4° o 12.5°, medido utilizando radiación CuK α . Los diez picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla C.

- Tabla C - Diez picos de XRPD más prominentes para la Forma A del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico**

Ángulo 2-Theta (2 θ)	% de intensidad
19.4	100
12.5	79.3
12.8	77.4
18.1	75.0
24.2	66.8
23.4	55.2
14.0	53.2
18.6	37.8

17.0	37.5
17.9	36.4

donde los valores de 2-theta son $\pm 0.2^\circ$.

El análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma A del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico mostró una endoterma de fusión con un inicio a 184.9 °C y un máximo a 187.9 °C (Figura J).

- 5 El análisis mediante DSC que se muestra de la Forma A del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico es un sólido con un alto punto de fusión, con un inicio de fusión en el intervalo de 163-186 °C y un máximo en el intervalo de 169-188 °C.

- 10 **Ejemplo 1.1A - Material generado en una preparación repetida de la ruta descrita en el Ejemplo 1.1, que dio como resultado una forma adicional, Forma B. Se determinó por XRPD que esta forma era cristalina.**

El XRPD de una muestra del material generó un patrón de difracción como se muestra en la Figura K. La Forma B del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se caracteriza por al menos un pico a un valor 2θ de 15.2° o 6.1°, medido utilizando radiación CuK α . Los nueve picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla D.

- 15 **Tabla D - Nueve picos de XRPD más prominentes para la Forma B del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico**

Ángulo 2-Theta (2 θ)	% de intensidad
15.2	40.9
6.1	58.1
16.8	64.3
12.2	44.0
26.1	43.9
28.4	41.0
18.3	34.2
3.1	30.6
20.7	25.4

donde los valores de 2-theta son $\pm 0.2^\circ$.

- 20 El análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma B del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico mostró una endoterma de fusión con un inicio a 169.3 °C y un máximo a 172.7 °C. En la Figura L se muestra una curva de DSC.

Ejemplo 1.3: Preparación del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma C.

- 25 Una muestra de la Forma A del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se analizó mediante XRPD en caliente utilizando un difractómetro D8 Advance de Bruker. La muestra se calentó hasta 210 °C adquiriendo los difractogramas cada 3 °C.

- 30 A continuación, la muestra se enfrió hasta 25 °C a 10 °C/min y tras abrir la plataforma de la muestra al final del experimento se observó que el material había sublimado y se había depositado en el cuchillo del haz del difractómetro como un polvo blanco. Este polvo blanco se recogió y se analizó y se demostró que era una forma cristalina diferente, la Forma C. Se determinó mediante XRPD que esta forma era cristalina.

El XRPD de una muestra del material generó un patrón de difracción como se muestra en la Figura M. La Forma C del cocrystal (1:1) de (*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-

dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico se caracteriza por al menos un pico a un valor 2θ de 8.2° o 24.8°, medido utilizando radiación CuK α . Los siete picos más prominentes de XRPD se muestran en la Tabla E.

Tabla E - Siete picos de XRPD más prominentes para la Forma C del cocrystal (1:1) de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico

5

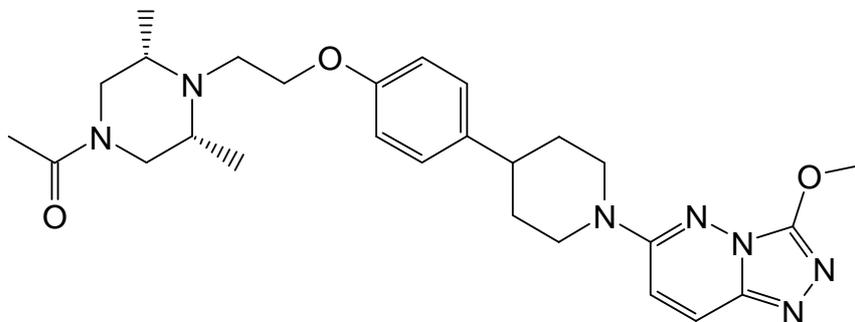
Ángulo 2-Theta (2 θ)	% de intensidad
8.2	100
24.8	90.9
18.9	46.4
29.0	32.3
14.8	26.3
15.5	22.2
16.3	20.7

donde los valores de 2-theta son $\pm 0.2^\circ$.

El análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la Forma C del cocrystal (1:1) de (R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona:ácido 6-hidroxi-2-naftoico mostró una endoterma de fusión con un inicio a 156.8 °C y un máximo a 160.5 °C. En la Figura N se muestra una curva de DSC.

10

Ejemplo 2 : Preparación de 1-((3S,5R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona



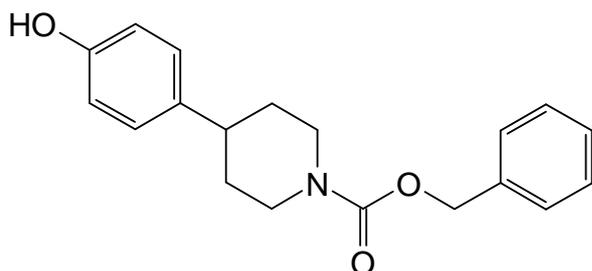
15

Se añadió DIPEA (1.455 mL, 8.36 mmol) a 1-((3S,5R)-3,5-dimetil-4-(2-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)etil)piperazin-1-il)etanona (1.502 g, 4.18 mmol) y 6-cloro-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazina (obtenida tal como se ha descrito en el Ejemplo 1, preparación de los materiales de partida) (1.003 g, 5.43 mmol) en DMF (15 mL). La solución resultante se agitó a 80°C durante 18 horas y se evaporó a sequedad. El producto crudo se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico, utilizando una columna SCX. El producto deseado se eluyó de la columna utilizando NH₃ 1M/MeOH y se evaporó a sequedad para obtener una goma marrón. Esta se purificó adicionalmente mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 un 10% de NH₃ 7M/MeOH en EtOAc. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 1-((3S,5R)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (0.991 g, 46.7%) como una espuma de color crema. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1.06 - 1.1 (6H, m), 1.69 (2H, cd), 1.91 (2H, d), 1.97 (3H, s), 2.56 - 2.68 (4H, m), 2.78 (1H, tt), 2.99 (2H, t), 3.06 (2H, td), 3.84 (2H, s a), 4.00 (2H, t), 4.21 (3H, s), 4.27 (2H, d), 6.83 - 6.88 (2H, m), 7.14 - 7.19 (3H, m), 7.74 (1H, d). m/z: ES+ [M+H]⁺ 508

20

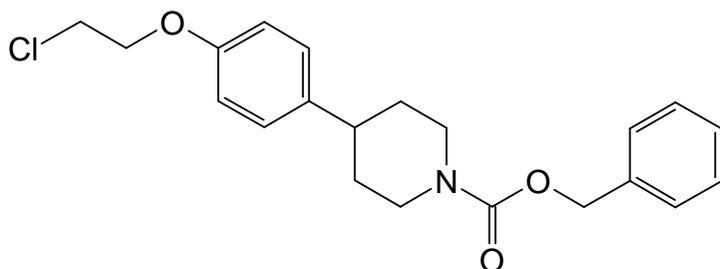
La 1-((3S,5R)-3,5-dimetil-4-(2-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)etil)piperazin-1-il)etanona utilizada como material de partida se preparó de la siguiente manera:-

Preparación de 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo



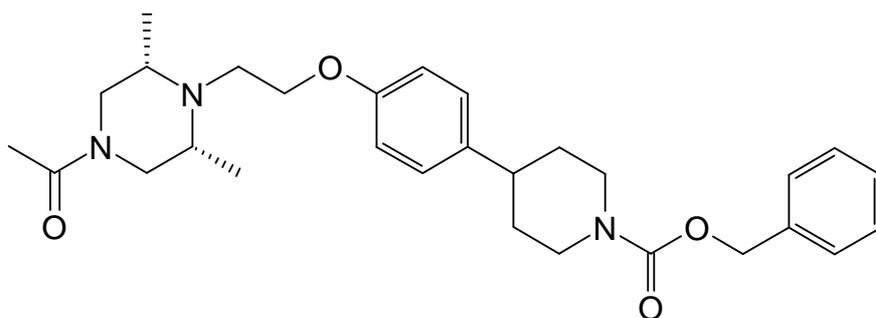
Se añadió cloroformiato de bencilo (5.97 mL, 41.84 mmol) a bromhidrato de 4-(piperidin-4-il)fenol (obtenido como se ha descrito en el Ejemplo 1, preparación de los materiales de partida) (9 g, 34.86 mmol) y DIPEA (14.57 mL, 83.67 mmol) en DCM (150 mL). La suspensión resultante se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se lavó secuencialmente con agua (2 x 100 mL) y ácido cítrico acuoso 1 M (100 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 a un 5% de MeOH en DCM. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo (7.89 g, 72.7%) como una goma incolora, que solidificó al reposar. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.43 (2H, cd), 1.71 (2H, d), 2.57 (1H, tt), 2.79 - 2.93 (2H, m), 4.11 (2H, d), 5.08 (2H, s), 6.64 - 6.69 (2H, m), 6.98 - 7.02 (2H, m), 7.28 - 7.33 (1H, m), 7.34 - 7.4 (4H, m), 9.10 (1H, s). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 312

Preparación de 4-(4-(2-cloroetoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo



Se añadió 1-bromo-2-cloroetano (2.134 mL, 25.64 mmol) a 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo (5.322 g, 17.09 mmol) y carbonato de potasio (4.72 g, 34.18 mmol) en MeCN (80 mL). La mezcla resultante se agitó a 85 °C durante 18 horas. Como la reacción no había finalizado se añadieron más carbonato de potasio (4.72 g, 34.18 mmol) y 1-bromo-2-cloroetano (2.134 mL, 25.64 mmol) y la mezcla se agitó a 85 °C durante 48 horas más. La reacción mostró cierto progreso hasta ~50% de avance. Como la reacción no había finalizado se aumentó la temperatura hasta 95 °C y la mezcla de reacción se agitó durante 24 horas más. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad, se redisolvió en EtOAc (200 mL) y se lavó secuencialmente con agua (2 x 100 mL) y salmuera saturada (100 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 a un 5% de MeOH en DCM. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 4-(4-(2-cloroetoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo (3.30 g, 51.7%) como una goma amarillo pálido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.47 (2H, cd), 1.73 (2H, d), 2.64 (1H, tt), 2.81 - 2.95 (2H, m), 3.90 (2H, dd), 4.12 (2H, d), 4.20 (2H, dd), 5.08 (2H, s), 6.85 - 6.9 (2H, m), 7.12 - 7.17 (2H, m), 7.28 - 7.34 (1H, m), 7.34 - 7.4 (4H, m). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 374

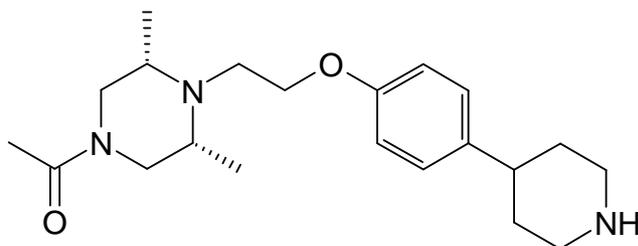
Preparación de 4-(4-(2-((2S,6R)-4-acetil-2,6-dimetilpiperazin-1-il)etoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo



Se añadió DIPEA (3.05 mL, 17.49 mmol) a 4-(4-(2-cloroetoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo (2.18 g, 5.83 mmol), 1-((3S,5R)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (1.366 g, 8.75 mmol) and yoduro de potasio (0.968 g, 5.83 mmol) en DMA (25 mL). La mezcla resultante se agitó a 125 °C durante 18 horas. La mezcla de reacción se evaporó a sequedad,

se redisolvió en EtOAc (250 mL) y se lavó secuencialmente con agua (200 mL) y salmuera saturada (200 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener el producto crudo. Este se purificó mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 un 4% de NH₃ 7M/MeOH en DCM. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 4-(4-(2-((2*S*,6*R*)-4-acetil-2,6-dimetilpiperazin-1-il)etoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo (2.180 g, 76%) como una goma marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1.06 - 1.1 (6H, m), 1.51 (2H, cd), 1.76 - 1.83 (2H, m), 1.97 (3H, s), 2.57 - 2.72 (5H, m), 2.93 (2H, td), 2.99 (2H, t), 3.85 (2H, s a), 4.00 (2H, t), 4.14 (2H, d), 5.12 (2H, s), 6.83 - 6.87 (2H, m), 7.1 - 7.15 (2H, m), 7.27 - 7.33 (1H, m), 7.34 - 7.38 (4H, m). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 494

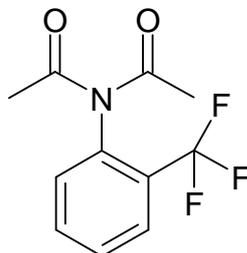
Preparación de 1-((3*S*,5*R*)-3,5-dimetil-4-(2-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)etil)piperazin-1-il)etanona



Se agitaron 4-(4-(2-((2*S*,6*R*)-4-acetil-2,6-dimetilpiperazin-1-il)etoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de bencilo (2.18 g, 4.42 mmol) y paladio sobre carbón al 10% (0.470 g, 0.44 mmol) en MeOH (45 mL) en una atmósfera de hidrógeno durante 5 horas. A continuación, la mezcla se filtró y evaporó a sequedad para obtener 1-((3*S*,5*R*)-3,5-dimetil-4-(2-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)etil)piperazin-1-il)etanona (1.502 g, 95%) como una goma amarillo pálido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1.07 - 1.1 (6H, m), 1.48 (2H, cd), 1.70 (2H, d), 1.97 (3H, s), 2.5 - 2.66 (7H, m), 2.99 (2H, t), 3.01 - 3.07 (2H, m), 3.85 (2H, s a), 4.00 (2H, t), 6.82 - 6.86 (2H, m), 7.09 - 7.13 (2H, m). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 360

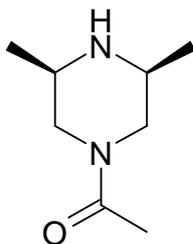
La 1-((3*S*,5*R*)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona utilizada como material de partida se preparó tal como sigue:-

Preparación de *N*-acetil-*N*-(2-(trifluorometil)fenil)acetamida



Se añadió gota a gota cloruro de acetilo (132 mL, 1861.91 mmol) durante 30 minutos a 2-(trifluorometil)anilina (100 g, 620.64 mmol) y piridina (200 mL, 2482.55 mmol) en tolueno (500 mL) enfriado a 0 °C. La reacción se calentó hasta 50 °C y se agitó durante 20 horas. A continuación, la mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y se lavó dos veces con ácido cítrico acuoso 1M (250 mL). La mezcla producto crudo se evaporó a continuación hasta la mitad del volumen y se trató con heptano (500 mL). La suspensión espesa resultante se agitó a 5 °C durante 4 horas y a continuación, el precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con heptano (500 mL) y se secó al vacío. Esto proporcionó *N*-acetil-*N*-(2-(trifluorometil)fenil)acetamida (93 g, 59.1%) como un sólido marrón claro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 2.18 (6H, s), 7.58 - 7.93 (4H, m). *m/z* ES+ [M+H]⁺ 246

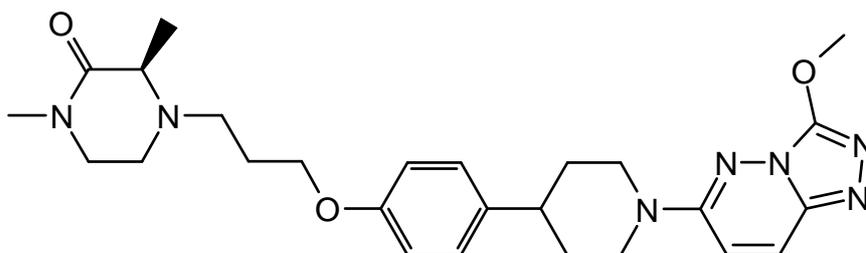
Preparación de 1-((3*R*,5*S*)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona



Se añadió *N*-acetil-*N*-(2-(trifluorometil)fenil)acetamida (13.28 g, 52.54 mmol) a (2*R*,6*S*)-2,6-dimetilpiperazina (5 g, 43.79 mmol) en EtOH (75 mL) y la mezcla se calentó a temperatura ambiente durante 24 horas. A continuación, esta se evaporó a sequedad, se redisolvió en DCM (25 mL) y se lavó con HCl acuoso 2M (25 mL). A continuación, la

solución acuosa se basificó hasta pH 14 con NaOH acuoso concentrado y se extrajo con DCM (2 x 25 mL). Los extractos orgánicos combinados se evaporaron a sequedad para obtener un líquido amarillo. Este se purificó mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 a un 10% de NH₃ 7M/MeOH en DCM. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 1-((3*S*,5*R*)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (4.00 g, 66.7%) como un aceite tostado pálido. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 100 °C) 0.98 (6H, d), 1.78 (1H, s a), 1.96 (3H, s), 2.26 (2H, s a), 2.58 - 2.68 (2H, m), 3.94 (2H, s a).

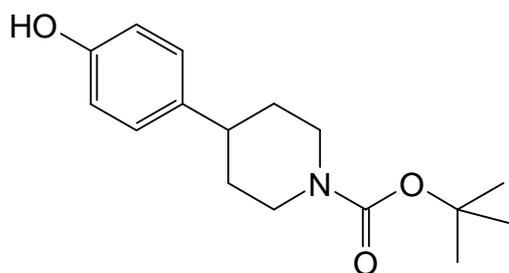
Ejemplo 3 : Preparación de la (*R*)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona



Se añadió trietilamina (0.396 mL, 2.84 mmol) a 6-cloro-3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazina (obtenida tal como se ha descrito en el Ejemplo 1, preparación de los materiales de partida) (350 mg, 1.90 mmol) y (*R*)-1,3-dimetil-4-(3-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)propil)piperazin-2-ona (655 mg, 1.90 mmol) en DMF (10 mL) y la mezcla se calentó a 56 °C durante 5 horas. La solución del producto crudo se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico, utilizando una columna SCX. El producto deseado se eluyó de la columna utilizando NH₃ 7M/MeOH y se evaporó a sequedad para obtener una goma marrón. Esta se purificó adicionalmente mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 a un 10% de MeOH en DCM. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener (*R*)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (140 g, 14.96%) como una espuma marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C); 1.20 (3H, d), 1.64 (2H, m), 1.86 (4H, m), 2.45 (2H, m), 2.72 (2H, m), 2.82 (3H, s), 3.00 (4H, m), 3.25 (2H, m), 3.98 (2H, tr), 4.19 (3H, s), 4.30 (2H, m), 6.87 (2H, dd), 7.17 (2H, dd), 7.30 (1H, d), 7.86 (1H, d). *m/z* ES+ [M+H]⁺ = 494

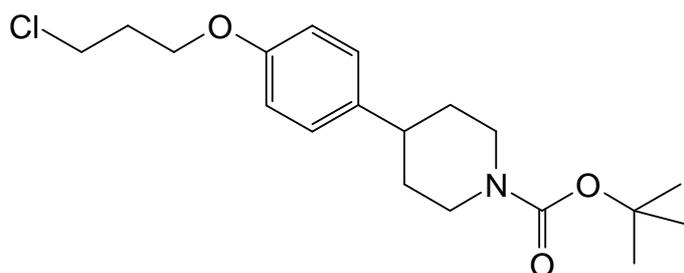
La (*R*)-1,3-dimetil-4-(3-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)propil)piperazin-2-ona utilizada como material de partida se preparó de la siguiente manera:-

Preparación de 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo



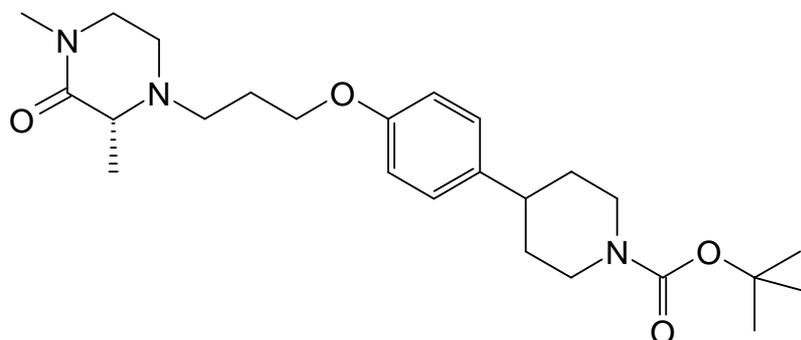
Se añadió lentamente trietilamina (23.76 mL, 170.44 mmol) a bromhidrato de 4-(piperidin-4-il)fenol (obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 1, preparación de los materiales de partida) (40 g, 154.95 mmol) en DCM (190 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 20 minutos y a continuación, se añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (35.5 g, 162.69 mmol). El baño de hielo se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se lavó secuencialmente con agua (2 x 200 mL) y salmuera saturada (200 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener el producto crudo. Al sólido se añadió MTBE (150 mL) y se sonicó y se mantuvo en forma de suspensión espesa durante 2 horas. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con heptano (200 mL) y se secó al vacío para obtener 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo (36.0 g, 84%) como un producto sólido blanco cremoso. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 27 °C) 1.40 (9H, s), 1.44 (2H, d), 1.68 (2H, d), 2.49 - 2.59 (1H, m), 2.76 (2H, s), 4.03 (2H, d), 6.63 - 6.7 (2H, m), 6.96 - 7.04 (2H, m), 9.13 (1H, s). *m/z* [ES-] M- = 276

Preparación de 4-(4-(3-cloropropoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo



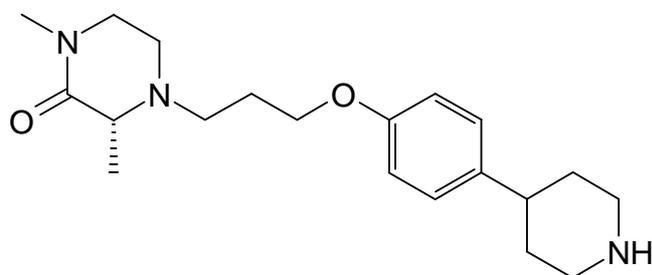
5 A una solución agitada de 4-(4-hidroxifenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo (9.99 g, 36.02 mmol) en MeCN (200 mL) se añadieron 1-bromo-3-cloropropano (14.27 mL, 144.07 mmol) y carbonato de potasio (19.91 g, 144.07 mmol). La reacción se agitó a 80 °C durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (125 mL) y se extrajo con DCM (200 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener 4-(4-(3-cloropropoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo (12.75 g, 100%) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, 30 °C) 1.48 (9H, s), 1.54 - 1.65 (2H, m), 1.79 (2H, d), 2.20 (2H, d), 2.59 (1H, tt), 2.78 (2H, t), 3.56 (2H, t), 4.02 - 4.13 (2H, m), 4.23 (2H, d), 6.8 - 6.87 (2H, d), 7.03 - 7.17 (2H, d).

Preparación de (R)-4-(4-(3-(2,4-dimetil-3-oxopiperazin-1-il)propoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo



10 Se añadió DIPEA (28.2 mL, 162.13 mmol) a una suspensión de clorhidrato de (*R*)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (7.12 g, 43.23 mmol), 4-(4-(3-cloropropoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo (12.75 g, 36.03 mmol) y yoduro de potasio (5.98 g, 36.03 mmol) en DMA (100 mL). La solución se calentó hasta 120 °C durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluyó con agua (200 mL) y se extrajo con DCM (200 mL). La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se evaporó para obtener el producto crudo. Este se purificó mediante cromatografía flash en sílice, diluyendo con un 10% de MeOH en EtOAc. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener (*R*)-4-(4-(3-(2,4-dimetil-3-oxopiperazin-1-il)propoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo (15.50 g, 97%) como un aceite marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.19 - 1.22 (3H, d), 1.42 (9H, s), 1.71 (2H, d), 1.8 - 1.9 (2H, m), 1.96 (2H, s), 2.37 - 2.49 (1H, m), 2.60 (1H, ddt), 2.80 (5H, d), 2.93 - 3.05 (4H, m), 3.2 - 3.28 (2H, m), 4.05 (2H, dd), 6.8 - 6.9 (2H, m), 7.12 (2H, dd). *m/z* ES+ [M+H]⁺ = 446

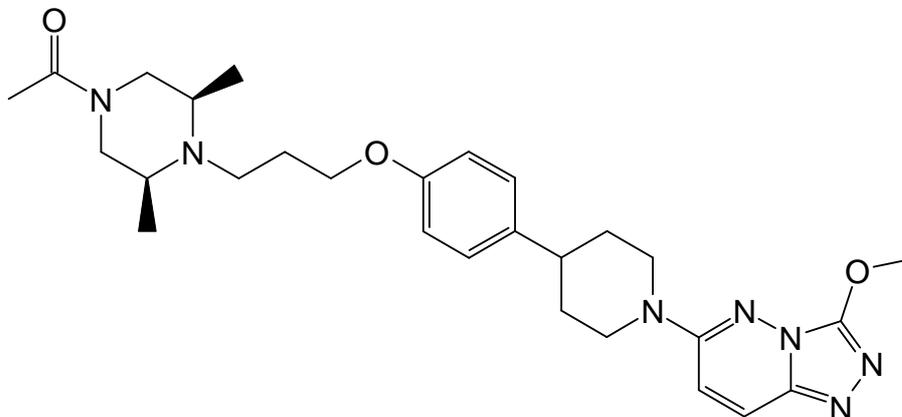
Preparación de 1(*R*)-1,3-dimetil-4-(3-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)propil)piperazin-2-ona



25 Se añadió cloruro de hidrógeno 4.0 M en dioxano (34.8 mL, 139.14 mmol) a una suspensión de (*R*)-4-(4-(3-(2,4-dimetil-3-oxopiperazin-1-il)propoxi)fenil)piperidino-1-carboxilato de *tert*-butilo (15.5 g, 34.78 mmol) en dioxano (20 mL). La solución se agitó a 20 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se evaporó para obtener el producto crudo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico, utilizando una columna SCX. El producto deseado se eluyó de la columna utilizando NH₃ 7M/MeOH y las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener (*R*)-1,3-dimetil-4-(3-(4-(piperidin-4-il)fenoxi)propil)piperazin-2-ona (10.50 g, 87%) como un aceite marrón. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 1.21 (3H, d), 1.73 - 1.93 (6H, m), 2.4 - 2.46 (1H, m), 2.68 - 2.78 (2H, m), 2.80 (3H, s),

2.92 - 3.04 (4H, m), 3.18 (1H, d), 3.22 - 3.27 (2H, m), 3.35 (2H, s), 3.98 (2H, t), 6.89 (2H, d), 7.13 (2H, d), 8.79 (1H, s a). m/z ES+ [M+H]⁺ = 346

Ejemplo 4 : Preparación de 1-((3R,5S)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona



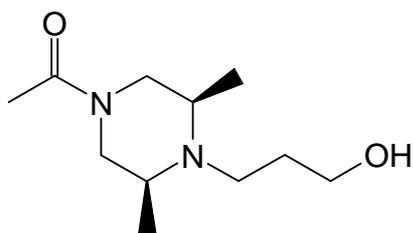
5

Se añadió tributilfosfina (1.441 mL, 5.84 mmol) gota a gota a 4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenol (obtenido tal como se ha descrito en el Ejemplo 1, preparación de los materiales de partida) (0.95 g, 2.92 mmol), 1-((3R,5S)-4-(3-hidroxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (0.751 g, 3.50 mmol) y (*E*)-diazeno-1,2-diilbis(piperidin-1-il)metanona (1.473 g, 5.84 mmol) en DCM desgasificado (20 mL) en nitrógeno. La mezcla resultante se agitó durante 90 minutos y a continuación se filtró. La solución del producto crudo se purificó mediante cromatografía de intercambio iónico, utilizando una columna SCX. El producto deseado se eluyó de la columna utilizando NH₃ 1M/MeOH y se evaporó a sequedad para obtener una goma marrón pálido. Esta se purificó adicionalmente mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 a un 10% de NH₃ 7M/MeOH en EtOAc. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 1-((3R,5S)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-b]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (0.868 g, 57.0%) como una espuma blanca. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 100 °C) 1.04 (6H, d), 1.69 (2H, cd), 1.76 - 1.84 (2H, m), 1.88 - 1.94 (2H, m), 1.96 (3H, s), 2.51 - 2.55 (2H, m), 2.56 - 2.7 (2H, m), 2.74 - 2.82 (3H, m), 3.06 (2H, td), 3.81 (2H, s a), 3.98 (2H, t), 4.21 (3H, s), 4.27 (2H, d), 6.83 - 6.87 (2H, m), 7.13 - 7.18 (3H, m), 7.74 (1H, d). m/z ES+ [M+H]⁺ 522

La 1-((3R,5S)-4-(3-hidroxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona empleado como material de partida, se preparó tal como sigue:-

20

Preparación de 1-((3R,5S)-4-(3-hidroxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona

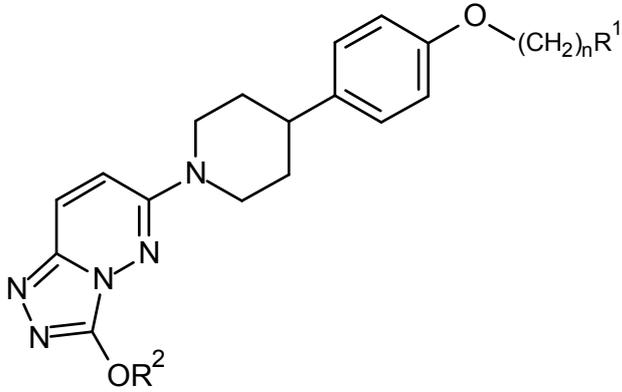


Se añadió 3-bromopropan-1-ol (6.41 mL, 70.84 mmol) a 1-((3R,5S)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (obtenida tal como se ha descrito en el Ejemplo 2, preparación de los materiales de partida) (6.51 g, 41.67 mmol) y carbonato de potasio (14.40 g, 104.18 mmol) en 2-metiltetrahydrofurano (40 mL). La mezcla resultante se agitó a 80 °C durante 18 horas, a continuación se filtró y se evaporó a sequedad. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash en sílice, gradiente de elución de un 0 a un 6% de NH₃ 7M/MeOH en DCM. Las fracciones puras se evaporaron a sequedad para obtener 1-((3R,5S)-4-(3-hidroxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona (0.749 g, 8.39%) como un aceite incoloro. ¹H RMN (400 MHz, DMSO, 30 °C) 0.96 - 1.03 (6H, m), 1.39 - 1.5 (2H, m), 1.96 (3H, s), 2.19 - 2.28 (1H, m), 2.28 - 2.36 (1H, m), 2.39 - 2.47 (1H, m), 2.67 - 2.77 (3H, m), 3.36 (2H, t), 3.60 (1H, dt), 4.12 (1H, dt), 4.36 (1H, s a).

30

REIVINDICACIONES

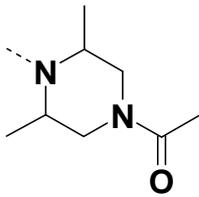
1. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables



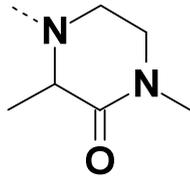
(I)

5 donde:-

R¹ es el grupo



o el grupo

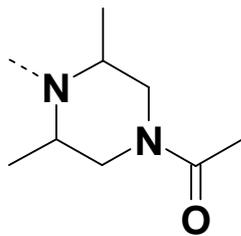


10 y ---- indica el punto de unión;

R² es un alquilo C₁-C₄; y

n es 2 o 3.

2. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde R¹ es el grupo



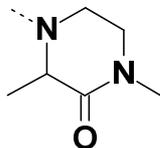
15

donde ---- indica el punto de unión;

R² es alquilo C₁-C₄; y

n es 2 o 3.

3. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde R¹ es el grupo

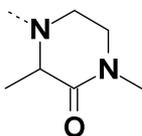


5 donde ---- indica el punto de unión;

R² es alquilo C₁-C₄; y

n es 2 o 3.

4. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde R¹ es el grupo



10

donde ---- indica el punto de unión;

R² es alquilo C₁-C₄; y

n es 2.

15 5. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde el compuesto se selecciona entre:

4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona;

1-(4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona;

4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona; y

1-(4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona.

20 6. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde el compuesto se selecciona entre:

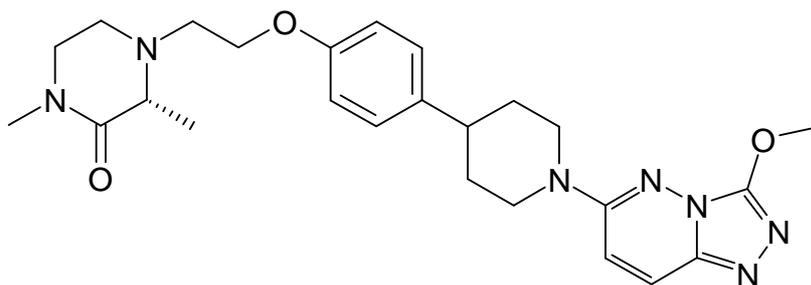
(*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona (denominado posteriormente en la presente Compuesto A);

25 1-((3*S*,5*R*)-4-(2-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)etil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona;

(*R*)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-1,3-dimetilpiperazin-2-ona; y

1-((3*R*,5*S*)-4-(3-(4-(1-(3-metoxi-[1,2,4]triazolo[4,3-*b*]piridazin-6-il)piperidin-4-il)fenoxi)propil)-3,5-dimetilpiperazin-1-il)etanona.

30 7. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 6, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, de Fórmula (IA):



(IA)

8. Un compuesto tal como se reivindica en la reivindicación 7 de Fórmula (IA).
- 5 9. Un compuesto tal como se reivindica en las reivindicaciones 7 y 8 en una forma cristalina que tiene un patrón de XRPD con al menos dos picos específicos en $2\text{-theta} = 20.9^\circ$ y 16.7° , $\pm 0.2^\circ$ 2-theta , medido utilizando radiación $\text{CuK}\alpha$.
10. Un cocrystal del compuesto de Fórmula (IA), de acuerdo con la reivindicación 7, y la molécula coformadora ácido 6-hidroxi-2-naftoico.
- 10 11. Un cocrystal del compuesto de Fórmula (IA), de acuerdo con la reivindicación 7, y ácido 6-hidroxi-2-naftoico que se puede obtener mediante las etapas de
- i) mezclar una solución del compuesto de Fórmula (IA) en un disolvente adecuado con el cocrystal de ácido 6-hidroxi-2-naftoico en un disolvente adecuado; y
- ii) secar la mezcla resultante de la etapa (i) para obtener un sólido.
- 15 12. Un compuesto tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal tal como se reivindica en las reivindicaciones 10 y 11 para su uso como un medicamento.
13. Un compuesto tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal tal como se reivindica en las reivindicaciones 10 y 11, para su uso en la prevención o tratamiento del cáncer en un animal de sangre caliente tal como el hombre.
- 20 14. Un compuesto tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o un cocrystal tal como se reivindica en las reivindicaciones 10 y 11 para su uso en el tratamiento del cáncer de ovario, leucemia mieloide aguda y de linaje mixto (AML), mieloma múltiple (MM), linfoma difuso de linfocitos B grandes (DLBCL), cáncer de próstata resistente a la castración (CRPC), cáncer de pulmón no microcítico (NSCLC), cáncer de pulmón microcítico (SCLC), cáncer de mama, glioblastoma y neuroblastoma en un
- 25 animal de sangre caliente tal como el hombre.
15. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, tal como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o un cocrystal tal como se reivindica en las reivindicaciones 10 y 11 y un diluyente o portador farmacéuticamente aceptable.

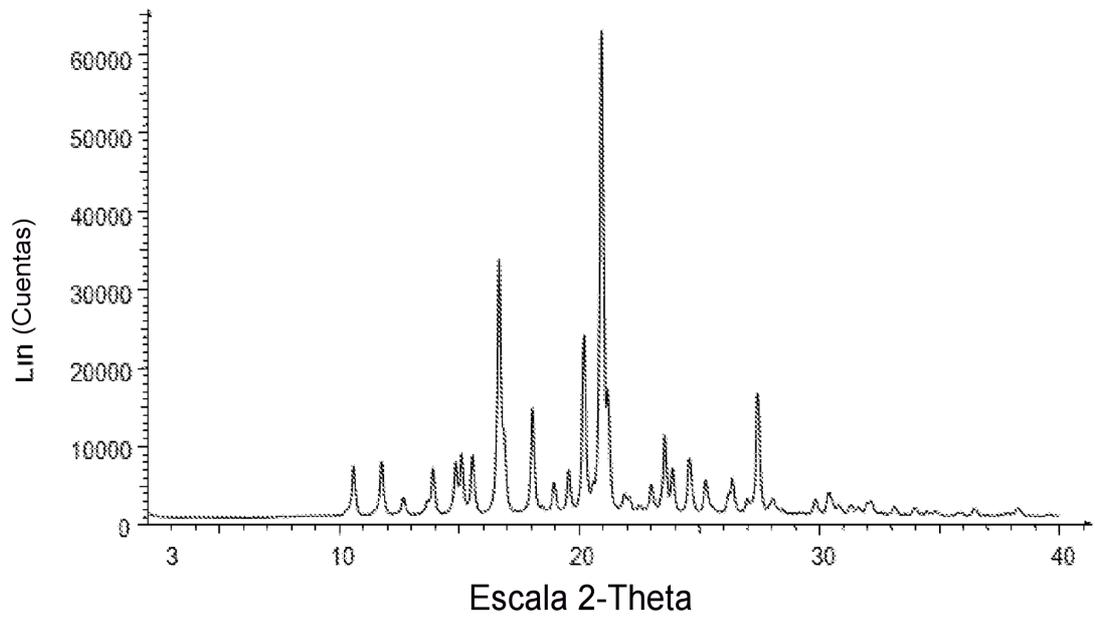


Figura A: Patrón de difracción de rayos X de polvo del Compuesto A, Forma A

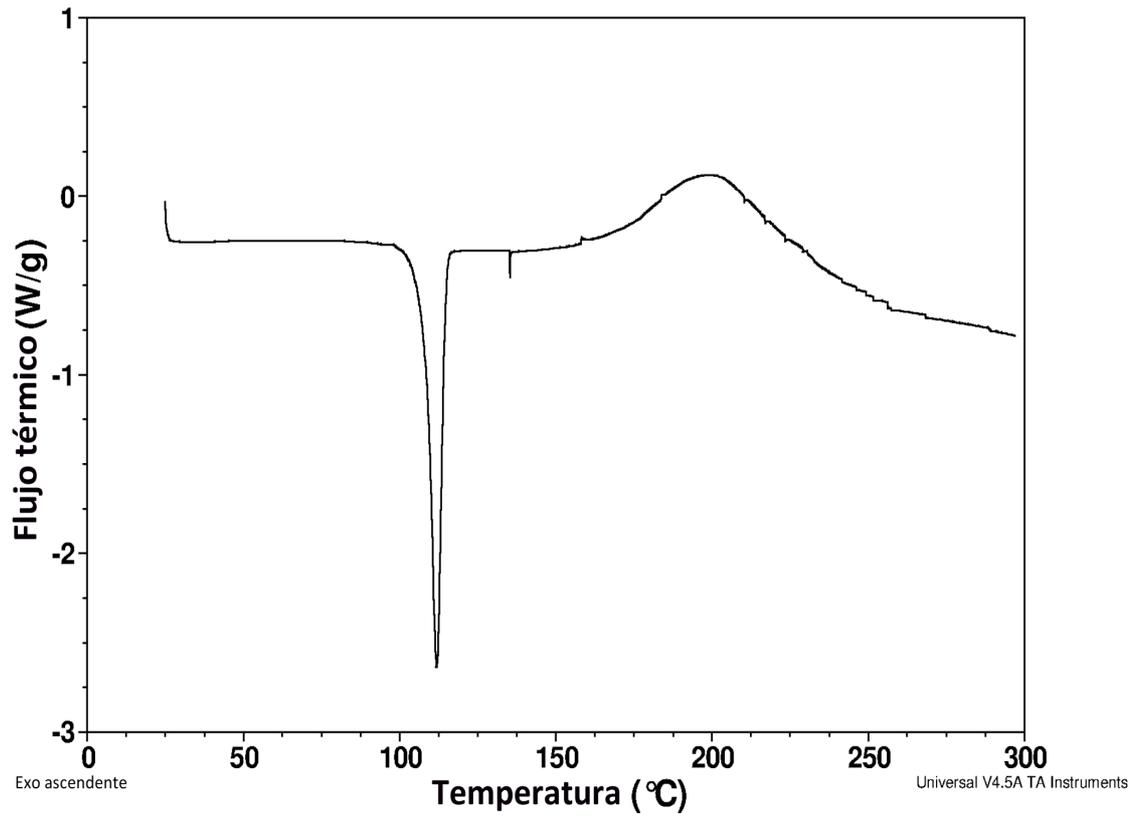
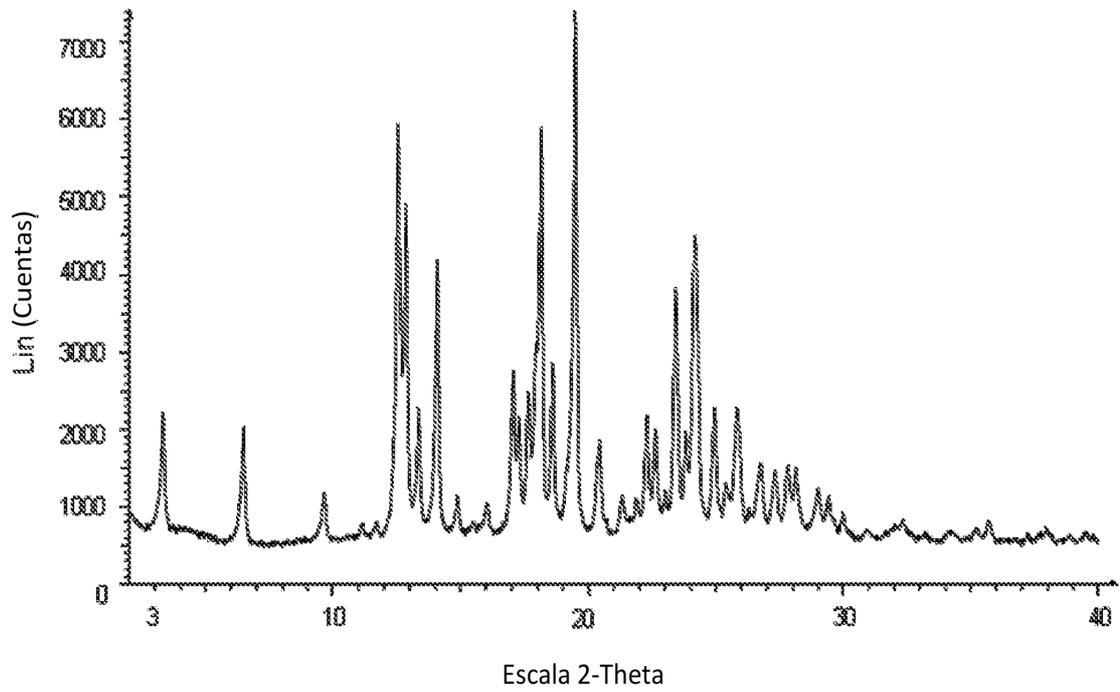
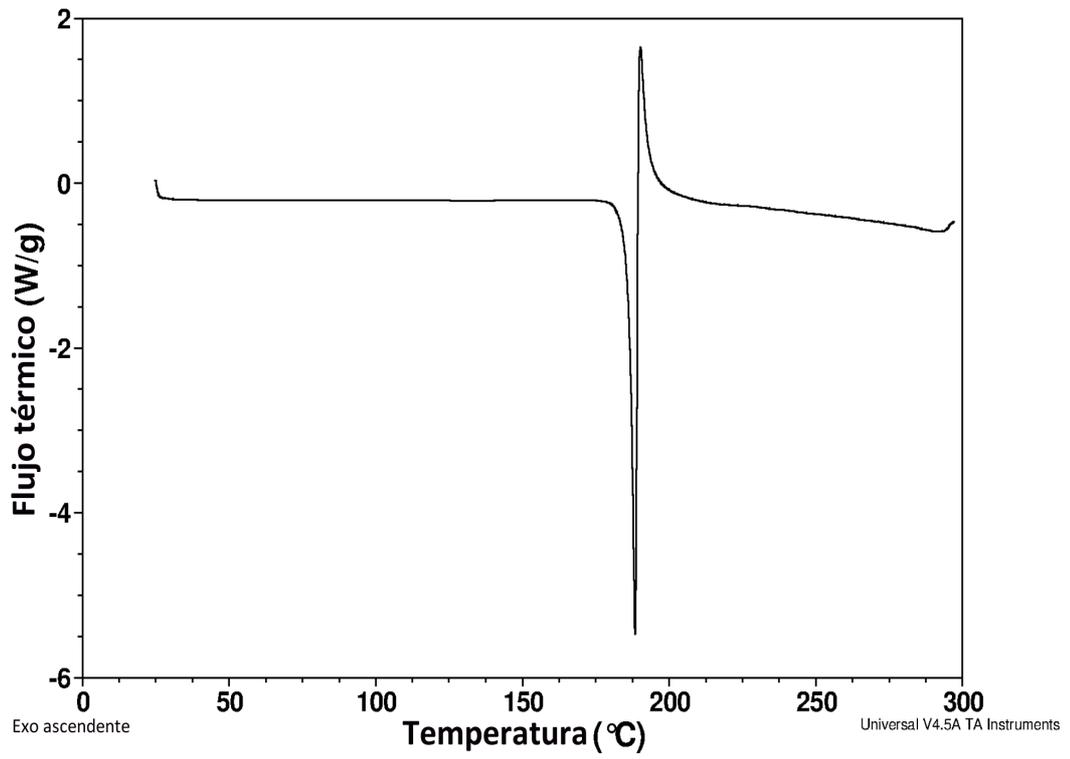


Figura B: Termograma de DSC del Compuesto A, Forma A



**Figura C: Patrón de difracción de rayos X de polvo del cocrystal (1:1) del
Compuesto A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A**



**Figura D: Termograma de DSC del cocrystal (1:1) del
Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A**

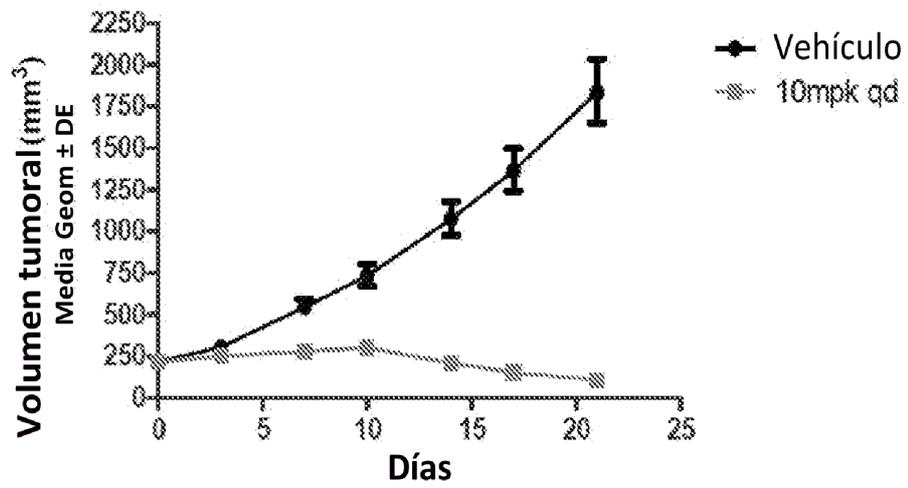


Figura E: Gráfico del volumen tumoral frente al tiempo

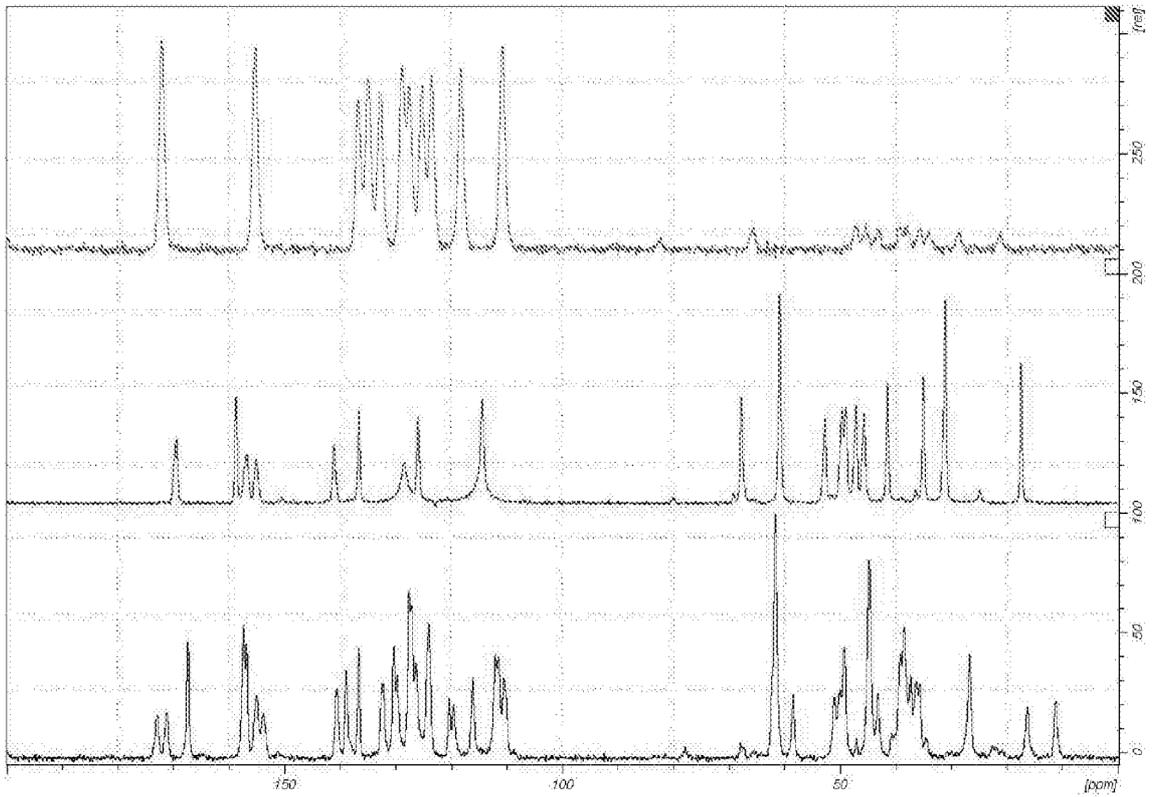


Figura F: Gráfico apilado de espectros de RMN en estado sólido de ¹³C

**(espectro inferior: cocrystal (1:1) del Compuesto
A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A
espectro del centro: Compuesto A (base libre)
espectro superior: ácido 6-hidroxi-2-naftoico)**

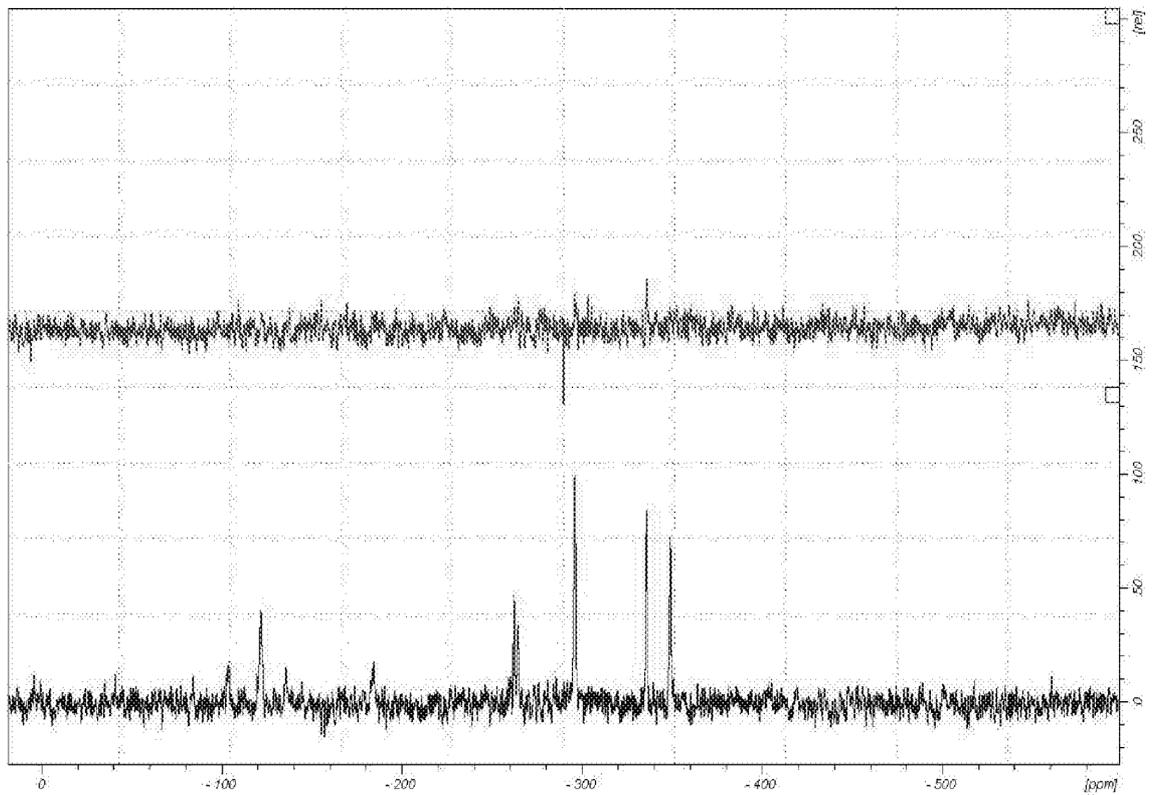


Figura G: Gráfico apilado de espectros de RMN en estado sólido de 15N

Cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A

**(espectro inferior - tiempo de contacto 2 ms)
(espectro superior - tiempo de contacto 200 μs)**

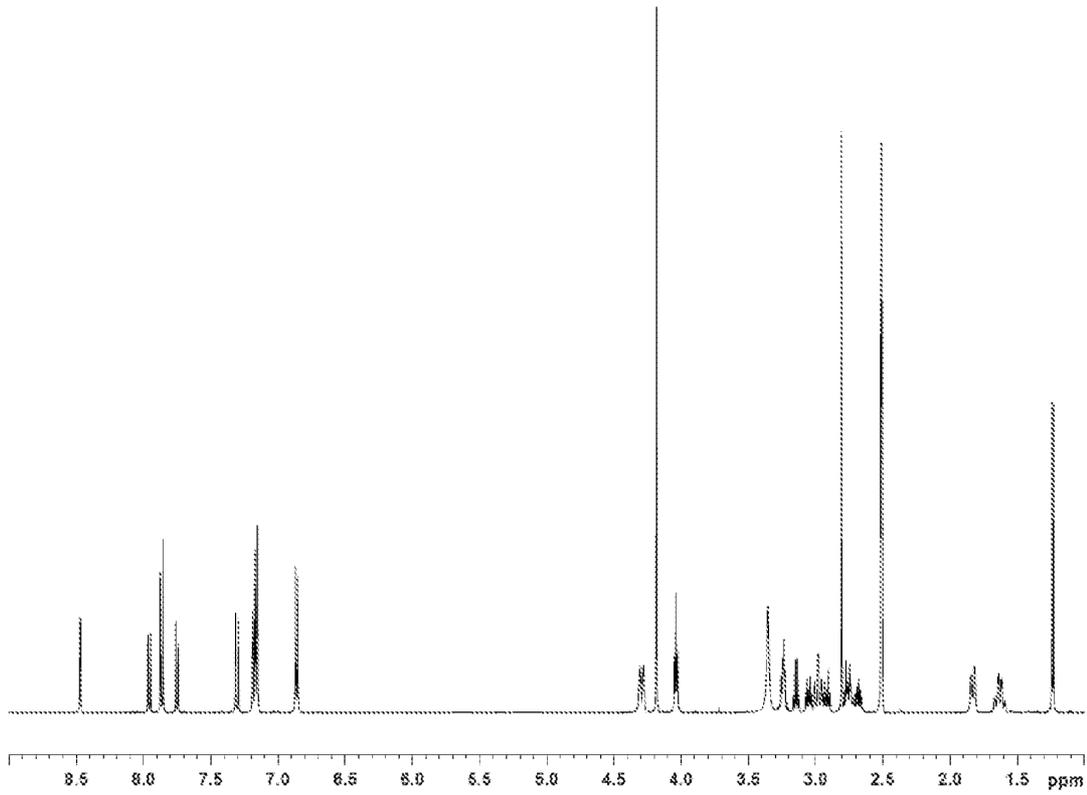


Figura H

Espectro de 1H RMN del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A

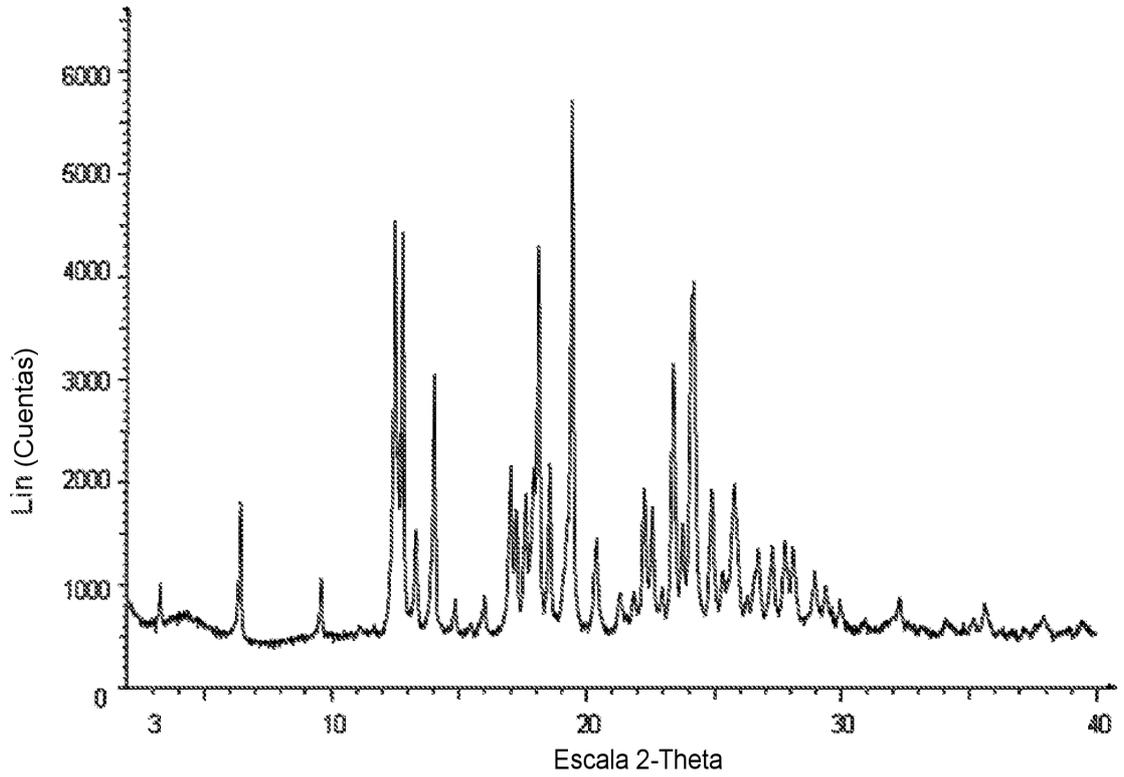


Figura I: Patrón de difracción de rayos X de polvo del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A

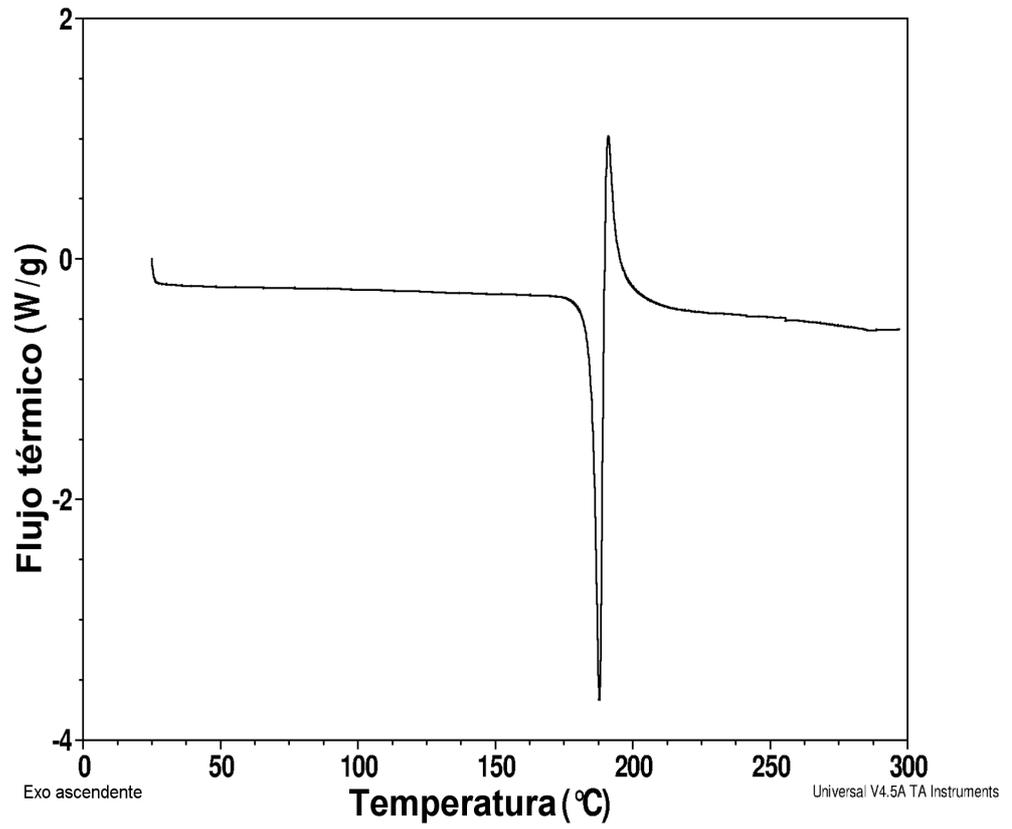


Figura J: Termograma de DSC del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma A

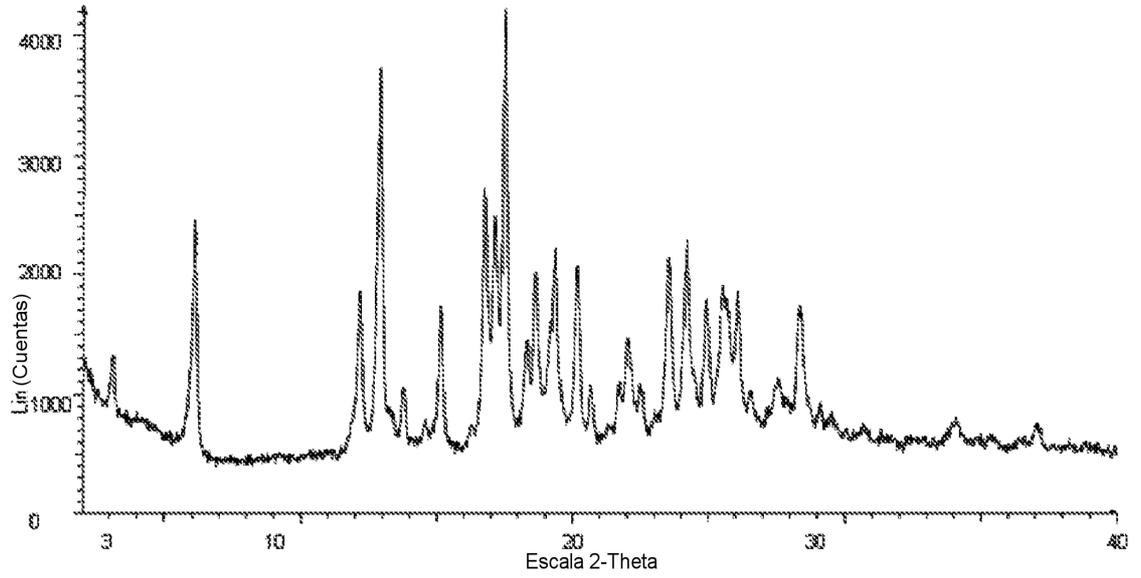
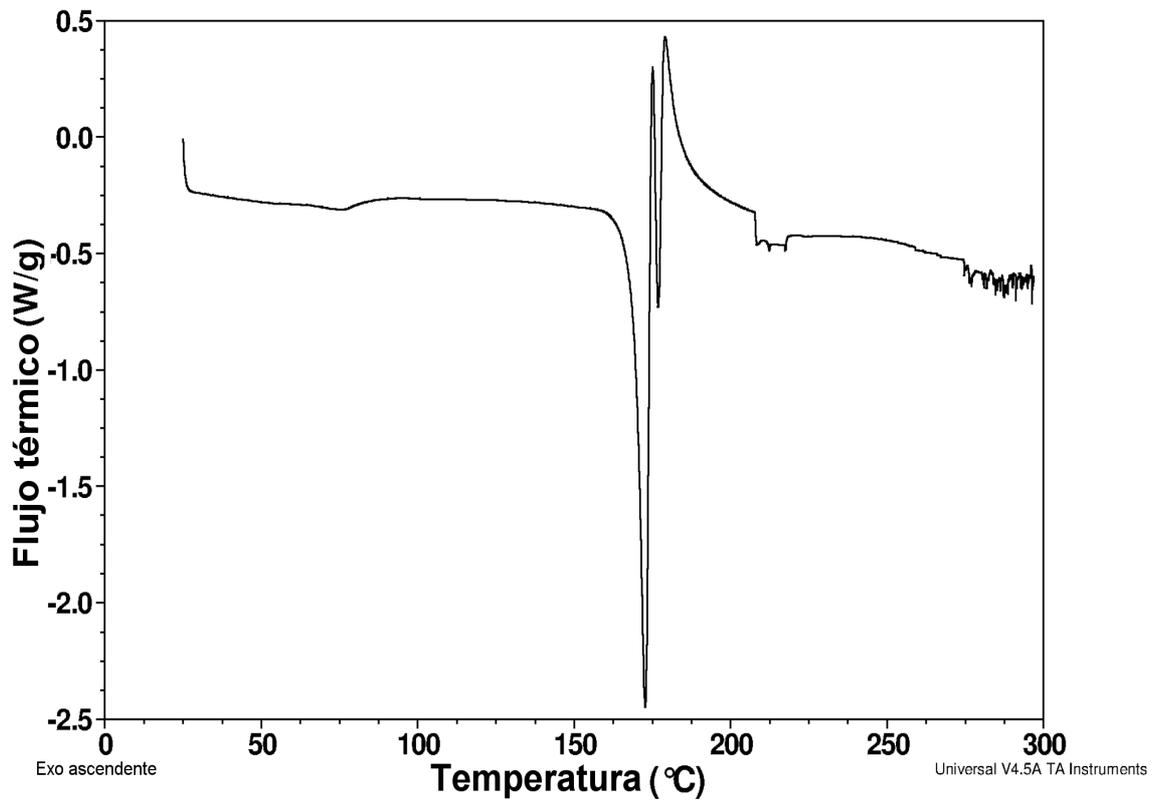


Figura K: Patrón de difracción de rayos X de polvo del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma B



**Figura L: Termograma de DSC del cocrystal (1:1) del Compuesto
A: ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma B**

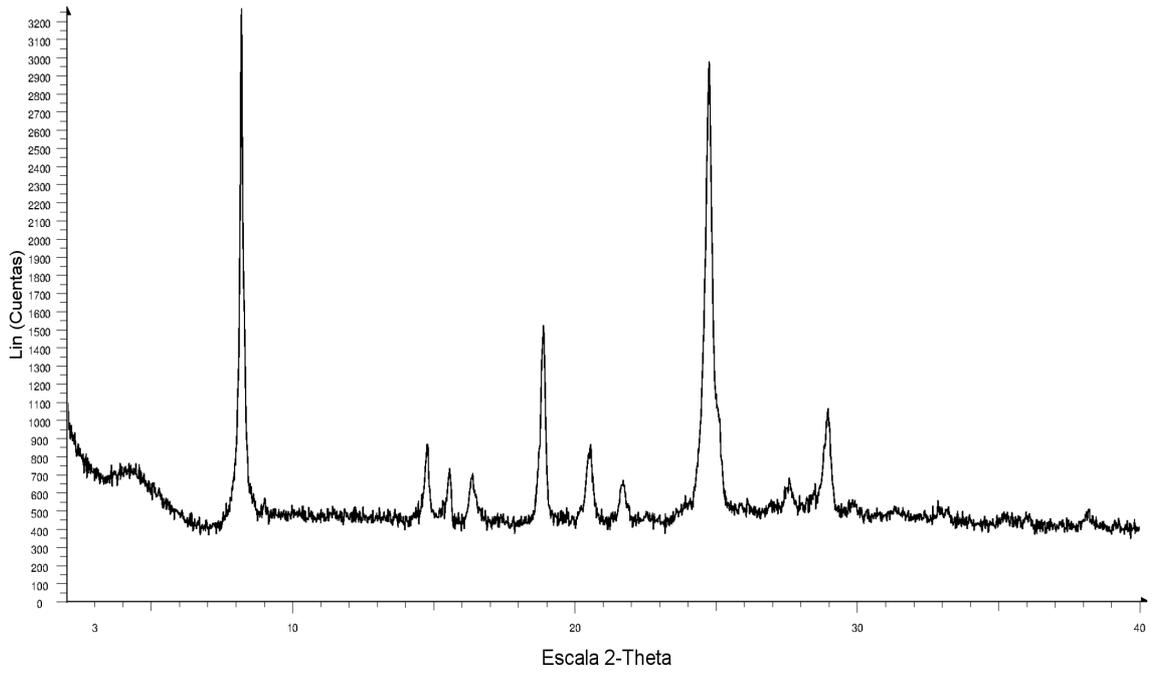
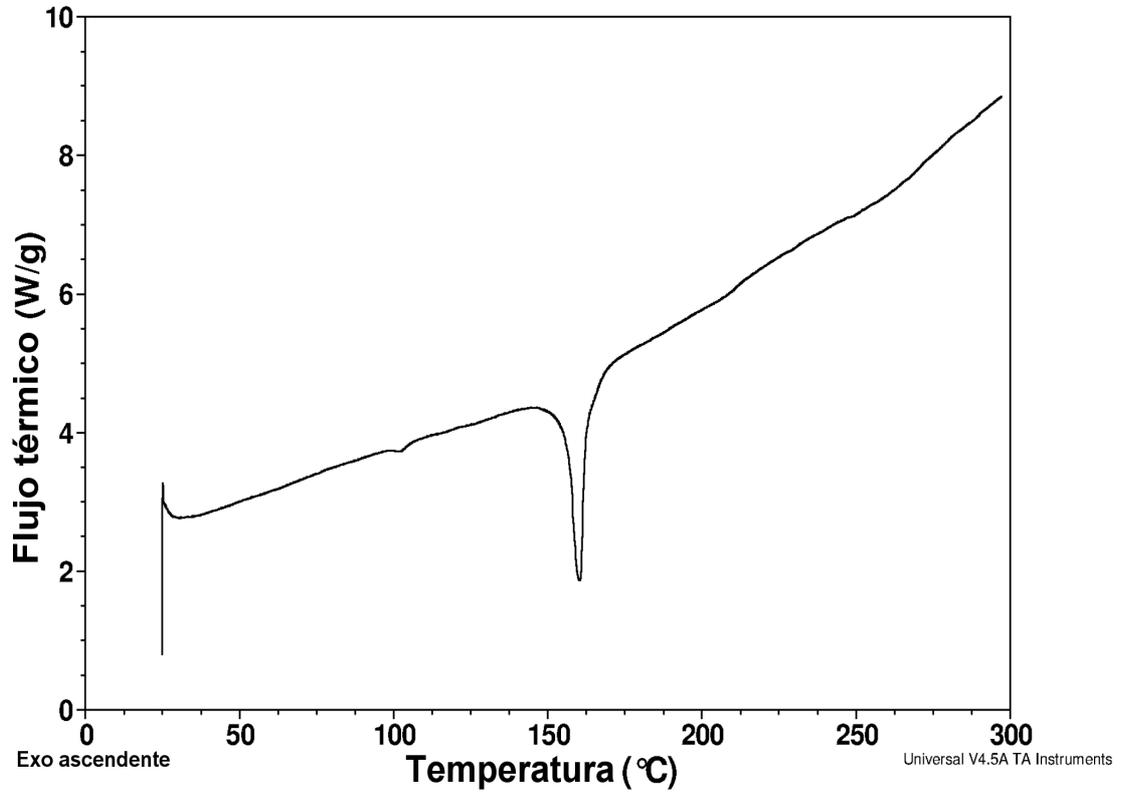


Figura M: Patrón de difracción de rayos X de polvo del cocrystal (1:1) del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma C



**Figura N: Termograma de DSC del cocrystal (1:1)
del Compuesto A:ácido 6-hidroxi-2-naftoico, Forma C**