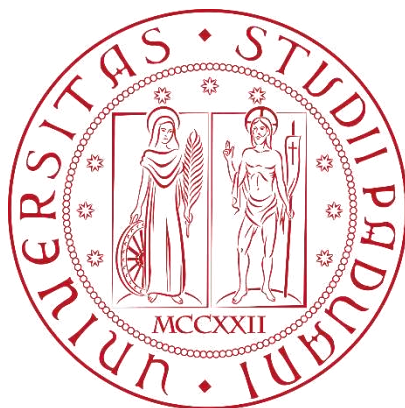


**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA**

**DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA**

**Corso di Laurea in Biotecnologie**



**ELABORATO DI LAUREA**

**FARMACI ANTITUMORALI  
AGNOSTICI E ONCOLOGIA DI  
PRECISIONE**

**Tutor: Prof.ssa Chilin Adriana**

**Dipartimento di Scienze del Farmaco**

**Laureando: Borgato Davide  
Matricola n. 2033075**

**ANNO ACCADEMICO 2023/2024**



## Sommario

1. Abstract .....	1
2. Introduzione .....	2
2.1 Terapia agnostica.....	2
2.2 Bersagli Molecolari.....	3
2.2.1 Trk.....	4
2.2.2 ROS1 .....	5
2.2.3 ALK.....	6
3. Sviluppo di entrectinib .....	7
3.1 Scoperta degli inibitori di chinasi .....	7
3.2 Identificazione e ottimizzazione dell'hit compound .....	8
3.2.1 Derivatizzazione dell'anello benzamidico A .....	9
3.2.2 Modificazione del pattern di sostituzione dell'anello fenilico fluorurato B .....	9
3.2.3 Modificazione del gruppo N-metilpiperazinilico in posizione <i>para</i> dell'anello A.....	10
3.3 Caratterizzazione del lead compound e studi preclinici.....	10
3.3.1 Saggi in vitro.....	10
3.3.2 Saggi in vivo .....	11
4. Il candidato clinico .....	12
4.1 Struttura chimica di entrectinib.....	12
4.2 Sintesi di entrectinib .....	12
4.3 Farmacodinamica.....	14
4.4 Farmacocinetica .....	15
4.4.1 Assorbimento .....	15
4.4.2 Distribuzione.....	15
4.4.3 Metabolismo .....	15
4.4.4 Escrezione .....	16
5. Studi clinici .....	17
5.1 Studi clinici di fase 1.....	17
5.2 Studi clinici di fase 2.....	18
5.3 Efficacia terapeutica.....	18
5.4 Tossicità .....	19
5.4.1 Teratogenicità.....	20
5.5 Potenziali interazioni farmaco-farmaco .....	20
5.6 Farmacoresistenza.....	20

6. Conclusioni .....	21
7. Bibliografia .....	22



## 1. Abstract

Nuove frontiere terapeutiche sono state investigate nell'ambito del trattamento dei tumori. Se inizialmente si prediligeva un approccio paziente-centrico, in cui erano le caratteristiche istologiche del tumore a condizionare la scelta terapeutica, ora invece si stanno esplorando le potenzialità di un approccio agnostico, che consente a individui affetti da neoplasie differenti di essere candidati alla stessa terapia. I farmaci antitumorali agnostici sono attivi su alterazioni che guidano la crescita delle cellule cancerose in più tumori. Per questo motivo, la loro efficacia non dipende dalla localizzazione anatomica o dallo specifico istotipo del tumore, quanto più dalla presenza di specifiche mutazioni che possono essere identificate attraverso test di profilazione genomica. In questo scenario si inserisce entrectinib, farmaco approvato dall'AIFA per l'immissione in commercio sia come terapia a bersaglio molecolare che come terapia agnostica.

L'obiettivo di questo elaborato è inserire entrectinib nel panorama dell'emergente terapia personalizzata contro il cancro e contribuire alla comprensione dell'oncologia di precisione.

## 2. Introduzione

### 2.1 Terapia agnostica

In un contesto in cui l'oncologo medico procede a selezionare la terapia più indicata per il suo paziente sulla base di una rigorosa valutazione dello specifico istotipo del tumore, la terapia agnostica si è inserita come un paradigma innovativo. Questo approccio consente al paziente di ricevere un trattamento altamente mirato e specializzato.

I candidati alla terapia sono pazienti per i quali è possibile ricondurre lo sviluppo e la proliferazione delle cellule tumorali a specifiche alterazioni molecolari. Tali alterazioni sono state identificate in diversi tipi di tumori. Come conseguenza, tumori diversi possono essere sottoposti alla stessa terapia se condividono le medesime alterazioni molecolari.

Il farmaco antitumorale agnostico è sviluppato e ottimizzato perché:

- interagisca con questi bersagli molecolari;
- interferisca con i meccanismi di proliferazione incontrollata delle cellule neoplastiche.

Tuttavia, affinché sia possibile realizzare la terapia agnostica, la caratterizzazione del profilo genomico del tumore deve essere condotta. Ciò prevede l'applicazione di tecnologie come il sequenziamento di nuova generazione (NGS).

Questa tecnica consente di mettere in evidenza le specifiche alterazioni molecolari che hanno innescato la carcinogenesi. Inoltre, NGS presenta enormi potenzialità: l'analisi può essere eseguita su singoli geni, su gruppi di geni associati a particolari forme sindromiche, sull'esoma o sull'intero genoma.

Nonostante NGS sia una importante risorsa in ambito diagnostico, non è pensabile richiedere quest'analisi per ciascun paziente che si ipotizzi essere un valido candidato per la terapia. Le ragioni di questo sono da ricondurre ai costi che la diagnostica comporta e all'indisponibilità della strumentazione necessaria in molti laboratori. La necessità di selezionare un gruppo ristretto di candidati alla terapia è consolidata anche dall'infrequenza dei bersagli su cui agiscono i farmaci agnostici a nostra disposizione. Inoltre, la profilazione genomica dei tumori mediante NGS genera una mole enorme e complessa di dati e richiede, di conseguenza, un'attenta elaborazione.

Per far fronte a queste difficoltà è stato necessario mettere a punto una profonda riorganizzazione delle reti oncologiche. Sono stati così istituiti e attivati i Tumor Board Molecolari (MTB), sedi multidisciplinari costituite da molti specialisti con competenze diverse, tra cui l'oncologo medico, il patologo, il radiologo, il farmacologo, il bioinformatico, il genetista, il biologo molecolare... Ciascuna di queste figure professionali porta un valore aggiunto al MTB.

L'obiettivo del MTB è selezionare in maniera precisa i pazienti da sottoporre al test di profilazione genomica. Inoltre, una volta effettuata la caratterizzazione molecolare, è compito del MTB interpretare, con una valutazione quanto più

estesa possibile delle caratteristiche del genoma delle cellule tumorali, le diverse opportunità di trattamento per raggiungere una decisione terapeutica appropriata per il paziente.

Tra i farmaci antitumorali agnostici rientra entrectinib, inibitore tirosinchinasico indicato in monoterapia per il trattamento di:

- Pazienti adulti affetti da carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) in stadio avanzato o metastatico ROS1-positivo che non sono stati precedentemente trattati con inibitori di ROS1, o
- Pazienti pediatrici di età pari o superiore ai 12 anni o adulti affetti da tumori solidi positivi alla fusione dei geni NTRK che non possono essere sottoposti a resezione chirurgica e non sono stati precedentemente trattati con un inibitore di NTRK.

Entrectinib inibisce particolari recettori chinasi che, quando attivati, innescano delle vie di trasduzione del segnale che stimolano le cellule cancerose a sopravvivere e proliferare. Tra questi si riconoscono:

- I recettori tirosinchinasici correlati alla tropomiosina Trk
- Il proto-oncogene della tirosinchinasi ROS1
- La chinasi del linfoma anaplastico ALK

L'inibizione dei pathway attivati da queste chinasi ha il risultato di sopprimere la proliferazione delle cellule cancerose e indurre il processo apoptotico.

Il meccanismo d'azione di entrectinib riflette la natura del tumore stesso. L'insorgenza e lo sviluppo di un tumore sono processi regolati da più fattori e vie di trasduzione del segnale. Proprio per questo motivo, un farmaco come entrectinib, il quale può agire in modo efficiente su bersagli multipli intrinsecamente legati alla malattia, è particolarmente indicato nella terapia antitumorale. Infatti, questo farmaco multi-target sta dimostrando eccellenti risultati terapeutici e sta superando i difetti che erano stati osservati in seguito alla somministrazione dei cocktail tradizionali. Anche se l'attività di entrectinib contro un singolo bersaglio può essere inferiore rispetto a quella di un farmaco specifico per quello stesso bersaglio, la sinergia risultante dall'azione combinata su più target rende l'effetto totale maggiore della somma dei contributi individuali.

## 2.2 Bersagli Molecolari

Una proteinchinasi è un enzima in grado di catalizzare il trasferimento del gruppo  $\gamma$ -fosfato di una molecola di ATP sul gruppo ossidrilico di un substrato proteico. Questi eventi di fosforilazione proteica sono coinvolti nella complessa regolazione dei processi cellulari (sopravvivenza, proliferazione, differenziamento, e metabolismo).

I ricercatori hanno evidenziato che la causa eziologica alla base di alcune malattie neoplastiche consiste nella mutazione di una specifica chinasi che la rende costitutivamente attiva. L'attività deregolata delle chinasi è causa di aberrazioni



nella fosforilazione proteica che guidano la crescita tumorale, accelerando le vie di trasmissione dei segnali e inibendo i processi apoptotici.

Per questa ragione, le proteinchinasi sono un valido bersaglio nella chemioterapia antitumorale.

Gli inibitori di chinasi interagiscono con il dominio catalitico della chinasi al posto dell'ATP. L'interazione avviene a livello della *hinge region*, la porzione idrofobica che unisce i due lobi (N-terminale e C-terminale) della proteina. Gli inibitori di chinasi sono stati classificati a seconda del loro meccanismo d'azione:

- Gli inibitori di tipo I: legano il conformero attivo dell'enzima competendo direttamente con l'ATP.
- Gli inibitori di tipo II: legano e stabilizzano il conformero inattivo dell'enzima, occupando anche delle tasche accessorie.
- Gli inibitori di tipo III: stabiliscono un legame allosterico con una tasca prossima al sito attivo dell'enzima.
- Gli inibitori di tipo IV: stabiliscono un legame allosterico con una tasca lontana dal sito attivo dell'enzima.

Entrectinib appartiene alla categoria degli inibitori di tipo I; infatti, condivide con gli inibitori di tipo I delle caratteristiche strutturali fondamentali:

- Anello eterociclico aromatico azotato: consiste in un nucleo donatore/accettore di legami idrogeno che sostituisce l'adenina nell'interazione con la *hinge region*.
- Gruppi funzionali lipofili: interagiscono con i siti idrofobici e allosterici in prossimità della *hinge region*, aumentando l'affinità dell'interazione e definendo la selettività di inibizione.

Entrectinib presenta inoltre una funzione accessoria non presente in tutti gli inibitori di tipo I, che consiste in sostituenti a carattere idrofilo che migliorano le proprietà farmacocinetiche del farmaco.

### 2.2.1 Trk

Le chinasi appartenenti alla famiglia Trk sono principalmente espresse nel tessuto nervoso e sono coinvolte nell'attivazione di vie di trasmissione del segnale che coordinano lo sviluppo e il differenziamento neuronale. Tre diverse isoforme di chinasi neurotrofiche legate alla tropomiosina costituiscono la famiglia Trk: TrkA, TrkB, e TrkC. Queste sono codificate rispettivamente dai geni neurotrofici tirosinchinasici NTRK1, NTRK2 e NTRK3.

Inoltre, ciascuna isoforma presenta diversi ligandi:

- TrkA può legarsi con elevata affinità a NGF;
- TrkB può legarsi con elevata affinità a BDNF e NT-4;
- TrkC può legarsi con elevata affinità a NT-3.

Le vie di trasduzione del segnale attivate dai recettori Trk prevedono il coinvolgimento di diversi secondi messaggeri, quali: la chinasi attivata da mitogeno (MAPK) e la fosfoinositide 3-chinasi (PI3K).

Diversi meccanismi sono stati associati all'attivazione di Trk nel cancro:

- Mutazioni somatiche
- Variazione di splicing
- Sovraespressione di Trk
- Fusione di geni NTRK1/2/3

Tra quelli elencati, l'ultimo è il più comune e l'unico bersaglio terapeutico con rilevanza clinica, in quanto non sono stati ancora sviluppati trattamenti appositi per gli altri meccanismi di attivazione oncologica di Trk.

Quando si verifica un riarrangiamento cromosomale tra un gene NTRK ed altri geni, il risultato è una proteina chimerica. Quest'ultima presenta un dominio chinasi costitutivamente attivo, anche in assenza del suo ligando, che è responsabile dell'attivazione dell'incessante cascata di segnale che culmina con l'espansione e la crescita tumorale.

Diversi inibitori di TrkA, TrkB e TrkC sono stati sviluppati, ciascuno con diversi effetti bloccanti. Possono essere suddivisi in:

- Inibitori a spettro ristretto, che inibiscono in modo specifico solo alcune chinasi (es. Larotrectinib);
- Inibitori ad ampio spettro, che inibiscono più chinasi allo stesso tempo (es. Entrectinib).

### 2.2.2 ROS1

Il gene ROS1 è un proto-oncogene localizzato sul braccio lungo del cromosoma 6 che codifica per l'omonimo recettore con attività tirosinchinasica. La proteina è espressa in diversi tessuti, in particolare nel tessuto epiteliale, ed agisce modificando lo stato di fosforilazione di proteine coinvolte in vie di trasmissione del segnale che governano processi come la crescita, il differenziamento, e la proliferazione cellulare.

Esistono diversi meccanismi di attivazione oncologica di ROS1:

- Mutazione somatica ed amplificazione
- Variazione di splicing
- Sovraespressione di ROS1
- Fusione del gene ROS1

Anche in questo caso, il meccanismo più rilevante in ambito clinico è quello che porta alla formazione di un oncogene a partire dalla fusione di una porzione del gene ROS1 con una porzione di un altro gene. Tra i diversi partner di fusione con

cui ROS1 può riarrangiarsi, CD74 è quello che è stato rilevato con maggiore frequenza.

Eventi di riarrangiamento del gene ROS1 sono stati riscontrati circa nel 1-2% dei pazienti affetti da NSCLC.

Gli inibitori di ROS1 hanno dimostrato efficacia anche nei pazienti con riarrangiamento del gene ALK e ciò è stato spiegato dall'analisi dell'omologia di sequenza esistente tra i due geni:

- Il dominio associato all'attività tirosinchinasica del gene ROS1 ha il 49% di omologia con quello del gene ALK.
- Il dominio di legame dell'ATP del gene ROS1 ha il 77% di omologia con quello del gene ALK.

### 2.2.3 ALK

Il gene ALK è un proto-oncogene localizzato sul braccio corto del cromosoma 2 che codifica per un recettore di membrana con attività tirosinchinasica appartenente alla famiglia dei recettori per l'insulina, denominato chinasi del linfoma anaplastico. La proteina ALK consente la trasmissione di segnali tra l'esterno e l'interno della cellula ed è coinvolta nella regolazione della proliferazione cellulare. Il legame del suo ligando, ne induce la dimerizzazione. Successivamente, il recettore in forma dimerica si autofosforila e recluta così le proteine coinvolte nella trasmissione del segnale attraverso diversi pathway (es. RAS/MAPK, PI3K/AKT e JAK/STAT).

Esistono diversi meccanismi di attivazione oncologica di ALK:

- Traslocazione di ALK
- Sovraespressione di ALK
- Riarrangiamento di ALK

Il partner di fusione di ALK che è stato osservato più frequentemente negli eventi di riarrangiamento di ALK è il gene ELM4. Il riarrangiamento del gene ALK con il gene ELM4 porta alla formazione della proteina di fusione ELM4-ALK, la quale è stata osservata circa nel 4-5% dei pazienti affetti da NSCLC.

### 3. Sviluppo di entrectinib

#### 3.1 Scoperta degli inibitori di chinasi

Nel 2001 la Food and Drug Administration (FDA) approvò imatinib, il primo inibitore di chinasi immesso sul mercato come agente antineoplastico per il trattamento di pazienti affetti da leucemia mieloide cronica Ph+.

Imatinib lasciò una traccia indelebile nella storia della chimica farmaceutica e divenne il capostipite della classe di farmaci maggiormente studiata negli anni a venire nell'ambito della ricerca antitumorale.

Dieci anni più tardi dalla scoperta di imatinib, la FDA approvò crizotinib, il primo inibitore di ALK e di ROS1. Venne impiegato come trattamento antitumorale mirato per pazienti affetti da NSCLC positivo per ALK o per ROS1 in stadio avanzato. Nonostante gli studi clinici testimoniassero promettenti risultati terapeutici, i pazienti trattati con crizotinib divennero resistenti al trattamento e andarono incontro a recidiva. Specifiche mutazioni avevano alterato la conformazione del sito di legame per l'ATP, compromettendo l'abilità del farmaco di inibire il bersaglio. Inoltre, il farmaco non era in grado di attraversare in modo efficiente la barriera ematoencefalica; di conseguenza, non era valido nel contrastare le metastasi cerebrali.

Nel 2014, la FDA approvò ceritinib, il secondo inibitore di ALK, il quale venne impiegato nel trattamento di pazienti affetti da NSCLC positivo per ALK in stadio metastatico resistenti al trattamento con crizotinib. Rispetto al suo predecessore, ceritinib era molto più potente e selettivo verso ALK; manteneva l'efficacia terapeutica in alcune cellule mutate resistenti a crizotinib. Inoltre, il farmaco poteva distribuirsi efficientemente nel sistema nervoso centrale ed agire, pertanto, contro le metastasi cerebrali. Tuttavia, il farmaco veniva presto estruso dal sistema nervoso centrale dalla glicoproteina-P e non era quindi in grado di raggiungere elevate concentrazioni nel liquido cerebrospinale. In aggiunta, ceritinib non era efficace nei confronti di cellule che esprimessero alcune mutazioni genetiche di ALK, come la mutazione C1156Y.

Un anno dopo, alectinib venne approvato dalla FDA. Si trattava di un inibitore di ALK di seconda generazione che manteneva molti dei tratti caratteristici di ceritinib ma, a differenza di quest'ultimo, non veniva estruso dalla glicoproteina-P in modo altrettanto produttivo e dimostrava efficacia terapeutica nel trattamento di cellule tumorali esprimenti la mutazione C1156Y. Venne impiegato nel trattamento di pazienti affetti da NSCLC positivo per ALK in stadio metastatico resistenti al trattamento con crizotinib. Tuttavia, vennero segnalati dei casi di fallimento terapeutico nel trattamento con alectinib di alcune cellule tumorali, come quelle che esprimevano la mutazione G1202R.

Nel 2017, la FDA approvò brigatinib, inibitore di terza generazione attivo su ALK e, come crizotinib, anche su ROS1 ed altre chinasi. Venne impiegato nella terapia di seconda linea nel trattamento di NSCLC quando crizotinib non dava risposta. Proprio come alectinib, brigatinib manteneva la sua efficacia terapeutica verso

molte forme mutate resistenti ad altri inibitori di ALK, ma non verso la mutazione G1202R.

L'attenzione rivolta allo sviluppo di inibitori di ALK non diede segnali di decrescita fino ai giorni nostri e tutt'oggi ALK rimane un target terapeutico di grande interesse.

### 3.2 Identificazione e ottimizzazione dell'hit compound

La ricerca che ha consentito lo sviluppo di entrectinib ha avuto inizio a partire da uno screening ad alta capacità (HTS) di potenziali molecole, selezionate sul modello degli inibitori di ALK precedentemente approvati, allo scopo di identificare, tra quelle più promettenti, un hit compound. L'hit compound sarebbe poi stato sottoposto a un processo di ottimizzazione che avrebbe consentito l'ottenimento del lead compound.

Tra le diverse molecole, il 3-ammino-5-sostituito indazolo si è distinto per la sua elevata potenza biochimica contro ALK ( $IC_{50}=0.073 \mu M$ ).

Nel processo di ottimizzazione sono state prese in considerazione diverse modificazioni strutturali volte a migliorare l'attività biologica dell'hit compound:

- Derivatizzazione dell'anello benzamidico A
- Modificazione del pattern di sostituzione dell'anello fenilico fluorurato B.
- Modificazione del gruppo N-metilpiperazinilico in posizione *para* dell'anello A.

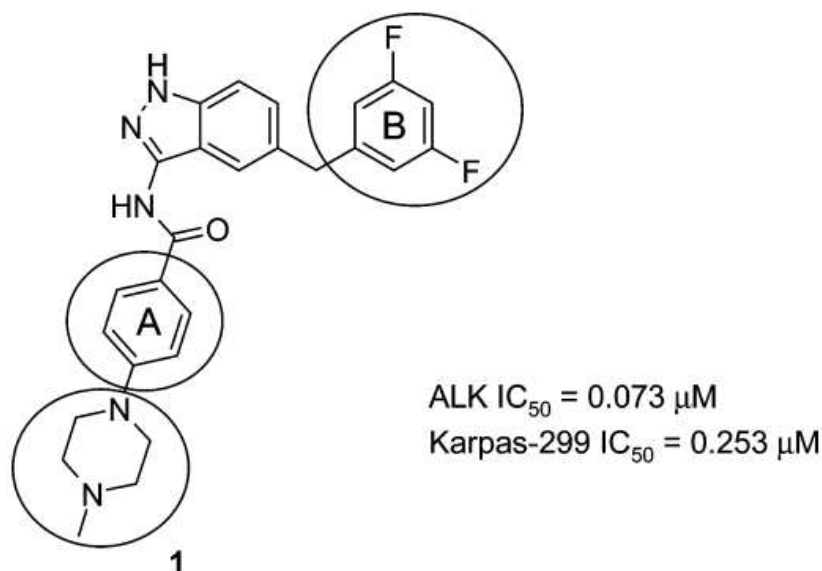


Figura 1. Struttura chimica dell'hit compound di partenza

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27003761/>

### 3.2.1 Derivatizzazione dell'anello benzamidico A

Attraverso l'analisi di struttura della chinasi ALK è stato possibile modificare l'hit compound in modo mirato. Si è visto infatti che gli analoghi ottenuti mediante l'introduzione di un sostituito in posizione 2' dell'anello benzamidico A, occupano in modo appropriato la tasca per il ribosio. Specificamente, gli analoghi ottenuti attraverso l'aggiunta di sostituenti NH-R sono stati associati a una migliore stabilizzazione della conformazione bioattiva, in quanto tali sostituenti sono coinvolti nell'instaurazione di legami idrogeno intramolecolari tra l'idrogeno del gruppo amminico in posizione *orto* e l'ossigeno del gruppo carbossiammidico.

Questi analoghi differiscono solo per la natura del gruppo R: mentre alcuni presentano anelli alifatici saturi in grado di ruotare rispetto al piano di interazione con la *hinge region* della chinasi, altri presentano catene alifatiche ramificate. Gli anelli alifatici saturi erano favoriti per la loro libertà di rotazione rispetto al piano di interazione con la *hinge region* della chinasi, che gli consente di occupare lo spazio a loro disposizione in modo ottimale e stabilire interazioni a livello del dominio catalitico della chinasi. Diversamente, le catene alifatiche ramificate erano ritenute meno consone a questo scopo per via della loro flessibilità.

Questa procedura ha consentito la creazione di una libreria di composti con migliorata potenza biochimica contro il bersaglio.

Tra questi, uno in particolare si è distinto per gli ottimi valori di potenza biochimica ( $IC_{50}=0.015 \mu M$ ) e di attività cellulare rilevati: questo composto presenta un anello tetraidropiranic in posizione *orto* sull'anello benzamidico A che può essere efficientemente accomodato nella tasca per il ribosio presente sul dominio catalitico della chinasi.

### 3.2.2 Modificazione del pattern di sostituzione dell'anello fenilico fluorurato B

Sono stati progettati degli analoghi dell'hit compound ottenuti modificando il pattern di sostituzione dell'anello fenilico fluorurato B e ne è stata valutata la potenza biochimica su ALK. In seguito alla rimozione di entrambi gli atomi di fluoro dall'anello fenilico, è stata osservata una riduzione dell'attività biochimica su ALK fino a 10 volte rispetto alla molecola di partenza. Questo risultato ha confermato il contributo di entrambi gli atomi di fluoro nell'interazione con la chinasi ALK. È stato poi sostituito uno dei due atomi di fluoro con un gruppo metile e, anche in questo caso, la modificazione ha causato una diminuzione della potenza biochimica su ALK della molecola. La sostituzione dell'atomo di fluoro con il gruppo metile sarebbe infatti la causa di un'alterazione della geometria dell'interazione  $\pi$ - $\pi$  *stacking* che si instaura tra l'anello fenilico B e l'anello aromatico del residuo Phe1127 presente sul P-loop della chinasi.

### 3.2.3 Modificazione del gruppo N-metilpiperazinilico in posizione *para* dell'anello A.

Nel processo di ottimizzazione, è stato modificato il gruppo solubilizzante in posizione *para* dell'anello benzamidico A ed è stato valutato il profilo farmacocinetico degli analoghi ottenuti attraverso studi in vitro. In particolare, per ciascun analogo sono state valutate:

- La solubilità a pH fisiologico;
- La permeabilità nelle cellule Caco-2;
- La clearance intrinseca in epatociti di ratto e microsomi epatici umani.

Gli studi in vitro hanno inoltre consentito di prevedere i rischi che sarebbero potuti sorgere in vivo.

Successivamente, sono state valutate le proprietà farmacocinetiche degli analoghi nel topo (la somministrazione è stata effettuata per via orale e per via intravenosa, alla dose di 10 mg/kg). Tra questi, il composto che presenta il gruppo N-metilpiperazinilico ha mostrato ottimi valori di:

- Biodisponibilità orale
- Clearance
- Volume di distribuzione
- Emivita

A fronte dei risultati ottenuti attraverso il processo di ottimizzazione, è stato possibile identificare il lead compound che sarebbe poi stato sottoposto ai test preclinici e clinici in modo da caratterizzarne l'efficacia, la tossicità e il profilo di sicurezza.

Il lead compound identificato coincide con entrectinib.

## 3.3 Caratterizzazione del lead compound e studi preclinici

Il lead compound è stato sottoposto a saggi di natura farmacologica e biochimica sia in vitro che in vivo, al fine di caratterizzarlo in termini di potenza, efficacia, sicurezza e proprietà farmacocinetiche, prima della somministrazione all'uomo.

### 3.3.1 Saggi in vitro

Profilazione biochimica: entrectinib è stato testato su 56 saggi biochimici, ognuno dei quali valutava la selettività del composto verso una diversa chinasi. Inoltre, per ciascuna chinasi è stato calcolato il valore di IC<sub>50</sub> per caratterizzare la potenza di entrectinib.

kinase	IC <sub>50</sub> (μM)	kinase	IC <sub>50</sub> (μM)
TRKA	0.001	IGF1R	0.122
TRKB	0.003	FAK	0.140
TRKC	0.005	FLT3	0.164
ROS1	0.007	BRK	0.195
ALK	0.012	IR	0.209
JAK2	0.040	AUR2	0.215
ACK1	0.070	JAK3	0.349
JAK1	0.112	RET	0.393

Tabella 1. Screening di selettività del lead compound verso un pannello di 56 chinasi

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27003761/>

Profilazione cellulare: è stata analizzata l'attività antiproliferativa di entrectinib su un pannello di quasi 200 linee cellulari tumorali umane diverse. Anche in questo caso, è stato calcolato il valore di IC<sub>50</sub> per ciascun saggio. I risultati ottenuti erano coerenti con quelli della profilazione biochimica.

cell line	cancer type	IC <sub>50</sub> (μM)
KM12	adenocarcinoma colon TRKA +	0.017
SU-DHL-1	anaplastic large cell lymphoma ALK +	0.024
KARPAS-299	anaplastic large cell lymphoma ALK +	0.031
SUP-M2	anaplastic large cell lymphoma ALK +	0.041
NCI-H2228	nonsmall cell lung cancer ALK +	0.068
SR-786	anaplastic large cell lymphoma ALK +	0.081
MV-4-11	biphenotypic B myelomonocytic leukemia	0.081

Tabella 2. Saggio dell'attività antiproliferativa del lead compound

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27003761/>

### 3.3.2 Saggi in vivo

L'efficacia in vivo del composto è stata valutata su topi con immunodeficienza combinata grave portatori di tumori xenotrapiantati Karpas-299. Il trattamento prevedeva la somministrazione del composto a due dosaggi alternativi, 30 mg/kg e 60 mg/kg, due volte al giorno, per un totale di 10 giorni consecutivi. Al termine del trattamento, sono stati ottenuti ottimi risultati in termini di efficacia terapeutica per entrambe le dosi. Nei topi trattati con il farmaco alla dose più elevata si è anche osservata la completa regressione del tumore. Di questi, quattro su sette non hanno mostrato segni di recidiva al novantesimo giorno dall'inizio del trattamento.

Il lead compound è stato testato anche nel ratto (Sprague Dawley) e nel cane (Beagle) al fine di caratterizzare in modo più preciso le proprietà farmacocinetiche del composto, nonché la sua tollerabilità e la sua sicurezza. Il trattamento prevedeva la somministrazione del farmaco per via orale e per via intravenosa alla dose di 10 mg/kg.



## 4. Il candidato clinico

### 4.1 Struttura chimica di entrectinib

La struttura di base di entrectinib presenta un anello indazolico, un composto biciclico aromatico costituito da un anello benzenico ed un anello pirazolico condensati. L'anello indazolico è legato in posizione 5' a un anello fenilico fluorurato attraverso un ponte metilene ed in posizione 2' a una moietà benzamidica. L'anello benzamidico è inoltre funzionalizzato in posizione *orto* con un gruppo amminotetraidropiranico ed in posizione *para* con un gruppo N-metilpiperazinilico.

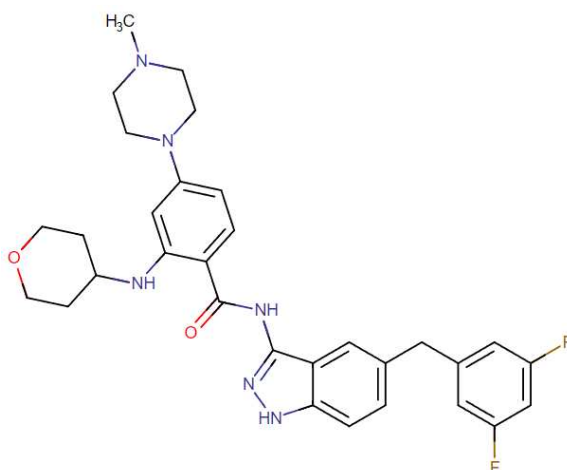


Figura 2. Struttura chimica di entrectinib

<https://go.drugbank.com/drugs/DB11986>

### 4.2 Sintesi di entrectinib

La sintesi ha inizio a partire dal composto 249, l'acido 4-fluoro-2-nitrobenzoico, il quale è sottoposto a una reazione di esterificazione con  $(\text{Boc})_2\text{O}$  al fine di ottenere l'intermedio 250. Segue poi una reazione di sostituzione con piperazina in DMF che dà il composto 252, al quale è aggiunto un gruppo metile mediante reazione con  $\text{CH}_3\text{I}$ . Il prodotto di reazione è il composto 253. La riduzione del gruppo nitro in posizione *orto* a gruppo amminico, attraverso l'uso di Pd/C, consente la formazione del composto 254. Quest'ultimo va incontro a una reazione di amminazione riduttiva con il composto 255, in presenza di  $\text{NH}_4\text{BH}(\text{OAc})_3$  e TFA. Il prodotto è poi sottoposto a un trattamento con TFAA, risultando nel composto 257. Il composto 257 viene ulteriormente trattato con TFA in DCM per ottenere il composto 258, il quale subisce una reazione a due step: la prima consiste nella clorurazione con  $(\text{COCl})_2$  mentre la seconda consiste nella sostituzione con il composto 259. È stato così ottenuto il composto 260. Infine, il prodotto finale è raggiunto mediante trattamento del composto 260 con  $\text{K}_2\text{CO}_3$  in MeOH.

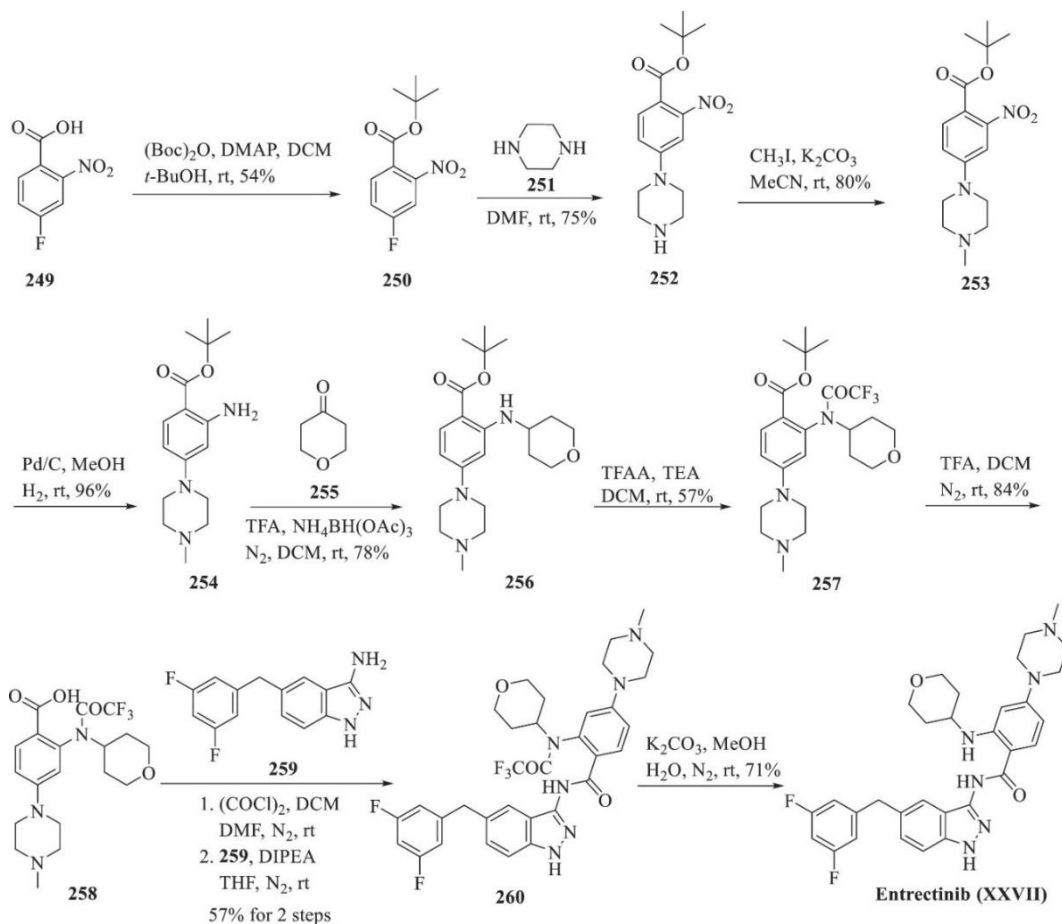


Figura 3. Sintesi di entrectinib

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32911308/>

La procedura di sintesi del composto 259, l'aminoindazolo, prevede di far reagire il composto 261 con il composto 262 attraverso una reazione di Suzuki-Miyaura. Il prodotto di reazione è poi sottoposto a una cicloaddizione [3 + 2] con  $N_2H_4 \cdot H_2O$ , che consente di ottenere il composto 259, il prodotto finale.

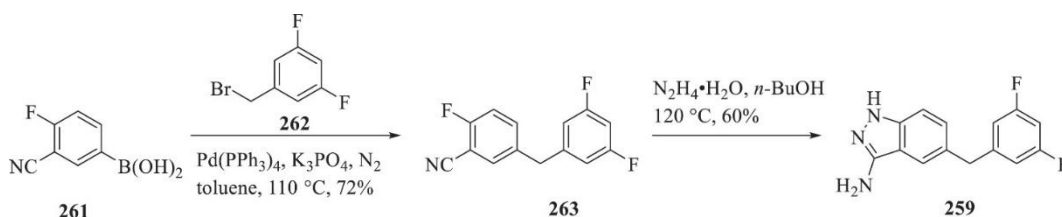


Figura 4. Sintesi dell'aminoindazolo (259)

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32911308/>

### 4.3 Farmacodinamica

Il farmaco interagisce con il bersaglio a livello del suo dominio catalitico, in cui si trova la tasca di legame per l'ATP.

Il gruppo aminoindazolico si inserisce a livello della *hinge region* e sostituisce la porzione purinica dell'ATP interagendo, attraverso gli atomi di azoto, con i residui Met1999 e Glu1197 del dominio chinasi. Inoltre, l'anello indazolico, assieme alla funzione benzilica fluorurata, stabilisce interazioni con i residui apolari Leu1122, Val1130, Leu1256, ed anche con il residuo gatekeeper Leu1196. La funzione benzilica fluorurata è accomodata tra il residuo Leu1256 ed il residuo Phe1127, grazie all'apposita conformazione tridimensionale assunta dal P-loop. In aggiunta, i due atomi di fluoro con cui è funzionalizzato l'anello B, stabiliscono interazioni polari con i residui Gly1269, il quale è immediatamente adiacente al dominio amminoacidico DFG, e Asn1254.

Anche l'anello A ed il gruppo amminotetraidropiranico ad esso legato sono coinvolti nell'interazione con il sito attivo della chinasi: mentre l'anello fenilico instaura un'interazione idrofobica con il residuo Leu1122 presente sul P-loop, l'anello tetraidropiranico si orienta in modo da posizionarsi al di sotto del P-loop stesso.

Al contrario, il gruppo N-metilpiperazinilico non è coinvolto direttamente nell'interazione del farmaco con il suo bersaglio ma protrude all'interfaccia con il solvente. Costituisce invece una funzione accessoria di carattere idrofilo, il cui scopo è ottimizzare la solubilità e la biodisponibilità del farmaco, in modo da renderlo migliore dal punto di vista della farmacocinetica.

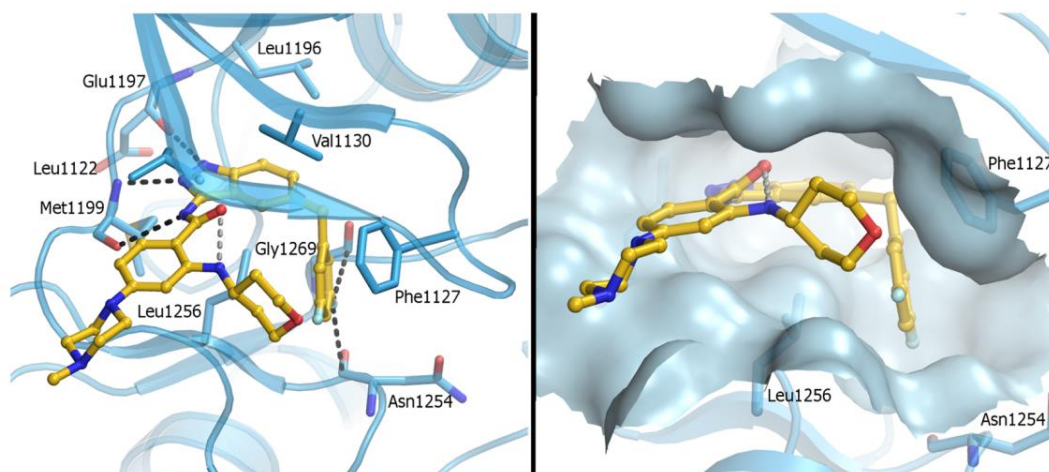


Figura 5. Rappresentazione grafica della modalità di inserzione di entrectinib nel sito attivo di ALK

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27003761/>

## 4.4 Farmacocinetica

### 4.4.1 Assorbimento

L'assorbimento di entrectinib può essere descritto da un modello cinetico che combina una fase iniziale caratterizzata da una cinetica di ordine zero ed una fase successiva caratterizzata da una cinetica di primo ordine. Secondo il modello cinetico di ordine zero, la velocità di assorbimento non dipende dalla concentrazione del farmaco e rimane costante nel tempo. Al contrario, il modello cinetico di primo ordine prevede che la velocità di assorbimento sia dipendente dalla concentrazione del farmaco.

Entrectinib raggiunge la concentrazione plasmatica massima in 4-5 ore, a seguito della somministrazione di una singola dose di farmaco da 600 mg.

Inoltre, la dieta non ha dato prova di influenzare in modo significativo l'assorbimento.

### 4.4.2 Distribuzione

La distribuzione di entrectinib è descritta da un modello monocompartimentale.

Il volume di distribuzione apparente del farmaco è di 551 L.

La percentuale di farmaco coinvolto in interazioni con le proteine plasmatiche supera il 99%.

Inoltre, il farmaco è in grado di attraversare la barriera ematoencefalica e distribuirsi nel sistema nervoso centrale, ragion per cui ha dimostrato efficacia anche in pazienti affetti da metastasi con localizzazione cerebrale.

### 4.4.3 Metabolismo

Lo specifico enzima del citocromo P450 che è responsabile del 76% del metabolismo di entrectinib è CYP3A4. Una più piccola porzione di farmaco è metabolizzata da altre isoforme, quali CYP1C e CYP2C9.

Sono stati individuati diversi prodotti del metabolismo di entrectinib e, tra questi, M5 è il più abbondante. M5 è un metabolita ottenuto per ossidazione di entrectinib, che mantiene un'attività farmacologica simile a quella del farmaco.

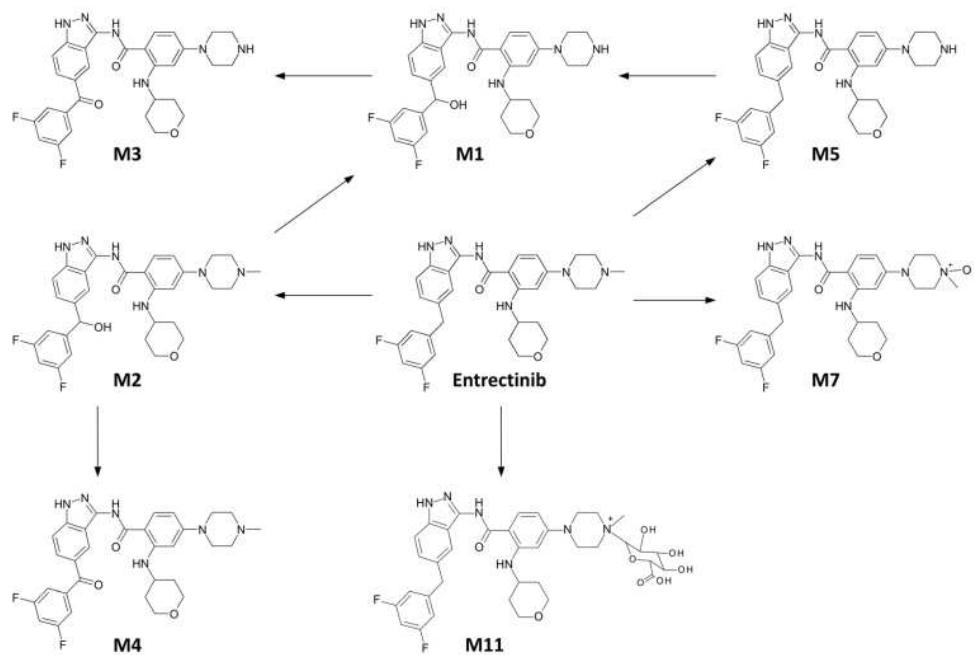


Figura 6. Metabolismo di entrectinib

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33462752/>

#### 4.4.4 Escrezione

Una dose radiomarcata di entrectinib è stata somministrata al fine di seguire il cammino del farmaco e verificarne la modalità di escrezione dall'organismo. La radioattività è stata rilevata:

- Per l'83% nelle feci. Della dose rilevata, il 36% corrispondeva al farmaco invariato, mentre il 22% a M5.
- Per il 3% nelle urine.

L'emivita del farmaco è di 20 ore, mentre l'emivita del metabolita attivo M5 è di 40 ore.

La clearance corporea apparente è di 19.6 L/h per entrectinib, mentre è di 52.4 L/h per M5.

## 5. Studi clinici

La sperimentazione clinica è stata effettuata su individui volontari, sani o malati, al fine di garantire la sicurezza del farmaco, nonché del suo metabolita attivo M5, e di verificare se i risultati di efficacia ottenuti negli studi preclinici potessero essere traslati all'essere umano.

Di seguito sono descritti alcuni dei trial clinici condotti per entrectinib. Si tratta di studi open-label condotti su pazienti adulti affetti da tumori solidi positivi per alcune specifiche alterazioni molecolari (TrkA, TrkB, TrkC, ROS1 o ALK), in stadio localmente avanzato o metastatico, che non dispongono di alternative terapeutiche in quanto la terapia tradizionale si è dimostrata inefficace.

Sono definiti *basket trials* in quanto consentono di testare il farmaco su un'ampia varietà di tumori che condividono le stesse alterazioni molecolari.

### 5.1 Studi clinici di fase I

STARTRK-1 (NCT02097810) è uno studio multicentrico che ha coinvolto ospedali e centri oncologici negli Stati Uniti, in Spagna e in Corea del Sud. Nel periodo compreso tra il 7 agosto 2014 e il 10 maggio 2018, 76 pazienti sono stati reclutati e hanno poi completato il trattamento. Il trattamento ha previsto una somministrazione giornaliera di entrectinib per un totale di 28 giorni. Il farmaco è stato assunto in fase postprandiale. Inizialmente, la dose è stata stabilita sulla base dell'area superficiale corporea del paziente: 100, 200 e 400 mg/m<sup>2</sup>/giorno. Successivamente, il farmaco ha iniziato ad essere somministrato alle seguenti dosi fisse: 600 e 800 mg/giorno.

ALKA-372-001 (EudraCT 2012-000148-88) è uno studio multicentrico che ha coinvolto due centri oncologici in Italia. Nel periodo compreso tra il 26 ottobre 2012 e il 27 marzo 2018, 58 pazienti sono stati reclutati e sottoposti al trattamento. Sono stati progettati tre diversi regimi di trattamento:

- I pazienti aderenti al programma A sono stati sottoposti ad una somministrazione giornaliera, in condizioni di digiuno, per quattro giorni consecutivi, alternati a tre giorni di riposo. Questo schema di terapia è stato rispettato per tre settimane ed è stato succeduto da una settimana priva di somministrazioni: il trattamento ha avuto complessivamente una durata di quattro settimane. Le dosi somministrate sono le seguenti: da 100 a 1600 mg/m<sup>2</sup>/giorno.
- I pazienti aderenti al programma B sono stati sottoposti ad un ciclo continuo di somministrazioni, per una durata di quattro settimane. Il farmaco è stato assunto una volta al giorno, in fase postprandiale, alle seguenti dosi: da 100 a 400 mg/m<sup>2</sup>/giorno o alla dose fissa 600 mg/giorno.
- I pazienti aderenti al programma C sono stati sottoposti allo stesso schema terapeutico del programma A. Tuttavia, a differenza del programma A, il programma C non ha previsto una settimana di interruzione, bensì quattro

settimane consecutive di trattamento. I dosaggi somministrati sono i seguenti: da 400 a 800 mg/m<sup>2</sup>/giorno.

## 5.2 Studi clinici di fase 2

STARTRK-2 (NCT02568267) è uno studio multicentrico globale che ha coinvolto centri oncologici, istituti di ricerca, ospedali e università in 15 diversi paesi. Centinaia di pazienti sono stati reclutati per essere sottoposti al trattamento a partire dal 19 novembre 2015. Il trattamento prevede una somministrazione giornaliera di farmaco alla dose fissa 600 mg/giorno ed ha una durata pari a quattro settimane.

## 5.3 Efficacia terapeutica

A fronte dei risultati ottenuti a partire dagli studi clinici di fase 1 e 2, è stata eseguita un'analisi integrata. Per valutare gli esiti dei trattamenti sono stati definiti degli endpoint appropriati allo scopo dell'analisi. Tra questi, i principali sono:

- Il tasso di risposta oggettiva (ORR), al fine di determinare l'attività antitumorale del farmaco. Corrisponde alla percentuale di pazienti in cui è stata riscontrata una risposta completa o parziale.
- La durata della risposta (DOR), al fine di determinare la durabilità dell'attività antitumorale del farmaco. Corrisponde al periodo compreso tra la data della prima risposta oggettiva e la data di constatata progressione tumorale o di morte.

Questi dati sono stati valutati mediante BICR (*Blinded Independent Central Review*). Si tratta di un metodo che consente di analizzare i risultati del trattamento in modo totalmente oggettivo, evitando potenziali bias. I principi su cui si basa l'analisi mediante BICR sono i seguenti:

- Gli sperimentatori non conoscono il trattamento assegnato a ciascun paziente;
- Gli sperimentatori non sono coinvolti direttamente nel trattamento dei pazienti;
- Il medico che è coinvolto direttamente nel trattamento del paziente non prende parte alla valutazione dei risultati.

Entrectinib ha dimostrato efficacia in pazienti affetti da tumori solidi positivi alla fusione di NTRK o da NSCLS ROS1-positivo.

Di seguito sono riportati i risultati ottenuti.



<b>Efficacy Parameters</b>	<b>ROZLYTREK N = 51</b>
<b>Overall Response Rate (95% CI)</b>	78% (65, 89)
Complete Response	6%
Partial Response	73%
<b>Duration of Response (DOR)*</b>	<b>N = 40</b>
Range (months)	1.8, 36.8+
% DOR ≥ 9 months	70%
% DOR ≥ 12 months	55%
% DOR ≥ 18 months	30%

Confidence Interval (CI) calculated using the Clopper-Pearson method.

Response duration were based on additional 5 months' follow-up after the primary analysis of ORR.

\* Observed DOR

+ denotes ongoing response

Tabella 3. Risultati di efficacia ottenuti in seguito al trattamento con entrectinib di pazienti affetti da NSCLC ROS1-positivo.

[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2024/212725s011lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/212725s011lbl.pdf)

<b>Efficacy Parameter</b>	<b>ROZLYTREK N = 54</b>
<b>Overall Response Rate (95% CI)</b>	57% (43, 71)
Complete Response	7.4%
Partial Response	50%
<b>Duration of Response*</b>	<b>N = 31</b>
Range (months)	2.8, 26.0+
% with duration ≥ 6 months	68%
% with duration ≥ 9 months	61%
% with duration ≥ 12 months	45%

Response duration were based on additional 5 months' follow-up after the primary analysis of ORR.

\* Observed DOR

+ denotes ongoing response

Tabella 4. Risultati di efficacia ottenuti in seguito al trattamento con entrectinib di pazienti affetti da tumori solidi positivi alla fusione di NTRK.

[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2024/212725s011lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/212725s011lbl.pdf)

## 5.4 Tossicità

Durante gli studi clinici precedentemente discussi, sono stati registrati gli effetti collaterali osservati nei pazienti trattati con entrectinib. La maggior parte di questi è stata classificata come lieve o moderata. Gli effetti avversi più ricorrenti comprendono disgeusia, affaticamento, vertigini, nausea e diarrea. Tuttavia, sono stati riscontrati anche effetti collaterali più severi:

- Insufficienza cardiaca congestizia
- Disturbi cognitivi
- Aumentato rischio di fratture scheletriche
- Epatotossicità
- Iperuricemia
- Prolungamento dell'intervallo QT
- Disturbi visivi



Nel 27% dei pazienti trattati con entrectinib è stato necessario ridurre la dose di farmaco somministrata. Nel 4% dei pazienti trattati con entrectinib è stato necessario interrompere la terapia.

#### 5.4.1 Teratogenicità

La somministrazione di entrectinib a donne incinte potrebbe causare danni al feto. Infatti, malformazioni fetali sono state evidenziate a seguito della somministrazione di entrectinib in ratte gravide. L'esposizione al farmaco nel ratto era 2,7 volte superiore a quella che un essere umano sperimenta in seguito alla somministrazione di una dose di 600 mg.

#### 5.5 Potenziali interazioni farmaco-farmaco

L'interazione tra farmaci consiste in un'alterazione dell'attività farmacologica di un farmaco, a seguito della somministrazione prossima o simultanea di un altro farmaco. Tale alterazione può consistere nell'aumento o nella diminuzione dell'effetto di uno o di entrambi i farmaci.

Nel caso di entrectinib, le interazioni che sono state messe in luce interferiscono, in particolare, con il suo metabolismo. Dal momento che il farmaco è metabolizzato principalmente dall'enzima microsomiale CYP3A4, è essenziale evitare la somministrazione simultanea di entrectinib e:

- Inibitori o substrati di CYP3A, in quanto causerebbe un aumento delle concentrazioni plasmatiche di entrectinib e della sua emivita, incrementandone anche gli effetti collaterali.
- Induttori di CYP3A, in quanto causerebbe una diminuzione delle concentrazioni plasmatiche di entrectinib e della sua emivita, limitandone anche l'attività farmacologica.

#### 5.6 Farmacoresistenza

Nonostante gli ottimi risultati dimostrati da entrectinib in termini di attività antitumorale, gli studi clinici hanno evidenziato dei casi di fallimento terapeutico causati dallo sviluppo di resistenza al trattamento da parte dei pazienti. Ulteriori studi hanno riconosciuto le alterazioni molecolari responsabili dell'insorgenza della resistenza ad entrectinib. Si tratta di mutazioni che alterano il dominio catalitico del bersaglio, impedendo al farmaco di esplicare la sua attività. Alcune di queste sono qui elencate:

- ROS1<sup>G2032R</sup>
- TrkA<sup>G595R</sup>
- TrkB<sup>G639R</sup>
- TrkC<sup>G623R</sup>

## 6. Conclusioni

La terapia agnostica rappresenta un nuovo modo di approcciare il cancro: i farmaci antitumorali agnostici non sono sviluppati a partire dallo specifico istotipo del tumore, ma sulla base dei suoi marcatori biologici. Entrectinib è uno di questi.

Entrectinib è un inibitore tirosinchinasico multi-target, somministrato per via orale a pazienti con tumori solidi, positivi a specifiche alterazioni molecolari, ossia i biomarcatori per i quali il farmaco è stato approvato. Attraverso la sperimentazione clinica, ha dimostrato di possedere un'ottima efficacia clinica e un eccellente profilo di sicurezza. Tuttavia, avendo ricevuto l'autorizzazione all'immissione in commercio dalla FDA solo nel 2019, il farmaco necessita di ulteriori studi che ne investighino la tossicità a lungo termine, perché possa essere considerato sicuro. Inoltre, futuri studi si focalizzeranno sulle mutazioni che alterano il sito di interazione del farmaco, rendendolo inefficace, al fine di rallentare o evitare il processo di insorgenza della resistenza. In particolare, i ricercatori potranno studiare la struttura chimica di entrectinib per sintetizzare dei nuovi inibitori che siano efficaci sulle forme tumorali mutate resistenti ad entrectinib e agli altri inibitori tirosinchinasici.

Un farmaco di nuova generazione, repotrectinib, è già stato approvato dalla FDA:

- Il 15 novembre 2023, per il trattamento di pazienti adulti affetti da NSCLC ROS1-positivo;
- Il 13 giugno 2024, per il trattamento di pazienti pediatrici di età uguale o superiore ai 12 anni o adulti affetti da tumori solidi che esprimono una fusione dei geni NTRK.

I dati recentemente emersi dalla sperimentazione clinica suggeriscono che repotrectinib mantiene la sua efficacia terapeutica nel trattamento di forme tumorali mutate resistenti ad altri inibitori tirsonchinasici, tra cui anche entrectinib.

## 7. Bibliografia

- [1] Roche V. F., Zito S. W., Lemke T. L., Williams D. A., Foye's Principi di chimica farmaceutica, Padova, Piccin, 2021, pp 1265-1273, 1291-1295.
- [2] Menichincheri, Maria et al. "Discovery of Entrectinib: A New 3-Aminoindazole As a Potent Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK), c-ros Oncogene 1 Kinase (ROS1), and Pan-Tropomyosin Receptor Kinases (Pan-TRKs) inhibitor." *Journal of medicinal chemistry* vol. 59,7 (2016): 3392-408. doi:10.1021/acs.jmedchem.6b00064  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27003761/>
- [3] Jiang, Qinghua et al. "Entrectinib, a new multi-target inhibitor for cancer therapy." *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie* vol. 150 (2022): 112974. doi:10.1016/j.biopha.2022.112974  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35447552/>
- [4] Han, Sun-Young. "TRK Inhibitors: Tissue-Agnostic Anti-Cancer Drugs." *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)* vol. 14,7 632. 29 Jun. 2021, doi:10.3390/ph14070632  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8308490/>
- [5] Yuan, Shuo et al. "New drug approvals for 2019: Synthesis and clinical applications." *European journal of medicinal chemistry* vol. 205 (2020): 112667. doi:10.1016/j.ejmech.2020.112667  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32911308/>
- [6] Meneses-Lorente, Georgina et al. "Characterization of the pharmacokinetics of entrectinib and its active M5 metabolite in healthy volunteers and patients with solid tumors." *Investigational new drugs* vol. 39,3 (2021): 803-811. doi:10.1007/s10637-020-01047-5  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33462752/>
- [7] Drilon, Alexander et al. "Entrectinib in ROS1 fusion-positive non-small-cell lung cancer: integrated analysis of three phase 1-2 trials." *The Lancet. Oncology* vol. 21,2 (2020): 261-270. doi:10.1016/S1470-2045(19)30690-4  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31838015/>
- [8] Sartore-Bianchi, Andrea et al. "Entrectinib for the treatment of metastatic NSCLC: safety and efficacy." *Expert review of anticancer therapy* vol. 20,5 (2020): 333-341. doi:10.1080/14737140.2020.1747439  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32223357/>
- [9] U.S. Food and Drug Administration. (2024). Medication Guide: [Rozlytrek] (label No. 212725s011). Retrieved from:  
[https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2024/212725s011bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/212725s011bl.pdf)

[10] DrugBank. (n.d.). Drug Card for DB11986 (Entrectinib). Retrieved June 19, 2024, from

<https://go.drugbank.com/drugs/DB11986>