

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 987 474**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.04.2017 PCT/US2017/025939**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **12.10.2017 WO17176751**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2017 E 17718256 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2024 EP 3439662**

(54) Título: **Formulaciones líquidas de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-IL)-pirazolo[1,5-A]pirimidin-3-IL)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida**

(30) Prioridad:

**04.04.2016 US 201662318041 P
15.04.2016 US 201662323452 P
29.04.2016 US 201662329561 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.11.2024

(73) Titular/es:

**LOXO ONCOLOGY, INC. (100.0%)
281 Tresser Boulevard 9th Floor
Stamford, Connecticut 06901, US**

(72) Inventor/es:

**REYNOLDS, MARK y
SMITH, STEVEN A.**

(74) Agente/Representante:

DEL VALLE VALIENTE, Sonia

Observaciones:

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

ES 2 987 474 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

5 Formulaciones líquidas de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

10 Esta solicitud reivindica prioridad a la solicitud provisional de los EE. UU. con número de serie 62/318.041, presentada el 4 de abril de 2016; 62/323.452, presentada el 15 de abril de 2016; y 62/329.561, presentada el 29 de abril de 2016.

Antecedentes

1. Campo de la invención

15 La presente descripción se refiere a formulaciones líquidas de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (Fórmula I), sales farmacéuticamente aceptables de las mismas o una combinación de las mismas y a las formulaciones líquidas para su uso en el tratamiento del cáncer.

2. Descripción de la técnica relacionada

20 Los Trk son receptores de tirosina quinasas de alta afinidad activados por un grupo de factores de crecimiento solubles llamados neurotrofinas (NT). La familia de receptores Trk tiene tres miembros: TrkA, TrkB y TrkC. Entre las neurotrofinas se encuentran (i) el factor de crecimiento nervioso (NGF) que activa TrkA, (ii) el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y NT-4/5 que activan TrkB y (iii) NT3 que activa TrkC. Los Trk se expresan ampliamente en el tejido neuronal y están implicados en el mantenimiento, la señalización y la supervivencia de las células neuronales (Patapoutian, A. y col., Current Opinion in Neurobiology, 2001, 11, 272-280).

25 La literatura reciente ha demostrado que la sobreexpresión, activación, amplificación y/o mutación de Trk están asociadas con muchos tipos de cáncer, incluido el neuroblastoma (Brodeur, GM, Nat. Rev. Cancer 2003, 3, 203-216), cáncer de ovario (Davidson., B. y col., Clin. Cancer Res. 2003, 9, 2248-2259), cáncer de mama (Kruettgen y col., Brain Pathology 2006, 16: 304-310), cáncer de próstata (Dionne y col., Clin. Cancer Res. 1998, 4(8): 1887-1898), cáncer de páncreas (Dang y col., Journal of Gastroenterology and Hepatology 2006, 21(5): 850-858), mieloma múltiple (Hu y col., Cancer Genetics and Cytogenetics 2007, 178: 1-10), astrocitoma y meduloblastoma (Kruettgen y col., Brain Pathology 2006, 16: 304-310), glioma (Hansen y col., Journal of Neurochemistry 2007, 103: 259-275), melanoma (Nakagawara, A. (2001) Cancer Letters 169:107-114; Meyer, J. y col. (2007) Leukemia, 1-10; Pierottia, M.A. y Greco A., (2006) Cancer Letters 232:90-98; Eric Adriaenssens, E. y col. Cancer Res (2008) 68:(2) 346-351), carcinoma de tiroides (Brzezianska y col., Neuroendocrinology Letters 2007, 28(3), 221-229), adenocarcinoma de pulmón (Perez-Pinera y col., Molecular and Cellular Biochemistry 2007, 295(1&2), 19-26), tumores neuroendocrinos de células grandes (Marchetti y col., Human Mutation 2008, 29(5), 609-616) y cáncer colorrectal (Bardelli, A., Science 2003, 300, 949). En modelos preclínicos de cáncer, los inhibidores de Trk son eficaces tanto para inhibir el crecimiento tumoral como para detener la metástasis tumoral. En particular, los inhibidores de moléculas pequeñas no selectivos de las quimeras TrkA, TrkB, TrkC y TrkFc fueron eficaces tanto para inhibir el crecimiento tumoral como para detener la metástasis tumoral (Nakagawara, A. (2001) Cancer Letters 169:107-114; Meyer, J. y col. (2007) Leukemia, 1-10; Pierottia, M.A. y Greco A., (2006) Cancer Letters 232:90-98; Eric Adriaenssens, E. y col. Cancer Res (2008) 68:(2) 346-351). Por lo tanto, se espera que un inhibidor de la familia de Trk de quinasas tenga utilidad en el tratamiento del cáncer.

30 Además, se ha demostrado que los inhibidores de la vía Trk/neurotrofina son eficaces en numerosos modelos animales preclínicos de dolor. Por ejemplo, se ha demostrado que los anticuerpos antagonistas NGF y TrkA (por ejemplo, RN-624) son eficaces en modelos animales de dolor inflamatorio y neuropático y en ensayos clínicos en humanos (Woolf, C.J. y col. (1994) Neuroscience 62,327-331; Zahn, P.K. y col. (2004) J. Pain 5, 157-163; McMahon, S. B. y col., (1995) Nat. Med. 1, 774-780; Ma, Q. P. y Woolf, C. J. (1997) Neuroreport 8, 807-810; Shelton, D. L. y col. (2005) Pain 116, 8-16; Delafoy, L. y col. (2003) Pain 105, 489-497; Lamb, K. y col. (2003) Neurogastroenterol. Motil. 15, 355-361; Jaggar, S. I. y col. (1999) Br. J. Anaesth. 83, 442-448). Además, la literatura reciente indica que después de la inflamación, los niveles de BDNF y la señalización de TrkB aumentan en el ganglio de la raíz dorsal (Cho, L. y col. Brain Research 1997, 749, 358) y varios estudios han demostrado que los anticuerpos que disminuyen la señalización a través de la vía BDNF/TrkB inhiben la hipersensibilización neuronal y el dolor asociado (Chang-Qi, L y col. Molecular Pain 2008, 4:27).

35 Se ha demostrado que el NGF secretado por las células tumorales y los macrófagos que invaden tumores estimula directamente TrkA ubicado en las fibras periféricas del dolor. Usando varios modelos tumorales tanto en ratones como en ratas se demostró que la neutralización del NGF con un anticuerpo monoclonal inhibe el dolor relacionado con el cáncer en un grado similar o superior a la dosis más alta tolerada de morfina. Además, la activación de la vía BDNF/TrkB se ha implicado en numerosos estudios como modulador de varios tipos de dolor, incluido el dolor inflamatorio (Matayoshi, S., J. Physiol. 2005, 569:685-95), dolor neuropático (Thompson, S.W., Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU. 1999, 96:7714-18) y dolor quirúrgico (Li, C.-Q. y col., Molecular Pain, 2008, 4(28), 1-11). Debido a que las quinasas TrkA y TrkB pueden servir como mediadores de las respuestas biológicas impulsadas por NGF, los inhibidores de TrkA y/u otras quinasas Trk pueden proporcionar un tratamiento eficaz para los estados de dolor crónico.

Los regímenes de tratamiento actuales para las condiciones dolorosas utilizan varias clases de compuestos. Los opioides (tal como la morfina) tienen varios inconvenientes, entre ellos efectos eméticos, estreñidores y respiratorios negativos, además de potencial adicción. Los analgésicos antiinflamatorios no esteroides (AINE, tal como los tipos COX-1 o COX-2) también tienen inconvenientes, incluida una eficacia insuficiente en el tratamiento del dolor intenso. Además, los inhibidores de la COX-1 pueden causar úlceras en la mucosa. En consecuencia, existe una necesidad continua de tratamientos nuevos y más eficaces para el alivio del dolor, especialmente el dolor crónico.

Además, se ha demostrado que la inhibición de la vía neurotrofina/Trk es eficaz en el tratamiento de modelos preclínicos de enfermedades inflamatorias. Por ejemplo, la inhibición de la vía neurotrofina/Trk se ha implicado en modelos preclínicos de enfermedades pulmonares inflamatorias, incluido el asma (Freund-Michel, V; Frossard, N; Pharmacology & Therapeutics (2008), 117(1), 52-76), cistitis intersticial (Hu Vivian Y; y col. The Journal of Urology (2005), 173(3), 1016-21), enfermedades inflamatorias del intestino, incluidas la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (Di Mola, F. F. y col., Gut (2000), 46(5), 670-678) y enfermedades inflamatorias de la piel tal como la dermatitis atópica (Dou, Y.-C.; y col. Archives of Dermatological Research (2006), 298(1), 31-37), eczema y psoriasis (Raychaudhuri, S. P.; y col. Journal of Investigative Dermatology (2004), 122(3), 812-819).

La vía neurotrofina/Trk, particularmente BDNF/TrkB, también se ha implicado en la etiología de enfermedades neurodegenerativas, incluidas la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer (Sohrabji, Farida; Lewis, Danielle K. Frontiers in Neuroendocrinology (2006), 27(4), 404-414). La modulación de la vía neurotrofina/Trk puede tener utilidad en el tratamiento de estas y otras enfermedades relacionadas.

También se cree que el receptor TrkA es fundamental para el proceso de la enfermedad en la infección parasitaria de Trypanosoma cruzi (enfermedad de Chagas) en huéspedes humanos (de Melo-Jorge, M. y col. Cell Host & Microbe (2007), 1(4), 251-261). Por lo tanto, la inhibición de TrkA puede tener utilidad en el tratamiento de la enfermedad de Chagas y las infecciones protozoarias relacionadas.

Los inhibidores de Trk también pueden utilizarse en el tratamiento de enfermedades relacionadas con un desequilibrio en la regulación de la remodelación ósea, tal como la osteoporosis, la artritis reumatoide y las metástasis óseas. Las metástasis óseas son una complicación frecuente del cáncer, que se presenta en hasta el 70 por ciento de los pacientes con cáncer de mama o de próstata avanzado y en aproximadamente el 15 al 30 por ciento de los pacientes con carcinoma de pulmón, colon, estómago, vejiga, útero, recto, tiroides o riñón. Las metástasis osteolíticas pueden causar dolor intenso, fracturas patológicas, hipercalcemia potencialmente mortal, compresión de la médula espinal y otros síndromes de compresión nerviosa. Por estas razones, la metástasis ósea es una complicación grave y costosa del cáncer. Por lo tanto, agentes que puedan inducir la apoptosis de los osteoblastos proliferantes serían muy ventajosos. Se ha observado la expresión de los receptores TrkA y TrkC en el área de formación ósea en modelos de ratón de fractura ósea (K. Asaumi, y col., Bone (2000) 26(6) 625-633). Además, se observó la localización de NGF en casi todas las células formadoras de hueso (K. Asaumi, y col.). Recientemente, se demostró que un inhibidor pan-Trk inhibe la señalización de tirosina activada por la unión de neurotrofinas a los tres receptores Trk en osteoblastos hFOB humanos (J. Pinski, y col., (2002) 62, 986-989). Estos datos respaldan la justificación del uso de inhibidores de Trk para el tratamiento de enfermedades de remodelación ósea, tal como las metástasis óseas en pacientes con cáncer.

Se conocen varias clases de inhibidores de moléculas pequeñas de las quinasas Trk que se dice que son útiles para tratar el dolor o el cáncer (Expert Opin. Ther. Patents (2009) 19(3)).

Publicaciones de solicitudes de patente internacionales WO 2006/115452, WO 2006/087538 y WO 2015/039006 describen varias clases de moléculas pequeñas que se dice que son inhibidores de las quinasas Trk y que podrían ser útiles para tratar el dolor o el cáncer.

Se conocen compuestos de pirazolo[1,5-a]pirimidina. Por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional WO 2008/037477 describe compuestos de pirazolo[1,5-a]pirimidina que llevan un grupo alquilo, arilo o heterocíclico en la posición 3. Se afirma que estos compuestos son inhibidores de la lípido quinasa PI3K y/o mTOR.

La publicación de patente PCT n.º WO 2008/058126 describe compuestos de pirazolo[1,5-a]pirimidina que llevan un grupo fenilo en la posición 3. Se afirma que estos compuestos son inhibidores de la Pim-quinasa.

La publicación de patente n.º US-2006/0094699 describe compuestos de pirazolo[1,5-a]pirimidina que tienen un grupo -C(=O)NH-fenilo, -C(=O)(4-metilpiperidinilo) o -C(=O)NMe(CH₂-trimetilpirazolilo) en la posición 3 para su uso en terapia combinada con un agonista del receptor de glucocorticoïdes.

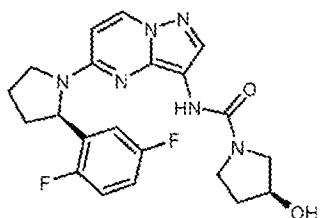
La publicación de patente PCT n.º WO 2010/033941, WO 2010/048314, WO 2011/006074, y WO 2011/146336 describen compuestos que exhiben inhibición de la proteína tirosina quinasa de la familia Trk y que son útiles en el tratamiento del dolor, el cáncer, la inflamación, las enfermedades neurodegenerativas y ciertas enfermedades infecciosas.

La patente WO 2010/048314 describe en el ejemplo 14A una sal de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida. La patente WO 2010/048314 no describe la forma particular de la sal de hidrogenosulfato descrita en la presente memoria cuando se prepara según el método del ejemplo 14A en la presente memoria. En particular, el documento WO 2010/048314 no revela la forma cristalina (I-HS) como se describe a continuación.

Doebele y col., Cancer Discov; 5(10); 1049-57 describe los resultados de un ensayo clínico en donde LOXO-101 indujo la regresión tumoral en un paciente que albergaba una fusión del gen LMNA-NTRK1.

10 Resumen

En la presente memoria se proporciona una formulación líquida que comprende (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos;

un agente solubilizante; y

30 una base;

en donde:

la formulación tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5; y

35 el compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos tiene una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, está presente en una cantidad de aproximadamente 1,5 % en peso a aproximadamente 2,5 % en peso.

En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml en la formulación líquida.

45 El agente solubilizante se puede seleccionar del grupo que consiste en una ciclodextrina, un glicol, un glicerol y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el agente solubilizante incluye una ciclodextrina. Por ejemplo, el agente solubilizante se puede seleccionar del grupo que consiste en un derivado de β -ciclodextrina, una γ -ciclodextrina y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el agente solubilizante incluye una 50 hidroxialquil- γ -ciclodextrina. El agente solubilizante puede incluir una β -ciclodextrina seleccionada del grupo que consiste en una hidroxialquil- β -ciclodextrina, una sulfoalquil éter- β -ciclodextrina y combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, el agente solubilizante incluye hidroxipropil- β -ciclodextrina.

55 En algunas realizaciones, el agente solubilizante está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso. Por ejemplo, el agente solubilizante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 13 % en peso a aproximadamente 17 % en peso.

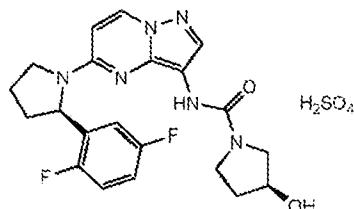
60 La formulación líquida puede incluir además un tampón. En algunas realizaciones, el tampón incluye al menos uno de un tampón de citrato, un tampón de lactato, un tampón de fosfato, un tampón de maleato, un tampón de tartrato, un tampón de succinato o un tampón de acetato. En algunas realizaciones, el tampón incluye al menos uno de lactato de litio, lactato de sodio, lactato de potasio, lactato de calcio, fosfato de litio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, fosfato de calcio, maleato de litio, maleato de sodio, maleato de potasio, maleato de calcio, tartrato de litio, tartrato de sodio, tartrato de potasio, tartrato de calcio, succinato de litio, succinato de sodio, succinato de potasio, succinato de calcio, acetato de litio, acetato de sodio, acetato de potasio o acetato de calcio. El tampón puede ser un tampón de citrato. El 65 tampón de citrato puede incluir al menos uno de citrato de litio monohidrato, citrato de sodio monohidrato, citrato de

- potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de litio dihidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de litio trihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de litio tetrahidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de litio pentahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de litio hexahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio hexahidrato, citrato de litio heptahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato. En algunas realizaciones, el tampón incluye al menos uno de citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato.
- En algunas realizaciones, el tampón incluye citrato de sodio dihidrato.
- El tampón puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso.
- En algunas realizaciones, la formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. En algunas realizaciones, la formulación tiene un pH de aproximadamente 3,5.
- En algunas realizaciones, la base puede incluir uno o más de un citrato, un lactato, un fosfato, un maleato, un tartrato, un succinato, un acetato, un carbonato y un hidróxido. En algunas realizaciones, la formulación incluye al menos uno de los siguientes: lactato de litio, lactato de sodio, lactato de potasio, lactato de calcio, fosfato de litio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, fosfato de calcio, maleato de litio, maleato de sodio, maleato de potasio, maleato de calcio, tartrato de litio, tartrato de sodio, tartrato de potasio, tartrato de calcio, succinato de litio, succinato de sodio, succinato de potasio, succinato de calcio, acetato de litio, acetato de sodio, acetato de potasio, acetato de calcio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio, bicarbonato de calcio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la base incluye un citrato. El citrato puede incluir al menos uno de citrato de litio monohidrato, citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de litio dihidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de litio trihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de litio tetrahidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de litio pentahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de litio hexahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato. En algunas realizaciones, la formulación líquida incluye al menos uno de citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de litio pentahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato. En algunas realizaciones, la formulación líquida incluye al menos uno de citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de litio pentahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de litio hexahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato.
- En algunas realizaciones, la base incluye citrato de sodio dihidrato.
- En algunas realizaciones, la formulación incluye aproximadamente entre un 0,1 % en peso y aproximadamente un 5 % en peso de una base tal como citrato (p. ej., citrato de sodio dihidrato).
- La formulación líquida puede incluir además un edulcorante. En algunas realizaciones, el edulcorante incluye un azúcar. El azúcar puede incluir sacarosa. En algunas realizaciones, el edulcorante incluye un edulcorante intenso. El edulcorante intenso puede incluir sucralosa.
- En algunas realizaciones, el edulcorante está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso. Por ejemplo, el edulcorante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 45 % en peso a aproximadamente 55 % en peso.
- La formulación líquida puede incluir además un agente enmascarante del amargor. En algunas realizaciones, el agente enmascarante del amargor está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. Por ejemplo, el agente enmascarante del amargor puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso.
- La formulación líquida puede incluir además un agente saborizante. El agente saborizante puede incluir al menos uno de un agente saborizante natural, un agente saborizante de fruta natural, un agente saborizante artificial, un agente saborizante de fruta artificial o un potenciador del sabor. En algunas realizaciones, el agente saborizante está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. Por

ejemplo, el agente saborizante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso.

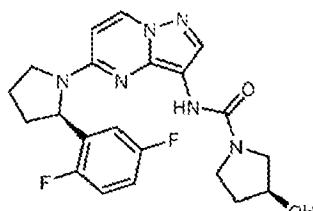
En algunas realizaciones, la formulación líquida incluye además un agente colorante.

- 5 En algunas realizaciones, la formulación líquida se prepara a partir de una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I). Por ejemplo, la formulación líquida se puede preparar a partir de la sal de hidrogenosulfato del compuesto de fórmula (I).
- 10 En algunas realizaciones, la formulación líquida se prepara a partir de una forma cristalina del compuesto de fórmula (I). En algunas realizaciones, la forma cristalina tiene la fórmula (I-HS):



I-HS

25 En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida que incluye (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



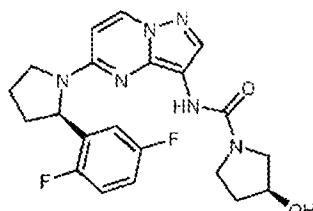
(I)

40 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. La formulación líquida también incluye un agente solubilizante y una base. La formulación líquida tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5. En algunas realizaciones, la base incluye un citrato (p. ej., citrato de sodio). El compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida.

45 En algunas realizaciones, la formulación líquida tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4.

50 En algunas realizaciones, la base incluye citrato de sodio dihidrato.

55 En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida que incluye (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



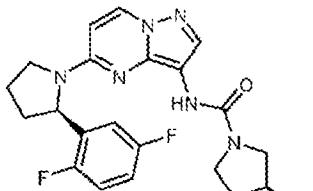
(I)

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. La formulación líquida incluye un agente solubilizante, una base, un edulcorante, un agente enmascarante del amargor y un agente saborizante. La formulación líquida tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. En algunas realizaciones, la base incluye un citrato (p. ej., citrato de sodio). El compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida.

En algunas realizaciones, la base incluye citrato de sodio dihidrato.

En algunas realizaciones, el edulcorante incluye sacarosa.

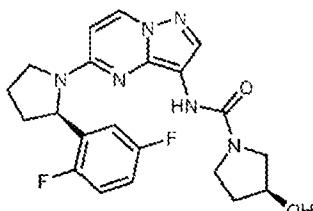
5 En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida que incluye (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

20 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. La formulación líquida incluye un agente solubilizante presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso; una base presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso; un edulcorante presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso; un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso; y un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación líquida tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5. El compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

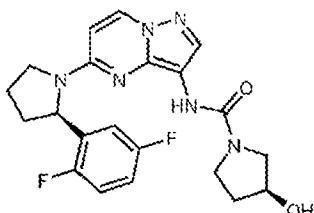
30 En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida que incluye (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

35 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. La formulación líquida incluye un agente solubilizante presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso. La formulación líquida también incluye una base que incluye citrato de sodio dihidrato presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso. La formulación líquida también incluye un edulcorante que incluye sacarosa presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso. La formulación líquida también incluye un agente enmascarante del amargor que está presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso. La formulación líquida también incluye un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación líquida tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000 1005 1010 1015 1020 1025 1030 1035 1040 1045 1050 1055 1060 1065 1070 1075 1080 1085 1090 1095 1100 1105 1110 1115 1120 1125 1130 1135 1140 1145 1150 1155 1160 1165 1170 1175 1180 1185 1190 1195 1200 1205 1210 1215 1220 1225 1230 1235 1240 1245 1250 1255 1260 1265 1270 1275 1280 1285 1290 1295 1300 1305 1310 1315 1320 1325 1330 1335 1340 1345 1350 1355 1360 1365 1370 1375 1380 1385 1390 1395 1400 1405 1410 1415 1420 1425 1430 1435 1440 1445 1450 1455 1460 1465 1470 1475 1480 1485 1490 1495 1500 1505 1510 1515 1520 1525 1530 1535 1540 1545 1550 1555 1560 1565 1570 1575 1580 1585 1590 1595 1600 1605 1610 1615 1620 1625 1630 1635 1640 1645 1650 1655 1660 1665 1670 1675 1680 1685 1690 1695 1700 1705 1710 1715 1720 1725 1730 1735 1740 1745 1750 1755 1760 1765 1770 1775 1780 1785 1790 1795 1800 1805 1810 1815 1820 1825 1830 1835 1840 1845 1850 1855 1860 1865 1870 1875 1880 1885 1890 1895 1900 1905 1910 1915 1920 1925 1930 1935 1940 1945 1950 1955 1960 1965 1970 1975 1980 1985 1990 1995 2000 2005 2010 2015 2020 2025 2030 2035 2040 2045 2050 2055 2060 2065 2070 2075 2080 2085 2090 2095 2100 2105 2110 2115 2120 2125 2130 2135 2140 2145 2150 2155 2160 2165 2170 2175 2180 2185 2190 2195 2200 2205 2210 2215 2220 2225 2230 2235 2240 2245 2250 2255 2260 2265 2270 2275 2280 2285 2290 2295 2300 2305 2310 2315 2320 2325 2330 2335 2340 2345 2350 2355 2360 2365 2370 2375 2380 2385 2390 2395 2400 2405 2410 2415 2420 2425 2430 2435 2440 2445 2450 2455 2460 2465 2470 2475 2480 2485 2490 2495 2500 2505 2510 2515 2520 2525 2530 2535 2540 2545 2550 2555 2560 2565 2570 2575 2580 2585 2590 2595 2600 2605 2610 2615 2620 2625 2630 2635 2640 2645 2650 2655 2660 2665 2670 2675 2680 2685 2690 2695 2700 2705 2710 2715 2720 2725 2730 2735 2740 2745 2750 2755 2760 2765 2770 2775 2780 2785 2790 2795 2800 2805 2810 2815 2820 2825 2830 2835 2840 2845 2850 2855 2860 2865 2870 2875 2880 2885 2890 2895 2900 2905 2910 2915 2920 2925 2930 2935 2940 2945 2950 2955 2960 2965 2970 2975 2980 2985 2990 2995 3000 3005 3010 3015 3020 3025 3030 3035 3040 3045 3050 3055 3060 3065 3070 3075 3080 3085 3090 3095 3100 3105 3110 3115 3120 3125 3130 3135 3140 3145 3150 3155 3160 3165 3170 3175 3180 3185 3190 3195 3200 3205 3210 3215 3220 3225 3230 3235 3240 3245 3250 3255 3260 3265 3270 3275 3280 3285 3290 3295 3300 3305 3310 3315 3320 3325 3330 3335 3340 3345 3350 3355 3360 3365 3370 3375 3380 3385 3390 3395 3400 3405 3410 3415 3420 3425 3430 3435 3440 3445 3450 3455 3460 3465 3470 3475 3480 3485 3490 3495 3500 3505 3510 3515 3520 3525 3530 3535 3540 3545 3550 3555 3560 3565 3570 3575 3580 3585 3590 3595 3600 3605 3610 3615 3620 3625 3630 3635 3640 3645 3650 3655 3660 3665 3670 3675 3680 3685 3690 3695 3700 3705 3710 3715 3720 3725 3730 3735 3740 3745 3750 3755 3760 3765 3770 3775 3780 3785 3790 3795 3800 3805 3810 3815 3820 3825 3830 3835 3840 3845 3850 3855 3860 3865 3870 3875 3880 3885 3890 3895 3900 3905 3910 3915 3920 3925 3930 3935 3940 3945 3950 3955 3960 3965 3970 3975 3980 3985 3990 3995 4000 4005 4010 4015 4020 4025 4030 4035 4040 4045 4050 4055 4060 4065 4070 4075 4080 4085 4090 4095 4100 4105 4110 4115 4120 4125 4130 4135 4140 4145 4150 4155 4160 4165 4170 4175 4180 4185 4190 4195 4200 4205 4210 4215 4220 4225 4230 4235 4240 4245 4250 4255 4260 4265 4270 4275 4280 4285 4290 4295 4300 4305 4310 4315 4320 4325 4330 4335 4340 4345 4350 4355 4360 4365 4370 4375 4380 4385 4390 4395 4400 4405 4410 4415 4420 4425 4430 4435 4440 4445 4450 4455 4460 4465 4470 4475 4480 4485 4490 4495 4500 4505 4510 4515 4520 4525 4530 4535 4540 4545 4550 4555 4560 4565 4570 4575 4580 4585 4590 4595 4600 4605 4610 4615 4620 4625 4630 4635 4640 4645 4650 4655 4660 4665 4670 4675 4680 4685 4690 4695 4700 4705 4710 4715 4720 4725 4730 4735 4740 4745 4750 4755 4760 4765 4770 4775 4780 4785 4790 4795 4800 4805 4810 4815 4820 4825 4830 4835 4840 4845 4850 4855 4860 4865 4870 4875 4880 4885 4890 4895 4900 4905 4910 4915 4920 4925 4930 4935 4940 4945 4950 4955 4960 4965 4970 4975 4980 4985 4990 4995 5000 5005 5010 5015 5020 5025 5030 5035 5040 5045 5050 5055 5060 5065 5070 5075 5080 5085 5090 5095 5100 5105 5110 5115 5120 5125 5130 5135 5140 5145 5150 5155 5160 5165 5170 5175 5180 5185 5190 5195 5200 5205 5210 5215 5220 5225 5230 5235 5240 5245 5250 5255 5260 5265 5270 5275 5280 5285 5290 5295 5300 5305 5310 5315 5320 5325 5330 5335 5340 5345 5350 5355 5360 5365 5370 5375 5380 5385 5390 5395 5400 5405 5410 5415 5420 5425 5430 5435 5440 5445 5450 5455 5460 5465 5470 5475 5480 5485 5490 5495 5500 5505 5510 5515 5520 5525 5530 5535 5540 5545 5550 5555 5560 5565 5570 5575 5580 5585 5590 5595 5600 5605 5610 5615 5620 5625 5630 5635 5640 5645 5650 5655 5660 5665 5670 5675 5680 5685 5690 5695 5700 5705 5710 5715 5720 5725 5730 5735 5740 5745 5750 5755 5760 5765 5770 5775 5780 5785 5790 5795 5800 5805 5810 5815 5820 5825 5830 5835 5840 5845 5850 5855 5860 5865 5870 5875 5880 5885 5890 5895 5900 5905 5910 5915 5920 5925 5930 5935 5940 5945 5950 5955 5960 5965 5970 5975 5980 5985 5990 5995 6000 6005 6010 6015 6020 6025 6030 6035 6040 6045 6050 6055 6060 6065 6070 6075 6080 6085 6090 6095 6100 6105 6110 6115 6120 6125 6130 6135 6140 6145 6150 6155 6160 6165 6170 6175 6180 6185 6190 6195 6200 6205 6210 6215 6220 6225 6230 6235 6240 6245 6250 6255 6260 6265 6270 6275 6280 6285 6290 6295 6300 6305 6310 6315 6320 6325 6330 6335 6340 6345 6350 6355 6360 6365 6370 6375 6380 6385 6390 6395 6400 6405 6410 6415 6420 6425 6430 6435 6440 6445 6450 6455 6460 6465 6470 6475 6480 6485 6490 6495 6500 6505 6510 6515 6520 6525 6530 6535 6540 6545 6550 6555 6560 6565 6570 6575 6580 6585 6590 6595 6600 6605 6610 6615 6620 6625 6630 6635 6640 6645 6650 6655 6660 6665 6670 6675 6680 6685 6690 6695 6700 6705 6710 6715 6720 6725 6730 6735 6740 6745 6750 6755 6760 6765 6770 6775 6780 6785 6790 6795 6800 6805 6810 6815 6820 6825 6830 6835 6840 6845 6850 6855 6860 6865 6870 6875 6880 6885 6890 6895 6900 6905 6910 6915 6920 6925 6930 6935 6940 6945 6950 6955 6960 6965 6970 6975 6980 6985 6990 6995 7000 7005 7010 7015 7020 7025 7030 7035 7040 7045 7050 7055 7060 7065 7070 7075 7080 7085 7090 7095 7100 7105 7110 7115 7120 7125 7130 7135 7140 7145 7150 7155 7160 7165 7170 7175 7180 7185 7190 7195 7200 7205 7210 7215 7220 7225 7230 7235 7240 7245 7250 7255 7260 7265 7270 7275 7280 7285 7290 7295 7300 7305 7310 7315 7320 7325 7330 7335 7340 7345 7350 7355 7360 7365 7370 7375 7380 7385 7390 7395 7400 7405 7410 7415 7420 7425 7430 7435 7440 7445 7450 7455 7460 7465 7470 7475 7480 7485 7490 7495 7500 7505 7510 7515 7520 7525 7530 7535 7540 7545 7550 7555 7560 7565 7570 7575 7580 7585 7590 7595 7600 7605 7610 7615 7620 7625 7630 7635 7640 7645 7650 7655 7660 7665 7670 7675 7680 7685 7690 7695 7700 7705 7710 7715 7720 7725 7730 7735 7740 7745 7750 7755 7760 7765 7770 7775 7780 7785 7790 7795 7800 7805 7810 7815 7820 7825 7830 7835 7840 7845 7850 7855 7860 7865 7870 7875 7880 7885 7890 7895 7900 7905 7910 7915 7920 7925 7930 7935 7940 7945 7950 7955 7960 7965 7970 7975 7980 7985 7990 7995 8000 8005 8010 8015 8020 8025 8030 8035 8040 8045 8050 8055 8060 8065 8070 8075 8080 8085 8090 8095 8100 8105 8110 8115 8120 8125 8130 8135 8140 8145 8150 8155 8160 8165 8170 8175 8180 8185 8190 8195 8200 8205 8210 8215 8220 8225 8230 8235 8240 8245 8250 8255 8260 8265 8270 8275 8280 8285 8290 8295 8300 8305 8310 8315 8320 8325 8330 8335 8340 8345 8350 8355 8360 8365 8370 8375 8380 8385 8390 8395 8400 8405 8410 8415 8420 8425 8430 8435 8440 8445 8450 8455 8460 8465 8470 8475 8480 8485 8490 8495 8500 8505 8510 8515 8520 8525 8530 8535 8540 8545 8550 8555 8560 8565 8570 8575 8580 8585 8590 8595 8600 8605 8610 8615 8620 8625 8630 8635 8640 8645 8650 8655 8660 8665 8670 8675 8680 8685 8690 8695 8700 8705 8710 8715 8720 8725 8730 8735 8740 8745 8750 8755 8760 8765 8770 8775 8780 8785 8790 8795 8800 8805 8810 8815 8820 8825 8830 8835 8840 8845 8850 8855 8860 8865 8870 8875 8880 8885 8890 8895 8900 8905 8910 8915 8920 8925 8930 8935 8940 8945 8950 8955 8960 8965 8970 8975 8980 8985 8990 8995 9000 9005 9010 9015 9020 9025 9030 9035 9040 9045 9050 9055 9060 9065 9070 9075 9080 9085 9090 9095 9100 9105 9110 9115 9120 9125 9130 9135 9140 9145 9150 9155 9160 9165 9170 9175 9180 9185 9190 9195 9200 9205 9210 9215 9220 9225 9230 9235 9240 9245 9250 9255 9260 9265 9270 9275 9280 9285 9290 9295 9300 9305 9310 9315 9320 9325 9330 9335 9340 9345 9350 9355 9360 9365 9370 9375 9380 9385 9390 9395 9400 9405 9410 9415 9420 9425 9430 9435 9440 9445 9450 9455 9460 9465 9470 9475 9480 9485 9490 9495 9500 9505 9510 9515 9520 9525 9530 9535 9540 9545 9550 9555 9560 9565 9570 9575 9580 9585 9590 9595 9600 9605 9610 9615 9620 9625 9630 9635 9640 9645 9650 9655 9660 9665 9670 9675 9680 9685 9690 9695 9700 9705 9710 9715 9720 9725 9730 9735 9740 9745 9750 9755 9760 9765 9770 9775 9780 9785 9790 9795 9800 9805 9810 9815 9820 9825 9830 9835 9840 9845 9850 9855 9860 9865 9870 9875 9880 9885 9890 9895 9900 9905 9910 9915 9920 9925 9930 9935 9940 9945 9950 9955 996



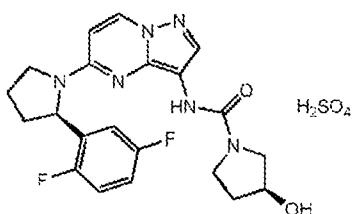
10 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. La formulación líquida incluye un agente solubilizante presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso. La formulación líquida también incluye citrato de sodio dihidrato presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso. La formulación líquida también incluye un edulcorante que incluye sacarosa presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso. La formulación líquida también incluye un agente enmascarante del amargor que está presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso. La formulación líquida también incluye un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación líquida tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

15

20

25

Las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria se pueden preparar a partir de una forma cristalina del compuesto de fórmula (I) que tiene la fórmula (I-HS):



35

40

45

50

55

60

65

En algunas realizaciones, la forma cristalina se puede caracterizar por tener picos de difracción XRPD (20 grados) a $18,4 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (20 grados) a $10,7 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (20 grados) a $10,7 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,2 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $21,5 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (20 grados) a $10,7 \pm 0,2$, $15,3 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,2 \pm 0,2$, $19,9 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $21,5 \pm 0,2$, $22,1 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$, $24,0 \pm 0,2$, $24,4 \pm 0,2$, $25,6 \pm 0,2$, $26,5 \pm 0,2$, $27,6 \pm 0,2$, $28,2 \pm 0,2$, $28,7 \pm 0,2$, $30,8 \pm 0,2$ y $38,5 \pm 0,2$.

También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita. El método incluye identificar a un paciente que lo necesita y que tiene disfagia y administrarle una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida proporcionada en la presente memoria.

En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar un cáncer en un paciente que lo necesita, que incluye identificar a un paciente que lo necesita que tiene disfagia, determinar si el cáncer está mediado por una quinasa Trk y si se determina que el cáncer está mediado por una quinasa Trk, administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida proporcionada en la presente memoria. En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar un cáncer en un paciente que lo necesita, que incluye identificar un paciente que lo necesita que tiene disfagia, identificar que el cáncer está mediado por una quinasa Trk, administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida proporcionada en la presente memoria.

En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita, que incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se describe en la presente memoria.

En algunas realizaciones, el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer de garganta, un cáncer de esófago o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, el paciente es un bebé, un niño, un adolescente o un paciente de edad avanzada.

- 5 También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita. El método incluye determinar si el cáncer está asociado con y/o exhibe uno o más de sobreexpresión, activación, amplificación y mutación de una quinasa Trk y si se determina que el cáncer está asociado con y/o exhibe uno o más de sobreexpresión, activación, amplificación y mutación de una quinasa Trk, administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria. También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita. El método incluye identificar que el cáncer está asociado con y/o exhibe una o más de sobreexpresión, activación, amplificación y mutación de una quinasa Trk y administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria.
- 10 15 En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que incluye determinar si el cáncer está mediado por una quinasa Trk, y si se determina que el cáncer está mediado por una quinasa Trk, administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se describe en la presente memoria. En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar el cáncer en un sujeto que lo necesita, que incluye identificar el cáncer como mediado por una quinasa Trk y administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se describe en la presente memoria.
- 20 25 La desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk o la expresión o nivel de la misma es una traducción cromosómica que da como resultado la traducción de una proteína de fusión Trk. La proteína de fusión Trk se puede seleccionar del grupo que consiste en: TP53-TrkA, LMNA-TrkA, CD74-TrkA, TFG-TrkA, TPM3-TrkA, NFASC-TrkA, BCAN-TrkA, MPRIP-TrkA, TPR-TrkA, RFWD2-TrkA, IRF2BP2-TrkA, SQSTM1-TrkA, SSBP2-TrkA, RABGAP1L-TrkA, C18ORF8-TrkA, RNF213-TrkA, TBC1D22A-TrkA, C20ORF112-TrkA, DNER-TrkA, ARHGEF2-TrkA, CHTOP-TrkA, PPL-TrkA, PLEKHA6-TrkA, PEAR1-TrkA, MRPL24-TrkA, MDM4-TrkA, LRRK71-TrkA, GRIPAP1-TrkA, EPS15-TrkA, DYNC2H1-TrkA, CEL-TrkA, EPHB2-TrkA, TGF-TrkA, NACC2-TrkB, QKI-TrkB, AFAP1-TrkB, PAN3-TrkB, SQSTM1-TrkB, TRIM24-TrkB, VCL-TrkB, AGBL4-TrkB, DAB2IP-TrkB, ETV6-TrkC, BTBD1-TrkC, LYN-TrkC, RBPM6-TrkC, EML4-TrkC, HOMER2-TrkC, TFG-TrkC, FAT1-TrkC, y TEL-TrkC.
- 30 35 La desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk o la expresión o actividad de la misma puede ser una o más mutaciones puntuales en el gen. El gen NTRK puede ser un gen NTRK1, y una o más mutaciones puntuales en el gen NTRK1 pueden resultar en la traducción de una proteína TrkA que tenga sustituciones en una o más de las siguientes posiciones de aminoácidos: 33, 336, 337, 324, 420, 444, 517, 538, 649, 682, 683, 702, y 1879.
- 40 Una o más mutaciones puntuales en el gen NTRK1 pueden dar lugar a la traducción de una proteína TrkA que tenga una o más de las siguientes sustituciones de aminoácidos: R33W, A336E, A337T, R324Q, R324W, V420M, R444Q, R444W, G517R, G517V, K538A, R649W, R649L, R682S, V683G, R702C, y C1879T.
- Breve descripción de los dibujos**
- 45 La figura 1 ilustra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de forma cristalina (I-HS) preparado según el ejemplo 2, según una realización.
- 50 La figura 2 ilustra un perfil de analizador térmico diferencial/termogravimétrico simultáneo (TG/DTA) de forma cristalina (I-HS) preparada según el ejemplo 2, según una realización.
- 55 La figura 3 ilustra un perfil de calorimetria diferencial de barrido (DSC) de la forma cristalina (I-HS) preparada según el ejemplo 2, según una realización.
- 60 Las figuras 4A y 4B ilustran imágenes de microscopía de luz polarizada (PLM) de forma cristalina (I-HS) preparada según el ejemplo 2 bajo luz (A) no polarizada y (B) polarizada, según algunas realizaciones.
- 65 La figura 5 ilustra un perfil de isotermia de sorción de vapor dinámico (DVS) de forma cristalina (I-HS) preparada según el ejemplo 2, según una realización.
- La figura 6 ilustra un perfil de espectroscopia infrarroja (IR) de la forma cristalina (I-HS) preparada según el ejemplo 2, según una realización.
- La figura 7 ilustra un patrón XRPD de la forma de base libre amorfa de un compuesto de Fórmula I, según una realización.
- La figura 8 ilustra un patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de forma cristalina (I-HS).

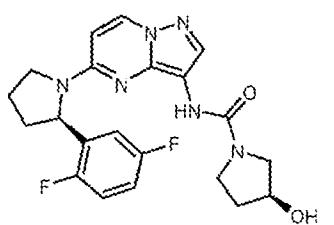
La figura 9 es un pictograma de instrucciones de preparación de la formulación de disolución pediátrica para la forma cristalina (I-HS).

- 5 La figura 10 es un conjunto de seis imágenes de RM que muestran el cerebro en el cuello del paciente diagnosticado con fibrosarcoma infantil. (A) y (B) son imágenes de resonancia magnética del cerebro y el cuello que muestran una masa hiperrealzante de 20 mm x 19 mm x 18 mm que afecta la base del cráneo de la fosa craneal media, justo anterior e inferior a las estructuras del oído interno cinco semanas después de la resección quirúrgica. (C) y (D) son imágenes de resonancia magnética del cerebro y el cuello que muestran una reducción significativa del intervalo en el tamaño y un aumento de la masa de más del 90 % desde el valor inicial al final del ciclo 1 (día 28), donde se le administró al paciente la sal de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida dos veces al día. (E) y (F) son imágenes de resonancia magnética del cerebro y el cuello tomadas al final del ciclo 2, que confirmaron la reducción de tamaño y mostraron una disminución continua en la mejora, lo que confirma una respuesta parcial.
- 10 15 La figura 11 es una lista de secuencias para un polipéptido TrkA silvestre ilustrativo (id. de sec. n.º: 1).
- La figura 12 es una lista de secuencias para un polipéptido TrkA silvestre ilustrativo (id. de sec. n.º: 2).
- 20 20 La figura 13 es una lista de secuencias para un polipéptido TrkA silvestre ilustrativo (id. de sec. n.º: 3).

Descripción detallada

25 La presente descripción se refiere a formulaciones líquidas de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida, una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o combinaciones de las mismas, y a las formulaciones líquidas para su uso en el tratamiento del cáncer.

En la presente memoria se proporciona una formulación líquida que comprende (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos;

un agente solubilizante; y

una base;

en donde:

50 la formulación tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5, y

el compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la combinación de los mismos tiene una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida.

55 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 1,5 % en peso a aproximadamente 2,5 % en peso. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 2 % en peso o 3 % en peso. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 2 % en peso.

60 En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, puede tener una concentración de aproximadamente 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml,

30 mg/ml o 35 mg/ml en la formulación líquida. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación de los mismos puede estar presente en una concentración de aproximadamente 20 mg/ml en la formulación líquida.

- 5 Las formulaciones proporcionadas en la presente memoria pueden incluir un agente solubilizante que funciona para aumentar la solubilidad del compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación de los mismos. Un agente solubilizante es un compuesto orgánico polar que tiene uno o más grupos hidroxilo. El agente solubilizante también es capaz de lograr una mayor concentración del compuesto de fórmula (I) (p. ej., la base libre) en disolución acuosa en comparación con una disolución en fase acuosa del compuesto de fórmula (I) en un rango de pH similar sin el agente solubilizante. El agente solubilizante puede incluir, por ejemplo, una ciclodextrina, un glicol, un glicerol, un polietilenglicol, un sistema de suministro de fármacos autoemulsionante (SEDDS) o una combinación de los mismos.
- 10 En algunas realizaciones, la ciclodextrina puede incluir una α -ciclodextrina, un derivado de β -ciclodextrina, un derivado de δ -ciclodextrina, una γ -ciclodextrina o un derivado combinado de los mismos. Por ejemplo, el agente solubilizante puede incluir una ciclodextrina. El agente solubilizante puede incluir un derivado de β -ciclodextrina, una γ -ciclodextrina o una mezcla de los mismos. Por ejemplo, el agente solubilizante puede incluir una hidroxialquil- γ -ciclodextrina. En algunas realizaciones, el agente solubilizante incluye una β -ciclodextrina que incluye al menos una de una hidroxialquil- β -ciclodextrina (p. ej., hidroxipropil- β -ciclodextrina) o una sulfoalquil éter- β -ciclodextrina (p. ej., sulfobutil éter- β -ciclodextrina). Por ejemplo, el agente solubilizante líquido puede incluir hidroxipropil- β -ciclodextrina. En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAVASOL® W7 HP (hidroxipropil- β -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es KLEPTOSE® HP (hidroxipropil- β -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAVAMAX® W7 (β -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAPTISOL® (sulfoalquil éter- β -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAVASOL® W7 M (metil- β -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAVASOL® W8 HP (hidroxipropil- γ -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAVAMAX® W8 (γ -ciclodextrina). En algunas realizaciones, la ciclodextrina es CAVAMAX® W6 (α -ciclodextrina).
- 15 Los SEDDS son mezclas isotrópicas de aceites, surfactantes, solventes y cosolventes/surfactantes, que pueden usarse para mejorar la absorción oral de compuestos farmacológicos altamente lipofílicos. Véase, p. ej., Tarate, B. y col., Recent Patents on Drug Delivery & Formulation (2014) Vol. 8.
- 20 En algunas realizaciones, la molécula de polietilenglicol es un polímero lineal. El peso molecular de la cadena lineal PEG puede estar entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 100.000 Da. Por ejemplo, un PEG de cadena lineal usado en la presente memoria puede tener un peso molecular de aproximadamente 100.000 Da, 95.000 Da, 90.000 Da, 85.000 Da, 80.000 Da, 75.000 Da, 70.000 Da, 65.000 Da, 60.000 Da, 55.000 Da, 50.000 Da., 45.000 Da, 40.000 Da, 35.000 Da, 30.000 Da, 25.000 Da, 20.000 Da, 15.000 Da, 10.000 Da, 9.000 Da, 8.000 Da, 7.000 Da, 6.000 Da, 5.000 Da, 4.000 Da, 3000 Da, 2000 Da o 1000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena lineal está entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 50.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena lineal está entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena lineal está entre aproximadamente 5.000 Da y aproximadamente 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena lineal está entre aproximadamente 5.000 Da y aproximadamente 20.000 Da.
- 25 En algunas realizaciones, la molécula de poli(etilenglicol) es un polímero ramificado. El peso molecular del PEG de cadena ramificada puede estar entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 100.000 Da. Por ejemplo, un PEG de cadena ramificada utilizado en la presente memoria puede tener un peso molecular de aproximadamente 100.000 Da, 95.000 Da, 90.000 Da, 85.000 Da, 80.000 Da, 75.000 Da, 70.000 Da, 65.000 Da, 60.000 Da, 55.000 Da, 50.000 Da., 45.000 Da, 40.000 Da, 35.000 Da, 30.000 Da, 25.000 Da, 20.000 Da, 15.000 Da, 10.000 Da, 9.000 Da, 8.000 Da, 7.000 Da, 6.000 Da, 5.000 Da, 4.000 Da, 3000 Da, 2000 Da o 1000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena ramificada está entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 50.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena ramificada está entre aproximadamente 1.000 Da y aproximadamente 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena ramificada está entre aproximadamente 5.000 Da y aproximadamente 40.000 Da. En algunas realizaciones, el peso molecular del PEG de cadena ramificada está entre aproximadamente 5.000 Da y aproximadamente 20.000 Da.
- 30 En algunas realizaciones, el agente solubilizante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso, aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 25 % en peso, aproximadamente 10 % en peso a aproximadamente 20 % en peso, o aproximadamente 13 % en peso a aproximadamente 17 % en peso. Por ejemplo, el agente solubilizante puede estar presente en aproximadamente 5 % en peso, 7 % en peso, 10 % en peso, 13 % en peso, 15 % en peso, 17 % en peso, 20 % en peso, 23 % en peso, 26 % en peso, 30 % en peso o aproximadamente 35 % en peso. En algunas realizaciones, el agente solubilizante está presente en la formulación líquida en una cantidad de 15 % en peso.
- 35 Se puede añadir un tampón a la formulación líquida para ajustar el pH de la formulación al pH deseado. En algunas realizaciones, se puede añadir un tampón en una cantidad para ajustar el pH de la formulación a aproximadamente

3 a aproximadamente 4. En algunas realizaciones, se puede añadir un tampón en una cantidad para ajustar el pH de la formulación a un pH de aproximadamente 3,5. En algunas realizaciones, el tampón incluye un tampón de citrato, un tampón de lactato, un tampón de fosfato, un tampón de maleato, un tampón de tartrato, un tampón de succinato, un tampón de acetato o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón incluye

lactato de litio, lactato de sodio, lactato de potasio, lactato de calcio, fosfato de litio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, fosfato de calcio, maleato de litio, maleato de sodio, maleato de potasio, maleato de calcio, tartrato de litio, tartrato de sodio, tartrato de potasio, tartrato de calcio, succinato de litio, succinato de sodio, succinato de potasio, succinato de calcio, acetato de litio, acetato de sodio, acetato de potasio, acetato de calcio o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, el tampón es un tampón de citrato. Por ejemplo, el tampón de citrato puede incluir al menos uno de citrato de litio monohidrato, citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de litio dihidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de litio trihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de litio tetrahidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de litio pentahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de litio hexahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio hexahidrato, citrato de litio heptahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato, citrato de calcio heptahidrato o mezclas de los mismos. El tampón puede incluir citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio hexahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato. En algunas realizaciones, el tampón incluye citrato de sodio dihidrato.

25 En algunas realizaciones, el tampón está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso, aproximadamente 0,3 % en peso a aproximadamente 4 % en peso, aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 3,5 % en peso, aproximadamente 0,6 % en peso a aproximadamente 3 % en peso, 0,7 % en peso a aproximadamente 2,5 % en peso, aproximadamente 0,7 % en peso a aproximadamente 2,0 % en peso o aproximadamente 0,7 % en peso a aproximadamente 1,5 % en peso. Por ejemplo, el tampón puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso, 0,3 % en peso, 0,5 % en peso, 0,7 % en peso, 0,9 % en peso, 1,1 % en peso, 1,5 % en peso, 2,0 % en peso, 2,5 % en peso, 3,0 % en peso, 3,5 % en peso, 4,0 % en peso o aproximadamente 5 % en peso. En algunas realizaciones, el tampón está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,9 % en peso.

35 El pH de la formulación líquida se puede ajustar al pH deseado. En algunas realizaciones, el pH de la formulación se puede ajustar a un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. Por ejemplo, el pH de la formulación se puede ajustar a un pH de aproximadamente 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 o 5,0. En algunas realizaciones, el pH de la formulación se ajusta a un pH de aproximadamente 3,5. En algunas de tales realizaciones, donde el pH de la formulación líquida se ajusta a un pH deseado, la formulación líquida incluye una base. En algunas realizaciones, la base se selecciona entre un citrato, un lactato, un fosfato, un maleato, un tartrato, un succinato, un acetato, un carbonato, un hidróxido o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la base incluye lactato de litio, lactato de sodio, lactato de potasio, lactato de calcio, fosfato de litio, fosfato de sodio, fosfato de potasio, fosfato de calcio, maleato de litio, maleato de sodio, maleato de potasio, maleato de calcio, tartrato de litio, tartrato de sodio, tartrato de potasio, tartrato de calcio, succinato de litio, succinato de sodio, succinato de potasio, succinato de calcio, acetato de litio, acetato de sodio, acetato de potasio, acetato de calcio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, bicarbonato de potasio, bicarbonato de calcio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio o combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la base incluye un citrato. Por ejemplo, el citrato puede incluir al menos uno de citrato de litio monohidrato, citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de litio dihidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de litio trihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de litio tetrahidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de litio pentahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de litio hexahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio hexahidrato, citrato de litio heptahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato, citrato de calcio heptahidrato, o mezclas de los mismos. La base puede incluir citrato de sodio monohidrato, citrato de potasio monohidrato, citrato de calcio monohidrato, citrato de sodio dihidrato, citrato de potasio dihidrato, citrato de calcio dihidrato, citrato de sodio trihidrato, citrato de potasio trihidrato, citrato de calcio trihidrato, citrato de sodio tetrahidrato, citrato de potasio tetrahidrato, citrato de calcio tetrahidrato, citrato de sodio pentahidrato, citrato de potasio pentahidrato, citrato de calcio pentahidrato, citrato de sodio hexahidrato, citrato de potasio hexahidrato, citrato de calcio hexahidrato, citrato de sodio heptahidrato, citrato de potasio heptahidrato o citrato de calcio heptahidrato. En algunas realizaciones, la base incluye citrato de sodio dihidrato.

En algunas realizaciones, la base está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso, aproximadamente 0,3 % en peso a aproximadamente 4 % en peso, aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 3,5 % en peso, aproximadamente 0,6 % en peso a aproximadamente 3 % en peso, 0,7 % en peso a aproximadamente 2,5 % en peso, aproximadamente 0,7 % en peso

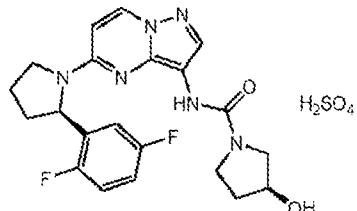
- a aproximadamente 2,0 % en peso o aproximadamente 0,7 % en peso a aproximadamente 1,5 % en peso. Por ejemplo, la base puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso, 0,3 % en peso, 0,5 % en peso, 0,7 % en peso, 0,9 % en peso, 1,1 % en peso, 1,5 % en peso, 2,0 % en peso, 2,5 % en peso, 3,0 % en peso, 3,5 % en peso, 4,0 % en peso o aproximadamente 5 % en peso. En algunas realizaciones,
- 5 la base está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,9 % en peso. Por ejemplo, el citrato está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso, aproximadamente 0,3 % en peso a aproximadamente 4 % en peso, aproximadamente 0,5 % en peso a aproximadamente 3,5 % en peso, aproximadamente 0,6 % en peso a aproximadamente 3 % en peso, aproximadamente 0,7 % en peso a aproximadamente 2,5 % en peso, aproximadamente 0,7 % en peso a aproximadamente 2,0 % en peso o aproximadamente 0,7 % en peso a aproximadamente 1,5 % en peso. En algunas realizaciones, el citrato puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso, 0,3 % en peso, 0,5 % en peso, 0,7 % en peso, 0,9 % en peso, 1,1 % en peso, 1,5 % en peso, 2,0 % en peso, 2,5 % en peso, 3,0 % en peso, 3,5 % en peso, 4,0 % en peso o aproximadamente 5 % en peso. Por ejemplo, el citrato está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,9 % en peso.
- 10
- 15 La formulación líquida puede tener un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. Por ejemplo, la formulación líquida puede tener un pH de aproximadamente 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 o aproximadamente 5. En algunas realizaciones, la formulación puede tener un pH de aproximadamente 3,5.
- 20 Se puede añadir un edulcorante a la formulación líquida para hacerla menos amarga o más agradable al paladar, o ambas cosas. Los edulcorantes adecuados para su inclusión en la formulación pueden incluir tanto edulcorantes naturales como artificiales. En algunas realizaciones, el edulcorante es un edulcorante artificial y puede incluir edulcorantes intensos o de alta intensidad. Los edulcorantes intensos se usan comúnmente como sustitutos del azúcar o alternativas al azúcar, ya que son muchas veces más dulces que el azúcar pero aportan pocas calorías o ninguna cuando se añaden a los alimentos. Los edulcorantes intensos ilustrativos incluyen sorbitol, sacarosa, sacarinás tal como la sacarina sódica, ciclamatos como los ciclamatos de sodio, aspartamo, sucralosa, taumatinia y acesulfam K. En algunas realizaciones, el edulcorante es un azúcar natural. Por ejemplo, se pueden usar azúcares tales como monosacáridos, disacáridos y polisacáridos en las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria. Los azúcares pueden incluir xilosa, ribosa, glucosa, manosa, galactosa, fructosa, dextrosa, sacarosa, maltosa, almidón parcialmente hidrolizado o jarabe de maíz y alcoholes de azúcar tales como sorbitol, xilitol, manitol, glicerina y combinaciones de los mismos. En algunas realizaciones, la formulación líquida comprende además un edulcorante. El edulcorante puede incluir un azúcar. Por ejemplo, el edulcorante puede incluir sacarosa. Por ejemplo, el edulcorante puede ser ORA-SWEET®, un edulcorante que incluye agua purificada, sacarosa, glicerina, sorbitol y saborizante; está regulado con ácido cítrico y fosfato de sodio; y se conserva con metilparabeno y sorbato de potasio. El edulcorante también puede incluir un edulcorante intenso. El edulcorante intenso puede incluir sucralosa. Por ejemplo, el edulcorante puede ser ORA-SWEET SF®, un edulcorante sin azúcar que incluye agua purificada, glicerina, sorbitol, sacarina sódica, goma xantana y saborizante; está regulado con ácido cítrico y citrato de sodio; y se conserva con metilparabeno (0,03 %), sorbato de potasio (0,1 %) y propilparabeno (0,008 %).
- 30
- 35
- 40 En algunas realizaciones, el edulcorante incluye uno o más de sacarosa, glicerina, sorbitol y saborizante. En algunas de tales realizaciones, el edulcorante incluye además ácido cítrico y fosfato de sodio. En algunas de tales realizaciones, el edulcorante puede incluir un conservante, tales como metilparabeno y sorbato de potasio. Por ejemplo, el edulcorante incluye sacarosa, glicerina, sorbitol, saborizante, ácido cítrico, fosfato de sodio, metilparabeno y sorbato de potasio. En algunas realizaciones, el edulcorante incluye uno o más de glicerina, sorbitol, sacarina sódica, goma xantana y saborizante. En algunas de tales realizaciones, el edulcorante incluye además ácido cítrico y citrato de sodio. En algunas de tales realizaciones, el edulcorante incluye un conservante, tales como metilparabeno, sorbato de potasio y propilparabeno. Por ejemplo, el edulcorante puede incluir glicerina, sorbitol, sacarina sódica, goma xantana, saborizante, ácido cítrico y citrato de sodio, metilparabeno (0,03 %), sorbato de potasio (0,1 %) y propilparabeno (0,008 %).
- 45
- 50 En algunas realizaciones, el edulcorante está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso, aproximadamente 35 % en peso a aproximadamente 65 % en peso, aproximadamente 40 % en peso a aproximadamente 60 % en peso, o aproximadamente 45 % en peso a aproximadamente 55 % en peso. Por ejemplo, el edulcorante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso, 35 % en peso, 40 % en peso, 45 % en peso, 50 % en peso, 55 % en peso, 60 % en peso, 65 % en peso o aproximadamente 70 % en peso. En algunas realizaciones, el edulcorante está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 50 % en peso.
- 55
- 60 En algunas realizaciones, la formulación líquida comprende además un agente enmascarante del amargor. El agente enmascarante del amargor puede incluir el sabor tipo enmascarante natural 231a12 (Abelei®), el sabor tipo enmascarante del amargor natural 231a39 (Abelei®), sabor enmascarante del amargor, natural (FONA®) y sabor Modificador de Sabor FINATECH, Natural.
- 65 El agente enmascarante del amargor puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso, de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 1,0 % en peso, o de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso. Por

ejemplo, el agente enmascarante del amargor puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso, 0,1 % en peso, 0,2 % en peso, 0,3 % en peso, 0,4 % en peso, 0,5 % en peso, 0,7 % en peso, 1,0 % en peso, 1,5 % en peso o 2,0 % en peso. En algunas realizaciones, el agente enmascarante del amargor está presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,4 % en peso.

5 Se puede incluir un agente saborizante en la formulación líquida para que la formulación final tenga un sabor sustancialmente no amargo y agradable al paladar. El agente saborizante puede incluir al menos uno de un agente saborizante natural, un agente saborizante de fruta natural, un agente saborizante artificial, un agente saborizante de fruta artificial, potenciadores del sabor o mezclas de los mismos. Se pueden encontrar agentes saborizantes ilustrativos, por ejemplo, en US CFR 21 § 172.515 (1 de abril de 2015). Por ejemplo, canela, frambuesa, naranja, arce, caramelo, jarabe de regaliz, fruta, bayas, vainilla, jarabe de acacia, coca, chocolate y menta, cereza silvestre, nuez, eriodictyon, chicle, pomelo, lima, malvavisco, gurana, café, melocotón, limón, hinojo, albaricoque, miel, menta, gaulteria y cereza. En algunas realizaciones, el agente saborizante puede incluir un agente saborizante modificador del sabor natural FONATECH®. El agente saborizante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso, de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso o de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso. Por ejemplo, el agente saborizante puede estar presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso, 0,1 % en peso, 0,2 % en peso, 0,3 % en peso, 0,4 % en peso, 0,5 % en peso, 0,7 % en peso, 1,0 % en peso, 1,5 % en peso o 2,0 % en peso. En algunas realizaciones, el agente saborizante puede estar presente en la formulación líquida en una cantidad de aproximadamente 0,5 % en peso.

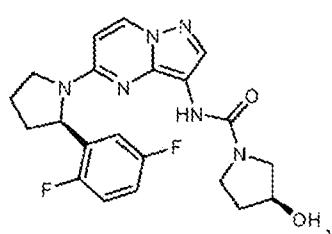
La formulación líquida también puede incluir un agente colorante.

25 Las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria se pueden preparar a partir de una forma cristalina del compuesto de fórmula (I). La forma cristalina puede tener la fórmula (I-HS):



35 I-HS

En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida que incluye (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-yl)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-yl)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):

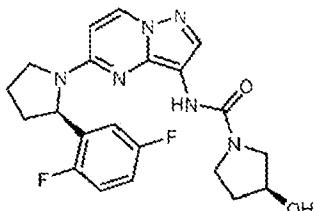


50 (I)

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, un agente solubilizante y una base. La formulación tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5. El compuesto de fórmula (I) tiene una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml. En algunas realizaciones, la formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 y el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, está presente en una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida. La base puede incluir citrato de sodio dihidrato.

60 En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida que incluye (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-yl)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-yl)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):

5



(I)

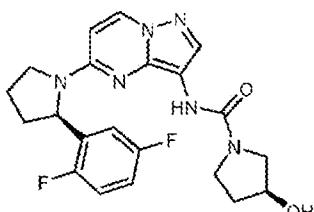
10

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, un agente solubilizante, una base, un edulcorante, un agente enmascarante del amargor y un agente saborizante. La formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4 y el compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, está presente en una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida. En algunas realizaciones, la base incluye citrato de sodio dihidrato. En algunas realizaciones, el edulcorante incluye sacarosa.

También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida que incluye:

20 (a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):

25



30

(I)

35 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos;

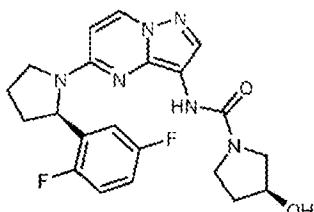
(b) un agente solubilizante presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso; y

40 (c) una base presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso. En algunas realizaciones, la base comprende citrato de sodio deshidratado. En algunas realizaciones, la formulación también incluye un edulcorante presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso. En algunas realizaciones, el edulcorante comprende sacarosa. En algunas realizaciones, la formulación también incluye un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso. En algunas realizaciones, la formulación también incluye un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El compuesto de fórmula (I) tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

45 También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida que incluye:

50 (a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):

55



60

(I)

65 una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos;

(b) un agente solubilizante (p. ej., una ciclodextrina tal como una hidroxipropil- β -ciclodextrina) presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso; y

5 (c) una base (p. ej., un citrato tal como citrato de sodio) presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso;

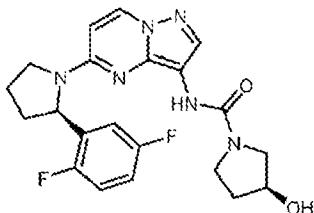
(d) un edulcorante (p. ej., un edulcorante que comprende sacarosa o un edulcorante intenso) presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso;

10 (e) un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso; y

15 (f) un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El compuesto de fórmula (I) tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida que incluye:

20 (a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos;

35 (b) hidroxipropil- β -ciclodextrina presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso; y

(c) un citrato de sodio presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso;

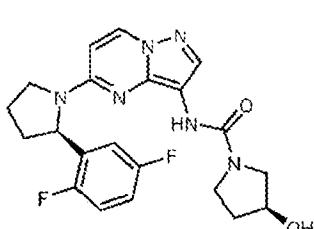
40 (d) una sacarosa o un edulcorante intenso presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso;

(e) un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso; y

45 (f) un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El compuesto de fórmula (I) tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

50 También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida que incluye:

(a) (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

65

una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos;

(b) hidroxipropil- β -ciclodextrina presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso; y

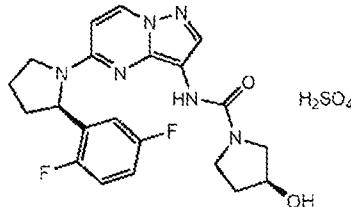
(c) citrato de sodio dihidrato presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso;

(d) una sacarosa o un edulcorante intenso presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso;

(e) un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso; y

(f) un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso. La formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4. El compuesto de fórmula (I) tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.

En algunas realizaciones, la formulación líquida se prepara a partir de una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I). Por ejemplo, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de hidrogenosulfato. En algunas realizaciones, la formulación líquida se prepara a partir de una forma cristalina del compuesto de fórmula (I). Por ejemplo, la forma cristalina del compuesto de fórmula (I) puede tener la fórmula (I-HS):



I-HS

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2 θ) a $18,4 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2 θ) a $10,7 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2 θ) a $10,7 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,2 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $21,5 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2 θ) a $10,7 \pm 0,2$, $15,3 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,2 \pm 0,2$, $19,9 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $21,5 \pm 0,2$, $22,1 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$, $24,0 \pm 0,2$, $24,4 \pm 0,2$, $25,6 \pm 0,2$, $26,5 \pm 0,2$, $27,6 \pm 0,2$, $28,2 \pm 0,2$, $28,7 \pm 0,2$, $30,8 \pm 0,2$ y $38,5 \pm 0,2$.

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD sustancialmente como se muestra en la figura 1 o la figura 8.

En algunas realizaciones, la forma cristalina exhibe una temperatura de inicio a máxima de aproximadamente 193 a aproximadamente 205 °C, medida mediante calorimetría de barrido diferencial. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) exhibe un calor de fusión de aproximadamente 2,415 mW, medido mediante calorimetría de barrido diferencial.

También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita. El método incluye administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida proporcionada en la presente memoria.

En algunas realizaciones, el cáncer provoca disfagia o dificultad para tragar. Por ejemplo, el cáncer puede ser un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer de boca, un cáncer de garganta o un cáncer de esófago. En algunas realizaciones, un paciente que tiene cáncer desarrolla dificultad para tragar debido a una o más fibrosis en la garganta, el esófago o la boca; infecciones de la boca o el esófago (p. ej., debido a radioterapia o quimioterapia), hinchazón o estrechamiento de la garganta o el esófago (p. ej., debido a radioterapia o cirugía); cambios físicos en la boca, mandíbulas, garganta o esófago debido a la cirugía; muscositis, que es dolor o inflamación en la garganta, el esófago o la boca; xerostomía, comúnmente llamada boca seca (p. ej., debido a radioterapia o quimioterapia).

En algunas realizaciones, el paciente es un bebé, un niño, un adolescente o un paciente de edad avanzada.

En algunas realizaciones, el paciente tiene disfagia. La disfagia puede ser una disfagia orofaríngea. La disfagia orofaríngea puede surgir debido al cáncer (p. ej., ciertos cánceres y algunos tratamientos contra el cáncer, como la radiación, pueden causar dificultad para tragar), trastornos neurológicos (p. ej., ciertos trastornos, tales como la esclerosis múltiple, la distrofia muscular y la enfermedad de Parkinson, pueden causar disfagia), daño neurológico (p. ej., daño neurológico repentino, como un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral o de la médula espinal, que afecta la capacidad de tragar) y divertículos faríngeos.

En algunas realizaciones, el paciente tiene trastornos neurológicos (p. ej., ciertos trastornos, tales como la esclerosis múltiple, la distrofia muscular y la enfermedad de Parkinson, pueden causar disfagia), daño neurológico (p. ej., daño neurológico repentino, tales como un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral o de la médula espinal, que afecta la capacidad para tragar) y divertículos faríngeos.

También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita y tiene disfagia (p. ej., dificultad para tragar). El método incluye la identificación de un paciente que lo necesita con disfagia. El método incluye además administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida descrita en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la disfagia es una disfagia orofaríngea.

En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita con disfagia. El método incluye la identificación de un paciente que lo necesita con disfagia. El método incluye además determinar si el cáncer está mediado por una quinasa Trk. Si se determina que el cáncer está mediado por una quinasa Trk, se administra al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida descrita en la presente memoria. En la presente memoria también se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita con disfagia. El método incluye la identificación de un paciente que lo necesita con disfagia. El método incluye además identificar el cáncer como mediado por una quinasa Trk y administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida descrita en la presente memoria.

En algunas realizaciones, la disfagia es una disfagia orofaríngea. La disfagia orofaríngea puede surgir debido al cáncer (p. ej., ciertos cánceres y algunos tratamientos contra el cáncer, como la radiación, pueden causar dificultad para tragar), trastornos neurológicos (p. ej., ciertos trastornos, tales como la esclerosis múltiple, la distrofia muscular y la enfermedad de Parkinson, pueden causar disfagia), daño neurológico (p. ej., daño neurológico repentino, como un accidente cerebrovascular o una lesión cerebral o de la médula espinal, que afecta la capacidad de tragar) y divertículos faríngeos.

Forma cristalina del compuesto de Fórmula (I)

Como se analiza en la presente memoria, las formulaciones líquidas se pueden preparar a partir de una forma cristalina de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (Fórmula I), una sal farmacéuticamente aceptable de la misma o combinaciones de las mismas. En algunas realizaciones, la forma cristalina es la forma cristalina (I-HS).

Como se ilustra en la figura 1, en algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se puede caracterizar por su patrón de difracción de rayos X en polvo (XRPD). El XRPD se llevó a cabo en un difractómetro de rayos X D5000 con una fuente de tubo sellado de foco fino CuK α 1 de 0,1540562 nm de longitud de Siemens escaneando muestras entre 3 y 40 °2-theta en un tamaño de etapa de 0,0200 °2-theta y un tiempo por etapa de 1 segundo. La velocidad de escaneo efectiva fue de 0,0200 °/s con un voltaje del instrumento de 40 kV y un ajuste de corriente de 40 mA. Las muestras se analizaron usando una rendija de divergencia de un tamaño de 2 mm en modo de reflexión bajo las siguientes condiciones experimentales.

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 20 picos característicos (2θ grados \pm 0,3), como se enumera en la Tabla 1.

Tabla 1. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

Posición [°2-θ]	FWHM [°2-θ]	espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
10,63	0,12	8,32	27,44
15,25	0,14	5,81	12,24
16,39	0,13	5,40	13,92
18,37	0,13	4,82	43,65

ES 2 987 474 T3

Posición [°2-θ]	FWHM [°2-θ]	espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
19,08	0,14	4,65	19,60
19,79	0,11	4,48	9,83
20,15	0,25	4,40	25,09
20,61	0,13	4,31	100,00
21,47	0,21	4,14	24,71
22,01	0,12	4,03	14,45
23,04	0,15	3,86	33,01
23,97	0,12	3,71	38,52
24,35	0,21	3,65	10,05
25,58	0,13	3,48	8,11
26,48	0,17	3,36	9,76
27,50	0,14	3,24	7,70
28,17	0,17	3,16	11,60
28,58	0,19	3,12	10,85
30,77	0,29	2,90	8,48
38,47	0,21	2,34	10,97

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 8 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), que comprende picos que tienen una intensidad relativa mayor o igual a aproximadamente el 15 %, como se enumera en la Tabla 2.

Tabla 2. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

Posición [°2-θ]	FWHM [°2-θ]	espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
10,63	0,12	8,32	27,44
18,37	0,13	4,82	43,65
19,08	0,14	4,65	19,60
20,15	0,25	4,40	25,09
20,61	0,13	4,31	100,00
21,47	0,21	4,14	24,71
23,04	0,15	3,86	33,01
23,97	0,12	3,71	38,52

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 5 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), que comprende picos que tienen una intensidad relativa mayor o igual a aproximadamente el 25 %, como se enumera en la Tabla 3.

Tabla 3. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

Posición [°2-θ]	FWHM [°2-θ]	espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
10,63	0,12	8,32	27,44
18,37	0,13	4,82	43,65
20,61	0,13	4,31	100,00
23,04	0,15	3,86	33,01
23,97	0,12	3,71	38,52

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 4 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), que comprende picos que tienen una intensidad relativa mayor o igual a aproximadamente 30 %, como se enumera en la Tabla 4.

5 Tabla 4. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

Posición [$^{\circ}2\text{-}\theta$]	FWHM [$^{\circ}2\text{-}\theta$]	espaciado d [Å]	Intensidad relativa [%]
10 15	18,37	0,13	43,65
	20,61	0,13	100,00
	23,04	0,15	33,01
	23,97	0,12	38,52

15 En ciertas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón de XRPD que es sustancialmente el mismo patrón de XRPD que se muestra en la figura 1.

20 En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a aproximadamente 18,4, 20,6, 23,0 y 24,0. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a aproximadamente 10,6, 18,4, 20,6, 23,0 y 24,0. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a aproximadamente 10,6, 18,4, 19,1, 20,2, 20,6, 21,5, 23,0 y 24,0. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a aproximadamente 10,6, 15,3, 16,4, 18,4, 19,1, 19,8, 20,2, 20,6, 21,5, 22,0, 23,0, 24,0, 24,4, 25,6, 26,5, 27,5, 28,2, 28,6, 30,8 y 38,5.

25 En ciertas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD que es sustancialmente el mismo patrón XRPD que se muestra en la figura 8.

30 En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 20 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), como se enumera en la Tabla 5.

Tabla 5. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

Posición ($^{\circ}2\theta$)	Intensidad relativa (%)
10,76	29,85
15,38	13,22
16,52	16,46
18,50	48,07
19,22	22,92
19,92	16,05
20,26	30,80
20,74	100,00
21,56	23,78
22,16	15,51
23,16	32,52
24,10	33,89
24,50	12,14
25,72	8,89
26,50	10,88
27,62	8,61
28,32	11,44
28,74	10,73
30,92	8,23
38,60	8,88

ES 2 987 474 T3

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 8 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), que comprende picos que tienen una intensidad relativa mayor o igual a aproximadamente el 15 %, como se enumera en la Tabla 6.

5

Tabla 6. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

	Posición ($^{\circ}2\theta$)	Intensidad relativa (%)
10	10,76	29,85
	18,50	48,07
	19,22	22,92
15	20,26	30,80
	20,74	100,00
	21,56	23,78
20	23,16	32,52
	24,10	33,89

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 5 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), que comprende picos que tienen una intensidad relativa mayor o igual a aproximadamente el 25 %, como se enumera en la Tabla 7.

25

Tabla 7. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

	Posición ($^{\circ}2\theta$)	Intensidad relativa (%)
30	10,76	29,85
	18,50	48,07
	20,74	100,00
35	23,16	32,52
	24,10	33,89

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un patrón XRPD con al menos los 4 picos característicos (2θ grados $\pm 0,3$), que comprende picos que tienen una intensidad relativa mayor o igual a aproximadamente el 30 %, como se enumera en la Tabla 8.

40

Tabla 8. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

	Posición ($^{\circ}2\theta$)	Intensidad relativa (%)
45	18,50	48,07
	20,74	100,00
	23,16	32,52
50	24,10	33,89

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (2θ a aproximadamente 18,5, 20,7, 23,2 y 24,1. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (2θ) a aproximadamente 10,8, 18,5, 20,7, 23,2 y 24,1. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (2θ) a aproximadamente 10,8, 18,5, 19,2, 20,3, 20,7, 21,6, 23,2 y 24,1. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (2θ) a aproximadamente 10,8, 15,4, 16,5, 18,5, 19,2, 19,9, 20,3, 20,7, 21,6, 22,2, 23,2, 24,1, 24,5, 25,7, 26,5, 27,6, 28,3, 28,7, 30,9 y 38,6.

55

En algunas realizaciones, dados los patrones de XRPD proporcionados en las figuras 1 y 8, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de XRPD (2θ) como se muestra en la Tabla 9.

60

65 Tabla 9. Picos XRPD de forma cristalina (I-HS)

	Figura 1	Figura 29	Diferencia	Promedio
5	10,76	10,63	0,13	10,70
	15,38	15,25	0,13	15,32
	16,52	16,39	0,13	16,46
	18,50	18,37	0,13	18,44
10	19,22	19,08	0,14	19,15
	19,92	19,79	0,13	19,86
	20,26	20,15	0,11	20,21
	20,74	20,61	0,13	20,68
15	21,56	21,47	0,09	21,52
	22,16	22,01	0,15	22,09
	23,16	23,04	0,12	23,10
	24,10	23,97	0,13	24,04
20	24,50	24,35	0,15	24,43
	25,72	25,58	0,14	25,65
	26,50	26,48	0,02	26,49
	27,62	27,50	0,12	27,56
25	28,32	28,17	0,15	28,25
	28,74	28,58	0,16	28,66
	30,92	30,77	0,15	30,85
	38,60	38,47	0,13	38,54

En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a $18,4 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a $10,7 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,2 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $21,5 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$ y $24,0 \pm 0,2$. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) se caracteriza por tener picos de difracción XRPD (grados 2θ) a $10,7 \pm 0,2$, $15,3 \pm 0,2$, $16,5 \pm 0,2$, $18,4 \pm 0,2$, $19,2 \pm 0,2$, $19,9 \pm 0,2$, $20,2 \pm 0,2$, $20,7 \pm 0,2$, $21,5 \pm 0,2$, $22,1 \pm 0,2$, $23,1 \pm 0,2$, $24,0 \pm 0,2$, $24,4 \pm 0,2$, $25,6 \pm 0,2$, $26,5 \pm 0,2$, $27,6 \pm 0,2$, $28,2 \pm 0,2$, $28,7 \pm 0,2$, $30,8 \pm 0,2$ y $38,5 \pm 0,2$.

Se entenderá que los valores 2-teta de los patrones de difracción de rayos X en polvo para la forma cristalina (I-HS) pueden variar ligeramente de un instrumento a otro y también dependiendo de las variaciones en la preparación de la muestra y la variación de un lote a otro, por lo que los valores citados no deben interpretarse como absolutos. También se entenderá que las intensidades relativas de los picos pueden variar dependiendo de los efectos de orientación, de modo que las intensidades mostradas en el trazo XRPD incluido en la presente memoria son ilustrativas y no están destinadas a utilizarse para una comparación absoluta. En consecuencia, se debe entender que la frase “sustancialmente el mismo patrón XRPD que el que se muestra en la figura 1 o la figura 8” significa que, para fines de comparación, al menos el 90 % de los picos que se muestran en la figura 1 o la figura 8 están presentes. Se debe entender que las posiciones de pico relativas pueden variar $\pm 0,3$ grados con respecto a las posiciones de pico que se muestran en la figura 1 o la figura 8. Se debe entender además que, a efectos de comparación, se permite cierta variabilidad en las intensidades máximas respecto de las que se muestran en las figuras 1 y 8.

La figura 2 ilustra un perfil de analizador térmico diferencial/termogravimétrico simultáneo (TG/DTA) de forma cristalina (I-HS), según una realización. Para el análisis, se pesaron aproximadamente 5 mg de forma cristalina (I-HS) en una bandeja de aluminio abierta y se cargaron en un analizador térmico diferencial/termogravimétrico simultáneo (TG/DTA) y se mantuvieron a temperatura ambiente. Después, la muestra se calentó a una velocidad de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ desde 25°C a 300°C , durante cuyo tiempo se registró el cambio en el peso de la muestra junto con cualquier evento térmico diferencial. Se utilizó nitrógeno como gas de purga a un caudal de $100\text{ cm}^3/\text{minuto}$. El perfil TG/DTA de la forma cristalina (I-HS) muestra una pérdida de peso inicial de 0,8 % entre $27,4^{\circ}\text{C}$ y $182,4^{\circ}\text{C}$, seguida de una pérdida de peso de 4,9 % en la curva TG entre $182,4^{\circ}\text{C}$ y $225,0^{\circ}\text{C}$, también vista como una endoterma en la curva DTA. Estas pérdidas de peso podrían deberse a la descomposición del material.

La figura 3 ilustra un perfil de calorimetria diferencial de barrido (DSC) de forma cristalina (I-HS), según una realización. El análisis DSC de la muestra se realizó usando un calorímetro de barrido diferencial Seiko DSC6200 (equipado con

- un enfriador). Se pesaron aproximadamente 5 mg de forma cristalina (I-HS) en un recipiente DSC de aluminio y se selló de forma no hermética con una tapa de aluminio perforada. Después, la bandeja de muestra se cargó en un Seiko DSC6200 (equipado con un enfriador), se enfrió y se mantuvo a 25 °C. Una vez que se obtuvo una respuesta de flujo de calor estable, la muestra y la referencia se calentaron a 270 °C a una velocidad de escaneo de 10 °C/min mientras se monitoreaba la respuesta de flujo de calor resultante. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) tiene un termograma DSC sustancialmente como se muestra en la figura 3. Tal como se utiliza en la presente memoria, “sustancialmente como se muestra en la figura 3” significa que las temperaturas del evento endotérmico que se muestra en la figura 3 pueden variar en aproximadamente ± 5 °C.
- Como se muestra en la figura 3, el termograma DSC de la forma cristalina (I-HS) indica un pequeño cambio endotérmico en la línea base entre 122,9 °C y 152,8 °C, seguido de una endoterma aguda que corresponde a la fusión de la forma cristalina (I-HS) a una temperatura de inicio de fusión de 190,8 °C, una temperatura máxima de fusión de 197,9 °C y un calor de fusión de 2,415 mW. La transición que sigue a la endoterma de fusión puede ser causada por la descomposición de la forma cristalina (I-HS) fundida.
- Las figuras 4A y 4B ilustran imágenes de microscopía de luz polarizada (PLM) de forma cristalina (I-HS) bajo luz (A) no polarizada y (B) no polarizada, según algunas realizaciones. La presencia de cristalinidad (birrefringencia) se determinó usando un microscopio polarizador Olympus BX50, equipado con una cámara Motic y un software de captura de imágenes (Motic Images Plus 2.0). Todas las imágenes se registraron usando el objetivo 20x. La forma cristalina (I-HS) exhibe birrefringencia cuando se examina bajo luz polarizada sin exhibir una morfología definida o aglomerados.
- La figura 5 ilustra un perfil de isoterna de sorción de vapor dinámico (DVS) de forma cristalina (I-HS), según una realización. Para la medición DVS, una muestra de forma cristalina (I-HS) se sometió a un ciclo de condiciones de humedad cambiantes para determinar su higroscopiedad. La muestra se analizó usando un sistema de medición de superficie Sistema de sorción de vapor dinámico DVS-1. Se colocaron aproximadamente 10 mg de forma cristalina (I-HS) en una balanza de sorción de vapor de malla y se cargaron en una balanza de sorción de vapor dinámica como parte del sistema de medición de superficie. Los datos se recopilaron en intervalos de 1 minuto. Se usó nitrógeno como gas portador. La forma cristalina muestreada (I-HS) se sometió a un perfil de rampa de 20 a 90 % de humedad relativa (HR) en incrementos del 10 %, manteniendo la muestra en cada paso hasta que se alcanzó un peso estable (99,5 % de finalización de la etapa). Una vez completado el ciclo de sorción, la muestra se secó usando el mismo procedimiento, pero hasta 0 % de HR y finalmente se llevó nuevamente al punto de partida de 20 % de HR. Se graficaron los cambios de peso durante los ciclos de sorción/desorción, lo que permitió determinar la naturaleza higroscópica de la muestra.
- Como se muestra en la figura 5, la forma cristalina (I-HS) parece no ser higroscópica. Se observó un pequeño aumento de masa de aproximadamente 1,7 % entre 0 % y 90 % de HR durante el ciclo de sorción. Además, se observó una histéresis muy pequeña entre los ciclos de sorción y desorción. El patrón XRPD de la forma cristalina (I-HS) posterior al análisis DVS (no mostrado) es similar a su patrón XRPD previo al DVS mostrado en la figura 1 o la figura 29, lo que indica que no se produjo ningún cambio en la forma cristalina (I-HS) durante el DVS.
- La figura 6 ilustra un perfil de espectroscopia infrarroja (IR) de forma cristalina (I-HS) para el compuesto de Fórmula I, según una realización. La espectroscopia IR se realizó en un espectrómetro Bruker ALPHA P. Se colocó suficiente material de forma cristalina (I-HS) en el centro de la placa del espectrómetro y se obtuvo un espectro de transmitancia usando una redisolución de 4 cm⁻¹, un tiempo de escaneo de fondo de 16 escaneos, un tiempo de escaneo de muestra de 16 escaneos y recopilación de datos de 4000 cm⁻¹ hasta 400 cm⁻¹. El espectro IR observado de la forma cristalina (I-HS) se muestra en la figura 6.
- La forma cristalina (I-HS) tiene una serie de propiedades que la hacen sorprendentemente superior a la forma amorfa de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (AM(HS)). Por ejemplo, la forma cristalina (I-HS) tiene propiedades que contribuyen a su fabricación y producción de un producto comercial. Como se muestra en el ejemplo 8, la forma cristalina (I-HS) tiene mejores propiedades de flujo en comparación con el API amorfo (AM(HS)) como lo evidencia el índice de Carr y Hausner. Por ejemplo, la forma cristalina (I-HS) exhibe un valor de índice de Carr superior al 20 %. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) exhibe una relación de Hausner de menos de 1,35 (p. ej., un valor de entre aproximadamente 1,26 y aproximadamente 1,34). Las diferencias en las propiedades de flujo pueden hacer que el desarrollo de una forma de dosificación oral sólida sea más difícil para el API amorfo frente al API cristalino.
- La forma cristalina (I-HS) también demostró una mejor estabilidad en un estudio de estabilidad acelerada realizado en una bolsa de LDPE a 40 °C/75 % HR durante cinco semanas. Si bien ni la forma AM(HS) ni la forma cristalina (I-HS) exhibieron cambios significativos en los niveles de impurezas químicas a lo largo del estudio, el estudio sí reveló que la forma cristalina (I-HS) tiene propiedades fisicoquímicas estables. El API amorfo, por otro lado, se convierte en una forma cristalina sustancialmente similar a la forma cristalina (I-HS) mediante XRPD, DSC, TGA, KF y microscopía de luz polarizada. Además, el API amorfo cambió a un polvo aglomerado con propiedades de flujo reducidas durante el transcurso de la prueba de estabilidad. Tales cambios en las propiedades físicas del compuesto, incluido un cambio de un polvo amorfo a un material cristalino y/o un polvo aglomerado con flujo reducido, durante el almacenamiento

harían casi imposible fabricar una forma de dosificación oral sólida para uso del paciente basada en el compuesto amorfó. Sin embargo, las propiedades observadas para la forma cristalina (I-HS) son consistentes con las deseadas para un producto comercial, incluyendo tener una estructura física y química estable.

- 5 La forma cristalina (I-HS), como se señaló anteriormente, no es higroscópica. Tal como se utiliza en la presente memoria, “no higroscópico” se refiere a un compuesto que exhibe un aumento de peso de menos del 2 % a 25 °C y 80 % de HR después de 24 a 48 horas (véase, p. ej., el ejemplo 10). Sin embargo, se descubrió que el compuesto AM(HS) se hizo delicuente al exponerse a la humedad. Dada esta tendencia, el uso del compuesto AM(HS) requeriría importantes precauciones de manipulación durante el almacenamiento y la fabricación para evitar que se produzca este cambio de forma, mientras que la forma cristalina (I-HS) no requiere tales precauciones durante la fabricación del API. También se esperaría que esta estabilidad a la humedad se trasladara a cualquier producto de dosificación oral sólida preparado usando la forma cristalina (I-HS).
- 10 Una forma cristalina (p. ej., I-HS) puede proporcionar un perfil de impurezas mejorado en comparación con el API amorfó. La capacidad de controlar un perfil de impurezas puede ser importante para la seguridad del paciente, el desarrollo de un proceso de fabricación repetible y el cumplimiento de los requisitos de las agencias reguladoras antes de su uso en humanos. Se pueden encontrar propiedades y características adicionales del polimorfo en la Solicitud de patente n.º US-de serie 14/943.014.
- 15 20 Las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria, que incluyen (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (Fórmula I), exhiben inhibición de la proteína tirosina quinasa de la familia Trk y pueden usarse en el tratamiento del dolor, la inflamación, el cáncer y ciertas enfermedades infecciosas.
- 25 30 35 Algunas realizaciones incluyen una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria para su uso en el tratamiento de trastornos y enfermedades que pueden tratarse inhibiendo las quinasas TrkA, TrkB y/o TrkC, tales como una afección mediada por TrkA, TrkB y/o TrkC, tal como una o más afecciones descritas en la presente memoria, incluido un cáncer asociado a Trk.
- 40 45 50 55 60 Se puede demostrar la capacidad de un compuesto de Fórmula (I), una forma de sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o la forma cristalina (I-HS) de actuar como inhibidores de TrkA, TrkB y/o TrkC mediante los ensayos descritos en los Ejemplos A y B como se describe en la patente n.º US-8.513.263, expedida el 20 de agosto de 2013.
- En algunas realizaciones, en la presente memoria se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar a un paciente diagnosticado con un cáncer asociado a TRK, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida proporcionada en la presente memoria. La familia Trk de receptores de neurotrofinas, TrkA, TrkB y TrkC (codificados por los genes NTRK1, NTRK2 y NTRK3, respectivamente) y sus ligandos de neurotrofinas regulan el crecimiento, la diferenciación y la supervivencia de las neuronas. La desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, tales como las translocaciones que involucran el dominio de la quinasa NTRK, las mutaciones que involucran el sitio de unión del ligando TRK, las amplificaciones de un gen NTRK, las variantes de empalme del ARNm de Trk y la señalización autocrina/paracrína de Trk se describen en un número diverso de tipos de tumores y pueden contribuir a la tumorigénesis. Recientemente se describieron fusiones de NTRK1 en un subconjunto de pacientes con cáncer de pulmón y adenocarcinoma². Las translocaciones en NTRK1, NTRK2 y NTRK3 que conducen a la producción de proteínas de fusión TrkA, TrkB y TrkC constitutivamente activas son oncogénicas y prevalecen en una amplia variedad de tipos de tumores, incluidos el adenocarcinoma de pulmón, el cáncer de tiroides, el cáncer de cabeza y cuello, el glioblastoma y otros.
- En algunas realizaciones, la desregulación en un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye la sobreexpresión de TrkA, TrkB o TrkC silvestre (p. ej., lo que conduce a la activación autocrina). En algunas realizaciones, la desregulación en un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye sobreexpresión, activación, amplificación o mutación en un segmento cromosómico que comprende el gen NTRK1, NTRK2 o NTRK3 o una porción del mismo. En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una o más translocaciones o inversiones cromosómicas que resultan en fusiones de los genes NTRK1, NTRK2 o NTRK3, respectivamente. En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, es resultado de translocaciones genéticas en las que la proteína expresada es una proteína de fusión que contiene residuos de una proteína portadora no TrkA y TrkA, una proteína portadora no TrkB y TrkB, o una proteína portadora no TrkC y proteínas TrkC, e incluye un mínimo de un dominio de quinasa TrkA, TrkB o TrkC funcional, respectivamente.
- En algunas realizaciones, una proteína de fusión TrkA es una de las proteínas de fusión TrkA que se muestran en la Tabla 10, donde:
- 65 Tabla 10. Proteínas de fusión TrkA ilustrativas y cánceres

	Proteína de fusión	Portador de fusión no TrkA	Trk ilustrativos no limitativos y sinónimos de cáncer(es) asociado(s)
5	TP53-TrkA ^{1,11}	Proteína tumoral P53	Melanoma spitzoideo, tumores de Spitz
10	LMNA-TrkA ^{1,12}	Lámina A/C	Melanoma spitzoideo, tumores de Spitz, sarcoma indiferenciado, sarcoma de tejidos blandos en adultos (p. ej., sarcoma de tejidos blandos metastásico en el pulmón), fibrosarcoma de tejidos blandos, sarcoma de células fusiformes ^G , fibrosarcoma infantil congénito ^H , sarcoma similar al hemangiopericitoma pediátrico ^I , cáncer colorrectal ^K
15	CD74-TrkA ²	Cadena invariante de clase II del MHC	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
20	TFG-TrkA (TRK-T3) ³	Gen fusionado con TRK	Adenocarcinoma de pulmón
25	TPM3-TrkA ³	Tropomiosina 3	Cáncer de pulmón, carcinoma papilar de tiroides (PTC), tumor fibroso solitario de tejidos blandos
30	NFASC-TrkA ⁴	Neurofascina	Cáncer de pulmón, carcinoma papilar de tiroides (PTC), leucemia mieloide aguda (AML), sarcoma, gliomas pediátricos, cáncer colorrectal (CRC), schwannoma de tejidos blandos, tumores melanocíticos spitzoides ^J
35	BCAN-TrkA ⁴	Brevicán	Glioblastoma multiforme (GBM); Glioblastoma
40	MPRIP-TrkA ^{5,E}	Fosfatasa de miosina Rho Proteína interactuante o Rho Proteína interactuante 3	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), Adenocarcinoma de pulmón
45	TPR-TrkA (TRK-T1 o TRK-T2) ³	Región promotora translocada, proteína de cesta nuclear	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), cáncer colorrectal (CRC) ^A , cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
50	RFWD2-TrkA ⁶	Dominio 2 de repetición WD y dedo anular	Cáncer neuroendocrino de células grandes (LCNEC); NSCLC
55	IRF2BP2-TrkA ⁷	Proteína 2 de unión al factor 2 regulador del interferón	Cáncer de tiroides; Carcinoma de la glándula tiroidea
60	SQSTM1-TrkA ⁷	Secuestrosoma 1	Cáncer de tiroides (p. ej., cáncer papilar de tiroides), carcinoma de glándula tiroidea, fibrosarcoma de tejidos blandos, cáncer de pulmón de células no pequeñas ^L
65	SSBP2-TrkA ⁷	Proteína 2 de unión al ADN monocatenario	Cáncer de tiroides (p. ej., cáncer papilar de tiroides); Carcinoma de la glándula tiroidea
	RABGAP1L-TrkA ⁸	Proteína 1 similar activadora de GTPasa RAB	Colangiarcinoma intrahepático (ICC)
	C18ORF8-TrkA ⁹	Marco 8 de lectura abierto del cromosoma 18	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	RNF213-TrkA ⁹	Proteína 213 de dedo anular	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	TBC1D22A-TrkA ⁹	Familia de dominios TBC1, miembro 22A	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	C20ORF112-TrkA ⁹	Marco 112 de lectura abierto del cromosoma 20	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	DNER-TrkA ⁹	Repetición de EGF similar a Delta/Notch que contiene	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	ARHGEF2-TrkA ¹³	Factor 2 de intercambio de nucleótidos de guanina Rho	Glioblastoma
	CHTOP-TrkA ¹³	Diana de cromatina de PRMT1	Glioblastoma
	PPL-TrkA ¹³	Periplaquina	Carcinoma de tiroides
	PLEKHA6-TrkA	Miembro 6 de la familia A que contiene el dominio de homología de pleckstrina	

	Proteína de fusión	Portador de fusión no TrkA	Trk ilustrativos no limitativos y sinónimos de cáncer(es) asociado(s)
5	PEAR1-TrkA	Receptor 1 de agregación endotelial plaquetaria	
10	MRPL24-TrkA	Proteína ribosomal 39S L24, mitocondrial	
15	MDM4-TrkA	Homólogo humano de ratón Doble Minuto 4	
20	LRRC71-TrkA	Repetición rica en leucina que contiene 71	
25	GRIPAP1-TrkA	Proteína 1 asociada a GRIP1	
30	EPS15-TrkA	Sustrato 15 del receptor del factor de crecimiento epidérmico	
35	DYNC2H1-TrkA ^B	Dineína, citoplasmática 2, cadena pesada 1	Sarcoma
40	CEL-TrkA	Lipasa de éster carboxílico	Muestra de adenocarcinoma de páncreas ^D
45	EPHB2-TrkA ^B	Receptor B2 de EPH	Glioma de grado inferior
50	TGF-TrkA ^C	Factor de crecimiento transformante	Cáncer papilar de tiroides
55	NELL1-TrkA ^F	Proteína citoplasmática que contiene repeticiones similares al factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
60	EPL4-TrkA ^F	Ligando 4 de la tirosina quinasa del receptor relacionado con EPH/proteína efrina-A4	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
65	CTNND2-TrkA ^F	Catenina (proteína asociada a cadherina), delta 2	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	TCEANC2-TrkA ^F	Dominio central y N-terminal del factor de elongación de la transcripción A (SII)	Cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC)
	^A Créancier y col., Cancer Lett. 365(1):107-111, 2015.J		
	^B Publicación de solicitud de patente n.º US-2015/0315657.		
	^C Publicación de solicitud de patente n.º US-2015/0283132.		
	^D Egren y col., Cancer Res. 75(15 Suplemento): 4793, 2015.		
	^E Publicación de solicitud de patente n.º US-2015/0073036.		
	^F P.C.T. Publicación de solicitud de patente n.º WO2015184443A1.		
	^G Haller y col., The Journal of pathology 238.5 (2016): 700-710.		
	^H Wong y col., J Natl Cancer Inst 2016;108:djv307.		
	^I Haller y col., J. Pathol. 238(5): 700-10.		
	^J Wu y col., Mod Pathol. Abril de 2016;29(4):359-69.		
	^K Konicek y col., Cancer research, Vol. 76, No. 14, Supp. Suplemento. Número de resumen: 2647; 107. ^a Reunión Anual de la Asociación Estadounidense para la Investigación del Cáncer, AACR 2016. Nueva Orleans, LA; 16-20 de abril de 2016.		
	^L Drilon y col., Cancer research, Vol. 76, No. 14, Supp. Suplemento. Número de resumen: CT007; 107. ^a Reunión Anual de la Asociación Estadounidense para la Investigación del Cáncer, AACR 2016. Nueva Orleans, LA; 16-20 de abril de 2016.		

En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una o más delecciones, inserciones o mutaciones puntuales en una proteína TrkA. En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una eliminación de uno o más residuos de la proteína TrkA, lo que resulta en una actividad constitutiva del dominio de la quinasa TrkA. En algunas realizaciones, la eliminación incluye una eliminación de los aminoácidos 303-377 en la isoforma 2 de TrkA.

En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye al menos una mutación puntual en un gen NTRK1 que da como resultado la producción de una proteína TrkA que tiene una o más sustituciones de aminoácidos en comparación con la proteína TrkA silvestre (véase, por ejemplo, las mutaciones puntuales enumeradas en la Tabla 11). Un polipéptido TrkA silvestre ilustrativo es la id. de sec. n.º: 1, un polipéptido TrkB silvestre ilustrativo es la id. de sec. n.º: 2 y un polipéptido TrkC ilustrativo es la id. de sec. n.º: 3.

Tabla 11. Activación de mutaciones puntuales de TrkA^A

	Mutación puntual	Justificación	Isoforma ilustrativa en la que está presente la mutación (si se conoce)
10	R33W ^B		NP_001007793.1 ^F
15	A336E	Cerca del sitio de unión de NGF	Secuencia de TrkA de referencia
20	A337T	Cerca del sitio de unión de NGF	Secuencia de TrkA de referencia
25	R324Q o R324W	Cerca del sitio de unión de NGF	Desconocido
30	V420M	Cerca de la membrana	Secuencia de TrkA de referencia
35	R444Q o R444W	Cerca de la membrana	Secuencia de TrkA de referencia
40	G517R o G517V	Bucle P	Secuencia de TrkA de referencia
45	K538A	Activando	Secuencia de TrkA de referencia
50	V573M ^E		Secuencia de TrkA de referencia
	F589L ^E		Secuencia de TrkA de referencia
	G595R o G667C ^D	Dominio catalítico	Secuencia de TrkA de referencia
	F598L ^E		Desconocido
	R649W o R649L	La arginina puede estabilizar la conformación autoinhibida.	Secuencia de TrkA de referencia
	R682S	Bucle de activación	Secuencia de TrkA de referencia
	V683G	Bucle de activación	Secuencia de TrkA de referencia
	R702C	Expuesto, puede formar un dímero con enlaces disulfuro cara a cara	Secuencia de TrkA de referencia
	Q627X ^C , Q597X ^C , Q633X ^C		NP_001012331.1 ^G , NP_001007793.1 ^F , y la secuencia de TrkA de referencia, respectivamente

^A Secuencia de TrkA de referencia es UniProtKB/Swiss-Prot: P04629.4, y se puede encontrar en la URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&R_ID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&R_ID=0) (id. de sec. n.º:1)

^B Zhang y col., Blood 124(21):1682, 2014. Mutation found in T-cell prolymphocytic leukemia.

^C Park y col., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 112(40):12492-12497, 2015. Mutation found in colorectal cancer.

^D Russo y col., Cancer Discov. Ene;6(1):36-44, 2016.

^E Solicitud PCT n.º WO2016196141A1.

^F [www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/56118210?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=3&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/56118210?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=3&RID=0)

^G www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/59889558

En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una variación de empalme en un ARNm de TrkA que da como resultado una proteína expresada que es una variante empalmada alternativamente de TrkA que tiene al menos un residuo eliminado (en comparación con una proteína TrkA silvestre) lo que da como resultado una actividad constitutiva del dominio de la quinasa TrkA. En algunas realizaciones, una forma empalmada alternativamente de TrkA con actividad constitutiva tiene delecciones de los exones 8, 9 y 11 que dan como resultado una proteína expresada a la que le faltan los residuos 192-284 y 393-398 en relación con la isoforma 2 de TrkA, tiene una delección del exón 10 en TrkA o tiene una delección en un gen NTRK1 que codifica una proteína TrkA con una delección de 75 aminoácidos en el dominio transmembrana (Reuther y col., Mol. Cell Biol. 20:8655-8666, 2000).

Los cánceres identificados como portadores de una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (consulte las referencias citadas en la presente memoria y también los sitios web www.cancer.gov y www.nccn.org) incluyen:

(A) Cánceres en donde la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una o más translocaciones o inversiones cromosómicas que dan lugar a proteínas de fusión TrkA, p. ej., incluyendo:

	Cáncer	Estándar de atención
5	Cáncer de pulmón de células no pequeñas ²	radioterapia (p. ej., terapia con yoduro radiactivo, radiación de haz externo o terapia con radio 223), quimioterapéuticos como agentes únicos (p. ej., dimaleato de afatinib, bevacizumab, carboplatino, cetuximab, cisplatino, crizotinib, erlotinib, gefitinib, gemcitabina, metotrexato, paclitaxel o pemetrexed) o combinaciones (p. ej., carboplatino-paclitaxel, gemcitabina-paclitaxel o quimiorradiación)
10	Carcinoma papilar de tiroides ¹⁴	Radioterapias (p. ej., terapia con yoduro radiactivo o radiación de haz externo) y quimioterapéuticos (p. ej., sorafenib, sunitinib o pazopanib)
15	Glioblastoma multiforme ¹⁵	Quimioterapéuticos (p. ej., bevacizumab, everolimus, lomustina o temozolomida)
20	Cáncer colorrectal ¹⁶	Quimioterapéuticos como agentes únicos (p. ej., afibercept, bevacizumab, capecitabina, cetuximab, fluorouracilo, irinotecán, leucovorina, oxaliplatino, panitumumab o regorafenib) o combinaciones (p. ej., folfox, folfiri, capox, folfiri-bevacizumab, folfiri-cetuximab o xelox)
25	Melanoma ¹²	Quimioterapéuticos (p. ej., aldesleucina, dabrafenib, dacarbazine, interferón alfa-2b, ipilimumab, peginterferón alfa-2b, trametinib o vemurafenib)

(B) Cánceres en donde la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una o más delecciones, inserciones o mutaciones en la proteína TrkA, p. ej., incluyendo:

	Cáncer	Estándar de atención
30	Leucemia mieloide aguda ^{17, 18}	Quimioterapéuticos como agentes únicos (p. ej., trióxido de arsénico, ciclofosfamida, citarabina, daunorrubicina, doxorrubicina o vincristina) o combinaciones (p. ej., ADE)
35	Cáncer neuroendocrino de células grandes ¹⁹	Radioterapia (p. ej., terapia con yoduro radiactivo, radiación de haz externo o terapia con radio 223) y/o quimioterapia (p. ej., cisplatino, carboplatino o etopósido)
40	Neuroblastoma ²⁰	Quimioterapéuticos (p. ej., ciclofosfamida, doxorrubicina o vincristina)

(C) Cánceres en donde la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye la sobreexpresión de TrkA silvestre (activación autocrina), p. ej., incluyendo:

	Cáncer	Estándar de atención
40	Cáncer de próstata ^{21, 22}	Radioterapia (p. ej., terapia con radio 223) o quimioterapia (p. ej., abiraterona, cabazitaxel, degarelix, denosumab, docetaxel, enzalutamida, leuprolida, prednisona o sipuleucel-T)
45	Neuroblastoma ²³	Quimioterapéuticos (p. ej., ciclofosfamida, doxorrubicina o vincristina)
50	Cáncer de páncreas ²⁴	Quimioterapéuticos como agentes únicos (p. ej., erlotinib, fluorouracilo, gemcitabina o mitomicina C) o combinaciones (p. ej., gemcitabina-oxaliplatino)
55	Melanoma ²⁵	Quimioterapéuticos (p. ej., aldesleucina, dabrafenib, dacarbazine, interferón alfa-2b, ipilimumab, peginterferón alfa-2b, trametinib o vemurafenib)
60	Cáncer de células escamosas de cabeza y cuello ²⁶	Radioterapia y/o quimioterapia (p. ej., bleomicina, cetuximab, cisplatino, docetaxel, fluorouracilo o metotrexato)
65	Cáncer gástrico ²⁷	Quimioterapéuticos (p. ej., docetaxel, doxorrubicina, fluorouracilo, mitomicina C o trastuzumab)

En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una translocación que da como resultado la expresión de una proteína de fusión TrkB, por ejemplo, una de las proteínas de fusión TrkB que se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12. Proteínas de fusión TrkB ilustrativas y cánceres

	Proteína de fusión	Portador de fusión no TrkB	Trk ilustrativos no limitativos y sinónimos de cáncer(es) asociado(s)
5	NACC2-TrkB ¹⁰	Miembro 2 de la familia NACC, dominio BEN y BTB (POZ) que contiene	Astrocitoma pilocítico
10	QKI-TrkB ¹⁰	QKI, dominio KH que contiene, unión a ARN	Astrocitoma pilocítico
15	AFAP1-TrkB ⁷	Proteína 1 asociada al filamento de actina	Glioma de grado inferior, <i>In vitro</i> (células Ba/F3 murinas) ^B Astrocitoma pilocítico con anaplasia (PAA) ^E
20	PAN3-TrkB ⁷	Subunidad específica de ribonucleasa poli(A) PAN3	Carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello
25	SQSTM1-TrkB ⁷	Secuestrosoma 1	Glioma de grado inferior
30	TRIM24-TrkB ⁷	Motivo tripartito que contiene 24	Adenocarcinoma de pulmón
35	VCL-TrkB ¹¹	Vinculina	Gliomas pediátricos
40	AGBL4-TrkB ¹¹	Proteína de unión ATP/GTP similar a 4	Gliomas pediátricos
45	DAB2IP-TrkB	Proteína que interactúa con el homólogo 2 deshabilitado	
50	NTRK2-TERT ^A	Transcriptasa inversa de la telomerasa	Cáncer de tiroides
55	TEL-TrkB ^C (ETV6)	Variante 6 del ETS	<i>In vitro</i> (células Ba/F3 murinas)
60	QKI-TrkB ^D	Proteína quaking	Astrocitoma

^A Publicación de solicitud de patente PCT n.º WO 2015/183836A1^B Drilon y col., Ann Oncol. Mayo de 2016;27(5):920-6.^C Yuzugullu y col., Cell Discov. 2: 16030, 2016.^D Ni y col., Neuro Oncol. Enero de 2017; 19(1):22-30.^E Lin y col., Neuro-Oncol, Vol. 18, Supp. Suplemento 3, págs. iii58, Número de resumen: HG-48; 17.º Simposio Internacional sobre Neurooncología Pediátrica, ISPNO 2016. Liverpool, Reino Unido, 12 de junio de 2016 - 15 de junio de 2016.

35 En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye al menos una mutación puntual en un gen NTRK1 que da como resultado la producción de una proteína TrkB que tiene una o más sustituciones de aminoácidos en comparación con la proteína TrkB silvestre (véase, por ejemplo, las mutaciones puntuales enumeradas en la Tabla 13).

40 Tabla 13. Activación de mutaciones puntuales de TrkB ^A

	Mutación puntual	Justificación	Isoforma ilustrativa en la que está presente la mutación (si se conoce)
45	A13T ^C		Secuencia de TrkB de referencia
50	E142K ^C		Secuencia de TrkB de referencia
55	R136H ^C		Secuencia de TrkB de referencia
60	V619M ^B		Desconocido
	F633L ^B		NP_006171.2 ^D (Correspondiente a la posición 617 de la secuencia de referencia TrkB)
	G639R ^B		NP_006171.2 ^D (Correspondiente a la posición 623 de la secuencia de referencia TrkB)
	G709C o G709A o G709S ^B		NP_006171.2 ^D (Correspondiente a la posición 693 de la secuencia de referencia TrkB)

La secuencia de referencia TrkB es UniProtKB/Swiss-Prot: Q16620.1, y se puede encontrar en la URL: [www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0) (id. de sec. n.º: 2)

^B Solicitud PCT n.º WO2016196141A1.

^C Bonanno y col., Journal of Thoracic Oncology, Vol. 11, No. 4, Supp. Supl. 1, págs. S67. Número de resumen: 28P; 6^a Conferencia Europea sobre Cáncer de Pulmón, ELCC 2016, Ginebra, Suiza y.

^D www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_006171.2

En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una translocación que da como resultado la expresión de una proteína de fusión TrkC, p. ej., una de las proteínas de fusión TrkC que se muestran en la Tabla 14.

5 Tabla 14. Proteínas de fusión TrkC ilustrativas y cánceres

	Proteína de fusión	Portador de fusión no TrkB	Trk ilustrativos no limitativos y sinónimos de cáncer(es) asociado(s)
10	ETV6-TrkC ¹¹ (TEL; o translocación cromosómica t(12;15) (pág. 13;q25)) ^J	Variante 6 del ETS	Cáncer de glándulas salivales, carcinoma mamario secretor, leucemia mieloide aguda, fibrosarcoma, nefroma, melanoma, cáncer colorrectal (CCR), cáncer de mama, gliomas pediátricos, cáncer de tiroides (p. ej., cáncer papilar de tiroides), fibrosarcoma infantil, hemangioma de tejidos blandos, tumor del estroma gastrointestinal (GIST) (p. ej., GIST c-kit negativo), carcinoma mamario (p. ej., carcinoma secretor análogo mamario, carcinoma mamario secretor (SBSC)) ^K , fibrosarcoma congénito mielógeno agudo
15			
20			Leucemia, adenocarcinoma polimorfo de bajo grado ^D , tumores miofibroblásticos inflamatorios ALK-negativos (IMT) ^E , fibrosarcoma infantil (IFS) ^{F,M} , carcinoma de células acíticas (AcCC) ^G , nefroma mesoblástico celular ^I , leucemia promielocítica ^I , linfoma de Burkitt ^I , linfoma de células B ^I , mieloma múltiple ^I , meduloblastoma ^I , neuroblastoma ^I , cáncer de ovario ^I , cáncer intestinal ^I , leucemia linfoblástica aguda ^K
25	BTBD1-TrkC ¹¹	Dominio BTB (POZ) que contiene 1	Gliomas pediátricos
30	LYN-TrkC ⁷	Homólogo oncogén relacionado con el virus del sarcoma de Yamaguchi V-Yes-1 (también conocido como nueva proteína tirosina quinasa relacionada con Lck/Yes)	Cáncer de células escamosas de cabeza y cuello
35	RBPMS-TrkC ⁷	Proteína de unión al ARN con empalme múltiple	Cáncer de tiroides (p. ej., cáncer de tiroides papilar)
40	EML4-TrkC ^A	Proteína 4 asociada a microtúbulos del equinodermo	Fibrosarcoma (p. ej., fibrosarcoma pediátrico ^L)
45	HOMER2-TrkC	Proteína homóloga 2 de Homer	Sarcoma de tejidos blandos
50	Grupo de trabajo temporal TrkC	Gen fusionado con TRK	Tumor fibroso solitario de tejidos blandos
55	FAT1-TrkC	Cadherina 1 atípica FAT	Cáncer de células escamosas del cuello uterino ^B
60	MYO5A-TrkC	Miosina VA	Tumor de Spitz ^C
65	MYH9-TrkC	Cadena pesada de miosina 9	Tumor de Spitz ^C

^A Tannenbaum y col., Cold Spring Harb. Mol. Case Stud. 1: a000471, 2015.

^B Publicación de solicitud de patente n.º US-2015/0315657.

^C Yeh y col., J Pathol. 240(3): 282-90, 2016

^D Montali y col., J Oral Pathol Med. doi: 10.1111/j. op. 12491, 2016

^E Alassiri y col., Am J Surg Pathol., Aug;40(8):1051-61, 2016.

^F Nagasubramanian y col., Pediatr Blood Cancer., Aug;63(8): 1468-70, 2016.

^G Chintakuntlawar y col., Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. Mayo de 2016;121(5):542-549.e1.

^H Patente de los EE. UU. n.º US9511050B2.

^I Patente de los EE. UU. n.º US9447135B2.

^J Skalova y col., Modern Pathology 30, S27-S43, 2017.

^K Hycra y col., Vol. 469, Supp. Suplemento 1, págs. S17. Número de resumen: OFP-1997-7; 31^{er} Congreso Internacional de la Academia Internacional de Patología y el 28.^o Congreso de la Sociedad Europea de Patología, Colonia, Alemania. 25-29 de septiembre de 2016.

^L Sims y col., Journal of Immunotherapy of Cancer, Vol. 4, Supp. Suplemento 1; Número de resumen: P280; 31.^a Reunión Anual y Programas Asociados de la Sociedad de Inmunoterapia del Cáncer, SITC 2016. National Harbor, MD; 9-13 de noviembre de 2016.

^K Roberts y col., Blood, Vol. 128, No. 22. Número de resumen: 278, 58.^a Reunión Anual de la Sociedad Americana de Hematología, ASH 2016. San Diego, CA, Estados Unidos. 03 de diciembre de 2016-06 de diciembre de 2016.

Proteína de fusión	Portador de fusión no TrkB	Trk ilustrativos no limitativos y sinónimos de cáncer(es) asociado(s)
^M Pavlick y col., Pediatr Blood Cancer, doi: 10.1002/pbc.26433, 2017.		

En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye al menos una mutación puntual en un gen NTRK1 que da como resultado la producción de una proteína TrkC que tiene una o más sustituciones de aminoácidos en comparación con la proteína TrkC silvestre (véase, por ejemplo, las mutaciones puntuales enumeradas en la Tabla 15).

Tabla 15. Activación de mutaciones puntuales de TrkC ^A

Mutación puntual	Justificación	Isoforma ilustrativa en la que está presente la mutación (si se conoce)
V603M ^C		NP_001007157.1 ^D
F617L ^C		Secuencia de referencia TrkC
G623R ^{B,C}	Impedimento estérico	Secuencia de referencia TrkC
G696C o G696A o G696S ^C		Secuencia de referencia TrkC
La secuencia de referencia TrkC es UniProtKB/Swiss-Prot: Q16288.2, y se puede encontrar en la URL: www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/134035335?report=genbank&log\$=protalign&blast_rank=0&RID=0 (id. de sec. n.º: 3)		
^B Drilon y col., Ann Oncol. Mayo de 2016;27(5):920-6. doi: 10.1093/annonc/mdw042. 15 de febrero de 2016.		
^C Solicitud PCT n.º WO2016196141A1.		
^D www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/NP_001007157		

En algunas realizaciones, se ha identificado que un cáncer asociado a TRK tiene una o más mutaciones de resistencia a inhibidores de TRK (que resultan en una mayor resistencia a un inhibidor de TRK). En las Tablas 17-19 se enumeran ejemplos no limitativos de mutaciones de resistencia a los inhibidores de TRK.

Tabla 17. Mutaciones ilustrativas de resistencia a TrkA

Posición 517 del aminoácido (p. ej., G517R)
Posición 542 del aminoácido (p. ej., A542V)
Posición 568 del aminoácido (p. ej., Q568x)
Posición 573 del aminoácido (p. ej., V573M)
Posición 589 del aminoácido (p. ej., F589L, F589C)
Posición 595 del aminoácido (p. ej., G595S, G595R ¹)
Posición 599 del aminoácido (p. ej., D596V)
Posición 600 del aminoácido (p. ej., F600L)
Posición 602 del aminoácido (p. ej., R602x)
Posición 646 del aminoácido (p. ej., F646V)
Posición 656 del aminoácido (p. ej., C656Y, C656F)
Posición 657 del aminoácido (p. ej., L657V)
Posición 667 del aminoácido (p. ej., G667C ¹ , G667S)
Posición 676 del aminoácido (p. ej., Y676S)

¹ Russo y col., Acquired Resistance to the TRK Inhibitor Entrectinib in Colorectal Cancer, Cancer Discov. Ene;6(1):36-44, 2016.

Tabla 18. Mutaciones ilustrativas de resistencia a TrkB

Posición 545 del aminoácido (p. ej., G545R)
Posición 570 del aminoácido (p. ej., A570V)
Posición 596 del aminoácido (p. ej., Q596E, Q596P)

	Posición 601 del aminoácido (p. ej., V601G)
	Posición 617 del aminoácido (p. ej., F617L, F617C, F617I)
5	Posición 623 del aminoácido (p. ej., G623S, G623R)
	Posición 624 del aminoácido (p. ej., D624V)
	Posición 628 del aminoácido (p. ej., F628x)
10	Posición 630 del aminoácido (p. ej., R630K)
	Posición 672 del aminoácido (p. ej., F672x)
	Posición 682 del aminoácido (p. ej., C682Y, C682F)
	Posición 683 del aminoácido (p. ej., L683V)
15	Posición 693 del aminoácido (p. ej., G693S)
	Posición 702 del aminoácido (p. ej., Y702x)

Tabla 19. Mutaciones ilustrativas de resistencia a TrkC

20	Posición 545 del aminoácido (p. ej., G545R)
	Posición 570 del aminoácido (p. ej., A570V)
25	Posición 596 del aminoácido (p. ej., Q596x)
	Posición 601 del aminoácido (p. ej., V601)
	Posición 617 del aminoácido (p. ej., F617x, F617L)
	Posición del aminoácido 623 (p. ej., G623R ¹)
30	Posición 624 del aminoácido (p. ej., D624V)
	Posición 628 del aminoácido (p. ej., F628x)
	Posición 630 del aminoácido (p. ej., R630x)
35	Posición 675 del aminoácido (p. ej., F675x)
	Posición 685 del aminoácido (p. ej., C685Y, C684F)
	Posición 686 del aminoácido (p. ej., L686V)
40	Posición 696 del aminoácido (p. ej., G696x, G696A)
	Posición 705 del aminoácido (p. ej., Y705x)

¹ Drilon y col., What hides behind the MASC: clinical response and acquired resistance to entrectinib after ETV6-NTRK3 identification in a mammary analogue secretory carcinoma (MASC), Ann Oncol. Mayo de 2016;27(5):920-6. doi: 10.1093/annonc/mdw042. 15 de febrero de 2016.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método para tratar a un paciente diagnosticado con un cáncer asociado a Trk, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se describe en la presente memoria. Por ejemplo, el cáncer asociado a Trk se puede seleccionar del grupo de: cáncer de pulmón de células no pequeñas, carcinoma papilar de tiroides, glioblastoma multiforme, leucemia mieloide aguda, carcinoma colorrectal, carcinoma neuroendocrino de células grandes, cáncer de próstata, neuroblastoma, carcinoma pancreático, melanoma, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, carcinoma gástrico, cáncer de Spitz, carcinoma papilar de tiroides, cáncer de colon, leucemia mieloide aguda, tumor del estroma gastrointestinal (GIST) (p. ej., prueba de GIST silvestre para KIT/PDGFR/BRAF/SDH), sarcoma, glioma pediátrico, colangiocarcinoma intrahepático, astrocitoma pilocítico, glioma de grado inferior, adenocarcinoma de pulmón, cáncer de glándula salival, cáncer de mama secretor, fibrosarcoma, nefroma y cáncer de mama.

En algunas realizaciones, un cáncer asociado a Trk se selecciona del grupo de: ejemplos no limitantes de cánceres asociados a TRK incluyen: Melanoma spitzoideo, tumores de Spitz (p. ej., tumores de Spitz metastásicos), cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), carcinoma de tiroides (p. ej., carcinoma papilar de tiroides (PTC)), leucemia mieloide aguda (AML), sarcoma (p. ej., sarcoma indiferenciado o sarcoma de tejidos blandos en adultos), gliomas pediátricos, cáncer colorrectal (CRC), glioblastoma multiforme (GBM), cáncer neuroendocrino de células grandes (LCNEC), cáncer de tiroides, colangiocarcinoma intrahepático (ICC), astrocitoma pilocítico, glioma de grado inferior, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, adenocarcinoma (p. ej., adenocarcinoma de pulmón), cáncer de glándula salival, carcinoma de mama secretor, cáncer de mama, leucemia mieloide aguda, fibrosarcoma, nefroma,

- melanoma, carcinoma broncogénico, cáncer de células B, cáncer de bronquios, cáncer de la cavidad oral o faringe, cáncer de tejidos hematológicos, cáncer de cuello uterino, cáncer, cáncer gástrico, cáncer de riñón, cáncer de hígado, mieloma múltiple, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de glándulas salivales, cáncer de intestino delgado o apéndice, cáncer testicular, cáncer de vejiga urinaria, cáncer de útero o endometrio, tumores miofibroblásticos inflamatorios, tumor del estroma gastrointestinal, linfoma no Hodgkin, neuroblastoma, cáncer de pulmón de células pequeñas, carcinoma de células escamosas, cáncer esofágico-gástrico, cáncer de piel, neoplasia (p. ej., una neoplasia melanocítica), nevos de Spitz, astrocitoma, meduloblastoma, glioma, tumores neuroendocrinos de células grandes, carcinoma secretor análogo mamario, carcinoma de células acínicas no parótidas, cáncer de hueso y carcinoma de recto.
- En algunas realizaciones, el fibrosarcoma es fibrosarcoma infantil.
- En algunas realizaciones, el cáncer asociado a Trk es un sarcoma de tejidos blandos de fusión LMNAa-NTRK1 o un cáncer de tiroides papilar de fusión EVT6-NTRK3.
- En algunas realizaciones, las formulaciones líquidas como se describen en la presente memoria se usan en el tratamiento de cánceres asociados a Trk en pacientes pediátricos. Por ejemplo, una formulación líquida como la proporcionada en la presente memoria se puede utilizar para tratar sarcoma infantil, neuroblastoma, nefroma mesoblástico congénito, glioma cerebral de bajo grado y glioma pontino.
- En algunas realizaciones, las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria se utilizan para tratar un cáncer asociado a Trk en combinación con uno o más agentes terapéuticos o terapias adicionales que funcionan mediante el mismo mecanismo de acción o uno diferente.
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo de: agentes terapéuticos dirigidos al receptor de tirosina quinasa, incluidos cabozantinib, crizotinib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, nilotinib, pazopanib, pertuzumab, regorafenib, sunitinib y trastuzumab.
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre inhibidores de la vía de transducción de señales, incluidos, p. ej., inhibidores de la vía Ras-Raf-MEK-ERK (p. ej., sorafenib, trametinib o vemurafenib), inhibidores de la vía PI3K-Akt-mTOR-S6K (p. ej., everolimus, rapamicina, perifosina o temsirolimus) y moduladores de la vía de apoptosis (p. ej., obataclax).
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo de: quimioterápicos citotóxicos, que incluyen, p. ej., trióxido de arsénico, bleomicina, cabazitaxel, capecitabina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazina, daunorrubicina, docetaxel, doxorubicina, etopósido, fluorouracilo, gemcitabina, irinotecán, lomustina, metotrexato, mitomicina C, oxaliplatino, paclitaxel, pemetrexed, temozolomida y vincristina.
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo de terapias dirigidas a la angiogénesis, que incluyen, p. ej., afiblertcept y bevacizumab.
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan del grupo de agentes dirigidos al sistema inmunitario, p. ej., incluidos aldesleucina, ipilimumab, lambrolizumab, nivolumab y sipuleucel-T.
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre agentes activos contra la vía Trk descendente, incluidos, p. ej., productos biofarmacéuticos dirigidos al NGF, tales como anticuerpos contra el NGF e inhibidores de panTrk.
- En algunas realizaciones, el agente terapéutico o terapia adicional es radioterapia, incluyendo, p. ej., terapia con yoduro radiactivo, radiación de haz externo y terapia con radio 223.
- En algunas realizaciones, el o los agentes terapéuticos adicionales incluyen cualquiera de las terapias o agentes terapéuticos enumerados anteriormente que son estándares de atención en cánceres en los que el cáncer tiene una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de los mismos.
- Los métodos para detectar la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de los mismos, incluyen, p. ej., la detección de translocaciones del gen NTRK, p. ej., usando hibridación in situ fluorescente (FISH) (p. ej., como se describe en las solicitudes internacionales núms. PCT/US2013/061211 PCT/US2013/057495).
- En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en un método de tratamiento del cáncer (p. ej., un cáncer asociado a Trk) en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria en combinación con al menos una terapia o agente terapéutico adicional. En algunas realizaciones, la al menos una terapia adicional o agente terapéutico se selecciona de radioterapia (p. ej., terapia con yoduro radiactivo,

radiación de haz externo o terapia con radio 223), quimioterápicos citotóxicos (p. ej., trióxido de arsénico, bleomicina, cabazitaxel, capecitabina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, catarabina, dacarbazine, daunorrubicina, docetaxel, doxorubicina, etopósido, fluorouracilo, gemcitabina, irinotecán, lomustina, metotrexato, mitomicina C, oxaliplatino, paclitaxel, pemetrexed, temozolomida o vincristina), terapéuticos dirigidos a la tirosina quinasa (p. ej., afatinib, cabozantinib, cetuximab, crizotinib, dabrafenib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, nilotinib, pazopanib, panitumumab, pertuzumab, regorafenib, sunitinib o trastuzumab), moduladores de la apoptosis e inhibidores de la transducción de señales (p. ej., everolimus, perifosina, rapamicina, sorafenib, temsirolimus, trametinib o vemurafenib), terapias dirigidas al sistema inmunitario (p. ej., aldesleucina, interferón alfa-2b, ipilimumab, lambrolizumab, nivolumab, prednisona o sipuleucel-T) y terapias dirigidas a la angiogénesis (p. ej., afibbercept o bevacizumab), en donde la cantidad de la formulación líquida como se proporciona en la presente memoria es, en combinación con la terapia adicional o el agente terapéutico, eficaz para tratar dicho cáncer.

En algunas realizaciones, el agente terapéutico adicional es un inhibidor de Trk diferente. En algunas realizaciones, un agente terapéutico dirigido al receptor de tirosina quinasa es un inhibidor de múltiples quinasas (p. ej., un inhibidor terapéutico dirigido a TRK) que exhibe actividad de inhibición de TRK. En algunas realizaciones, el inhibidor terapéutico dirigido a TRK es selectivo para una quinasa TRK. Los inhibidores ilustrativos de la quinasa TRK pueden exhibir actividad de inhibición (IC_{50}) contra una quinasa TRK de menos de aproximadamente 1000 nM, menos de aproximadamente 500 nM, menos de aproximadamente 200 nM, menos de aproximadamente 100 nM, menos de aproximadamente 50 nM, menos de aproximadamente 25 nM, menos de aproximadamente 10 nM o menos de aproximadamente 1 nM según se mide en un ensayo como se describe en la presente memoria. En algunas realizaciones, un inhibidor de la quinasa TRK puede exhibir actividad de inhibición (IC_{50}) contra una quinasa TRK de menos de aproximadamente 25 nM, menos de aproximadamente 10 nM, menos de aproximadamente 5 nM o menos de aproximadamente 1 nM, medido en un ensayo. Por ejemplo, un ensayo de inhibidor de TRK puede ser cualquiera de los proporcionados en la Patente n.º US-8.933.084 (p. ej., ejemplo A o B).

Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos dirigidos a la tirosina quinasa del receptor (p. ej., Trk) incluyen afatinib, cabozantinib, cetuximab, crizotinib, dabrafenib, entrectinib, erlotinib, gefitinib, imatinib, lapatinib, lestaurtinib, nilotinib, pazopanib, panitumumab, pertuzumab, sunitinib, trastuzumab, I-((3S,4R)-4-(3-fluorofenil)-1-(2-metoxietil)pirrolidin-3-il)-3-(4-metil-3-(2-metilpirimidin-5-il)-1-fenil-1H-pirazol-5-il)urea, AG-879, AR-772, AR-786, AR-256, AR-618, AZ-23, AZ623, DS-6051, Gö 6976, GNF-5837, GTx-186, GW 441756, LOXO-101, MGCD516, PLX7486, RXDX101, TPX-0005, y TSR-011. Los agentes terapéuticos dirigidos a Trk adicionales incluyen aquellos descritos en la Patente n.º US-8.450.322; US-8.513.263; US-8.933.084; US-8.791.123; US-8.946.226; US-8.450.322; US-8.299.057; y US-8.912.194; la Publicación n.º US-2016/0137654; US-2015/0166564; US-2015/0051222; US-2015/0283132; y US-2015/0306086; Publicación Internacional n.º WO 2010/033941; WO 2010/048314; WO 2016/077841; WO 2011/146336; WO 2011/006074; WO 2010/033941; WO 2012/158413; WO 2014078454; WO 2014078417; WO 2014078408; WO 2014078378; WO 2014078372; WO 2014078331; WO 2014078328; WO 2014078325; WO 2014078323; WO 2014078322; WO 2015175788; WO 2009/013126; WO 2013/174876; WO 2015/124697; WO 2010/058006; WO 2015/017533; WO 2015/112806; WO 2013/183578; y WO 2013/074518.

Se pueden encontrar más ejemplos de inhibidores de Trk en la Patente n.º US-8.637.516, Publicación Internacional n.º WO 2012/034091, Patente n.º US-9.102.671, Publicación Internacional n.º WO 2012/116217, Publicación n.º US-2010/0297115, Publicación Internacional n.º WO 2009/053442, Patente n.º US-8.642.035, Publicación Internacional n.º WO 2009092049, Patente de los EE.UU. n.º 8.691.221, Publicación Internacional n.º WO2006131952. Los inhibidores de Trk ilustrativos incluyen GNF-4256, descrito en Cancer Quemother. Pharmacol. 75(1):131-141, 2015; y GNF-5837 (N-[3-[[2,3-dihidro-2-oxo-3-(1H-pirrol-2-ilmetileno)-1H-indol-6-il]amino]-4-metilfenil]-N'-[2-fluoro-5-(trifluorometil)fenil]-urea), descrito en ACSMed. Chem. Lett. 3(2):140-145, 2012.

Ejemplos adicionales de inhibidores de Trk incluyen aquellos descritos en la Publicación n.º US-2010/0152219, Patente n.º US-8.114.989, y Publicación Internacional n.º WO 2006/123113. Los inhibidores de Trk ilustrativos incluyen AZ623, descrito en Cancer 117(6):1321-1391, 2011; AZD6918, descrito en Cancer Biol. Ther. 16(3):477-483, 2015; AZ64, descrito en Cancer Chemother. Pharmacol. 70:477-486, 2012; AZ-23 ((S)-5-Cloro-N2-(1-(5-fluoropiridin-2-il)etil)-N4-(5-isopropoxi-1H-pirazol-3-il)pirimidina-2,4-diamina), descrito en Mol. Cancer Ther. 8:1818-1827, 2009; y AZD7451.

Un inhibidor de Trk puede incluir aquellos descritos en las Patentes n.º US-7.615.383; US-7.384.632; US-6.153.189; US-6.027.927; US-6.025.166; US-5.910.574; US-5.877.016; y US-5.844.092.

Otros ejemplos de inhibidores de Trk incluyen CEP-751, descrito en Inr. J. Cancer 72:672-679, 1997; CT327, descrito en Acta Derm. Venereol. 95:542-548, 2015; compuestos descritos en la Publicación Internacional n.º WO 2012/034095; compuestos descritos en la Patente n.º US-8.673.347 y Publicación Internacional n.º WO 2007/022999; compuestos descritos en la Patente n.º US-8.338.417; compuestos descritos en la Publicación Internacional n.º WO 2016/027754; compuestos descritos en la Patente n.º US-9.242.977; compuestos descritos en la Publicación n.º US-2016/0000783; sunitinib (N-(2-diethylaminoetil)-5-[Z)-(5-fluoro-2-oxo-1H-indol-3-ilideno)metil]-2,4-dimetil-1H-pirrol-3-carboxamida), como se describe en PLoS One 9:e95628, 2014; compuestos descritos en la Publicación Internacional n.º WO 2011/133637; compuestos descritos en la Patente n.º US-8.637.256; compuestos descritos en Expert. Opin. Ther. Pat. 24(7):731-744, 2014; compuestos descritos en Expert Opin. Ther. Pat. 19(3):305-319, 2009;

Imidazopiridazinas sustituidas con (R)-2-fenilpirrolidina, p. ej., GNF-8625, (R)-1-(6-(2-(3-fluorofenil)pirrolidin-1-il)imidazo[1,2-b]piridazin-3-il)-[2,4'-bipiridin]-2'-il)piperidin-4-ol como se describe en ACS Med. Chem. Lett. 6(5):562-567, 2015; GTx-186 y otros, como se describe en PLoS One 8(12):e83380, 2013; K252a ((9S-(9 α ,10 β ,12 α))-2,3,9,10,11,12-hexahidro-10-hidroxi-10-(metoxicarbonil)-9-metil-9,12-epoxi-1H-diindolo[1,2,3-fg:3',2',1'-kl]pirrolo[3,4-i][1,6]benzodiazocin-1-ona), como se describe en Mol. Cell Biochem. 339(1-2):201-213, 2010; 4-aminopirazolilpirimidinas, p. ej., AZ-23 (((S)-5-cloro-N2-(1-(5-fluoropiridin-2-il)etil)-N4-(5-isopropoxi-1H-pirazol-3-il)pirimidina-2,4-diamina)), como se describe en J. Med. Chem. 51(15):4672-4684, 2008; PHA-739358 (danusertib), como se describe en Mol. Cancer Ther. 6:3158, 2007; Gö 6976 (5,6,7,13-tetrahidro-13-metil-5-oxo-12H-indolo[2,3-a]pirrolo[3,4-c]carbazol-12-propanonitrilo), como se describe en J. Neurochem. 72:919-924, 1999; GW441756 ((3Z)-3-[1-metilindol-3-il)metylido]-1H-pirrolo[3,2-b]piridin-2-ona), como se describe en IJAE 115:117, 2010; milciclib (PHA-848125AC), descrito en J. Carcinog. 12:22, 2013; AG-879 ((2E)-3-[3,5-Bis(1,1-dimetiletil)-4-hidroxifenil]-2-ciano-2-propenoatoamida); altiratinib (N-(4-((2-(ciclopropanocarboxamido)piridin-4-il)oxi)-2,5-difluorofenil)-N-(4-fluorofenil)ciclopropano-1,1-dicarboxamida); cabozantinib (N-(4-((6,7-Dimetoxiquinolin-4-il)oxi)fenil)-N'-(4-fluorofenil)ciclopropano-1,1-dicarboxamida); lestaurtinib ((5S,6S,8R)-6-Hidroxi-6-(hidroximetil)-5-metil-7,8,14,15-tetrahidro-5H-16-oxa-4b,8a,14-traza-5,8-metanodibenzo[b,h]cicloocta[jkl]ciclopenta[e]-as-indacen-13(6H)-ona); dovatinib (4-amino-5-fluoro-3-[6-(4-metilpiperazin-1-il)-1H-bencimidazol-2-il]quinolin-2(1H)-ona mono 2-hidroxipropanoato hidrato); sitravatinib (N-(3-fluoro-4-((2-(5-((2-metoxietil)amino)metil)piridin-2-il)tieno[3,2-b]piridin-7-il)oxi)fenil)-N-(4-fluorofenil)ciclopropano-1,1-dicarboxamida); ONO-5390556; regorafenib (hidrato de 4-[4-([4-cloro-3-(trifluorometil)fenil]carbamoi]amino)-3-fluorofenoxy]-N-metilpiridina-2-carboxamida); y VSR-902A.

La capacidad de un inhibidor de Trk para actuar como inhibidor de TrkA, TrkB y/o Trk C se puede probar usando los ensayos descritos en los Ejemplos A y B en la Patente n.^o US-8.513.263.

En algunas realizaciones, los inhibidores de la vía de transducción de señales incluyen inhibidores de la vía Ras-Raf-MEK-ERK (p. ej., binimetinib, selumetinib, encorafenib, sorafenib, trametenib y vemurafenib), inhibidores de la vía PI3K-Akt-mTOR-S6K (p. ej. everolimus, rapamicina, perifosina, temsirolimus) y otros inhibidores de quinasas, tales como baricitinib, brigatinib, capmatinib, danusertib, ibrutinib, milciclib, quercetin, regorafenib, ruxolitinib, semaxanib, AP32788, BLU285, BLU554, INCB39110, INCB40093, INCB50465, INCB52793, INCB54828, MGCD265, NMS-088, NMS-1286937, PF 477736 ((R)-amino-N-[5,6-dihidro-2-(1-metil-1H-pirazol-4-il)-6-oxo-1Hpirrolo[4,3,2-ef][2,3]benzodiazepin-8-il]-ciclohexanoacetamida), PLX3397, PLX7486, PLX8394, PLX9486, PRN1008, PRN1371, RXDX103, RXDX106, RXDX108 y TG101209 (N-terc-butil-3-(5-metil-2-(4-(4-metilpiperazin-1-il)fenilamino)pirimidin-4-ilamino)bencenosulfonamida).

Los ejemplos no limitantes de inhibidores de puntos de control incluyen ipilimumab, tremelimumab, nivolumab, pidilizumab, MPDL3208A, MEDI4736, MSB0010718C, BMS-936559, BMS-956559, BMS-935559 (MDX-1105), AMP-224 y pembrolizumab.

En algunas realizaciones, los quimioterapéuticos citotóxicos se seleccionan de trióxido de arsénico, bleomicina, cabazitaxel, capecitabina, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, citarabina, dacarbazine, daunorrubicina, docetaxel, doxorubicina, etopósido, fluorouracilo, gemcitabina, irinotecán, lomustina, metotrexato, mitomicina C, oxaliplatin, paclitaxel, pemetrexed, temozolomida y vincristina.

Los ejemplos no limitativos de terapias dirigidas a la angiogénesis incluyen afibbercept y bevacizumab.

En algunas realizaciones, los agentes immunodirigidos se seleccionan entre aldesleucina, interferón alfa-2b, ipilimumab, lambrolizumab, nivolumab, prednisona y sipuleucel-T.

Los ejemplos no limitativos de radioterapia incluyen la terapia con yoduro radiactivo, la radiación de haz externo y la terapia con radio 223.

Los inhibidores de quinasas adicionales incluyen aquellos descritos, por ejemplo, en la Patente n.^o US-7.514.446; US-7.863.289; US-8.026.247; US-8.501.756; US-8.552.002; US-8.815.901; US-8.912.204; US-9.260.437; US-9.273.051; Publicación de los EE. UU. n.^o US 2015/0018336; Publicación Internacional n.^o WO 2007/002325; WO 2007/002433; WO 2008/080001; WO 2008/079906; WO 2008/079903; WO 2008/079909; WO 2008/080015; WO 2009/007748; WO 2009/012283; WO 2009/143018; WO 2009/143024; WO 2009/014637; 2009/152083; WO 2010/111527; WO 2012/109075; WO 2014/194127; WO 2015/112806; WO 2007/110344; WO 2009/071480; WO 2009/118411; WO 2010/031816; WO 2010/145998; WO 2011/092120; WO 2012/101032; WO 2012/139930; WO 2012/143248; WO 2012/152763; WO 2013/014039; WO 2013/102059; WO 2013/050448; WO 2013/050446; WO 2014/019908; WO 2014/072220; WO 2014/184069; y WO 2016/075224.

Otros ejemplos de inhibidores de la quinasa incluyen los descritos, por ejemplo, en el documento WO 2016/081450; WO 2016/022569; WO 2016/011141; WO 2016/011144; WO 2016/011147; WO 2015/191667; WO 2012/101029; WO 2012/113774; WO 2015/191666; WO 2015/161277; WO 2015/161274; WO 2015/108992; WO 2015/061572; WO 2015/058129; WO 2015/057873; WO 2015/017528; WO/2015/017533; WO 2014/160521; y WO 2014/011900.

Otros agentes terapéuticos adicionales incluyen inhibidores de RET como los descritos, por ejemplo, en las Patentes n.º US-8.299.057; US-8.399.442; US-8.937.071; US-9.006.256; y US-9.035.063; Publicaciones n.º US-2014/0121239; US-2011/0053934; US-2011/0301157; US-2010/0324065; US-2009/0227556; US-2009/0130229; US-2009/0099167; US-2005/0209195; Publicaciones internacionales núms. WO 2014/184069; WO 2014/072220; WO 2012/053606; WO 2009/017838; WO 2008/031551; WO 2007/136103; WO 2007/087245; WO 2007/057399; WO 2005/051366; y WO 2005/044835; y J. Med.Chem. 2012, 55 (10), 4872-4876.

Estos agentes terapéuticos adicionales pueden administrarse con una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria como parte de la misma forma de dosificación o de formas de dosificación separadas, a través de la misma o diferentes vías de administración y en los mismos o diferentes esquemas de administración según la práctica farmacéutica estándar conocida por un experto en la técnica.

En la presente memoria también se proporciona (i) una combinación farmacéutica para tratar el cáncer (p. ej., un cáncer asociado a Trk) en un paciente que lo necesita, que comprende (a) una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria, (b) un agente terapéutico adicional y (c) opcionalmente al menos un aditivo adicional para uso simultáneo, separado o secuencial para el tratamiento de una enfermedad tumoral, en donde las cantidades de la formulación líquida como se proporciona en la presente memoria y del agente terapéutico adicional son juntas eficaces para tratar dicho cáncer; (ii) una composición farmacéutica que comprende tal combinación; (iii) el uso de tal combinación para la preparación de un medicamento para el tratamiento del cáncer (p. ej., un cáncer asociado a Trk); y (iv) un paquete o producto comercial que comprenda una combinación tal como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial; y a un método de tratamiento del cáncer (p. ej., cáncer asociado a Trk) en un paciente que lo necesita.

También se proporciona una formulación líquida como se describe en la presente memoria para su uso en métodos de tratamiento de un sujeto identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk (p. ej., un sujeto que ha sido identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk mediante el uso de un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA, para identificar la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto) (p. ej., cualquiera de los cánceres asociados a Trk descritos en la presente memoria o conocidos en la técnica) que incluyen administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se describe en la presente memoria. También se proporciona una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria para su uso en el tratamiento de un cáncer asociado a Trk en un sujeto identificado o diagnosticado como que tiene un cáncer asociado a Trk (p. ej., un sujeto que ha sido identificado o diagnosticado como que tiene un cáncer asociado a Trk mediante el uso de un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA, para identificar la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto) (p. ej., cualquiera de los cánceres asociados a Trk descritos en la presente memoria o conocidos en la técnica).

También se proporciona una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria para su uso en el tratamiento de un cáncer asociado a Trk en un sujeto identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk a través de una etapa de realización de un ensayo (p. ej., un ensayo in vitro) (p. ej., un ensayo que utiliza secuenciación de próxima generación, inmunohistoquímica, FISH de separación o análisis FISH de doble fusión) (p. ej., usando un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA) en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, donde la presencia de desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, identifica que el sujeto tiene un cáncer asociado a Trk. Algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria incluyen además el registro en el historial clínico del sujeto (p. ej., un medio legible por ordenador) de que al sujeto que se le determinó que tiene una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de los mismos, a través de la realización del ensayo, se le debe administrar una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria.

En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, se ha identificado o diagnosticado que el sujeto tiene un cáncer con desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., según se determina usando un ensayo o kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA). En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, el sujeto tiene un tumor que es positivo para la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., según se determina usando un ensayo o kit aprobado por la agencia reguladora). En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, el sujeto puede ser un sujeto con un tumor o tumores que son positivos para la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de los mismos (p. ej., identificados como positivos usando un ensayo o kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA). En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, el sujeto puede ser un sujeto cuyos tumores tienen desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o un nivel de la misma (p. ej., donde el tumor se identifica como tal usando un kit o ensayo aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA). En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, se sospecha que el sujeto tiene un cáncer asociado a Trk. En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, el

sujeto tiene un historial clínico que indica que el sujeto tiene un tumor que tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (y opcionalmente el historial clínico indica que el sujeto debe tratarse con cualquiera de las composiciones proporcionadas en la presente memoria).

- 5 También se proporcionan métodos in vitro para seleccionar un tratamiento para un sujeto que incluye seleccionar un tratamiento que incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria para un sujeto identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk (p. ej., un sujeto que ha sido identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk mediante el uso de un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA, para identificar la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, en un sujeto o una muestra de biopsia del sujeto) (p. ej., cualquiera de los cánceres asociados a Trk descritos en la presente memoria o conocidos en la técnica). Algunas realizaciones pueden incluir además la administración del tratamiento seleccionado al sujeto identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk. Algunas realizaciones pueden incluir además una etapa de realizar un ensayo (p. ej., un ensayo in vitro) (p. ej., un ensayo que utiliza secuenciación de próxima generación, inmunohistoquímica, FISH de separación o análisis FISH de doble fusión) (p. ej., usando un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA) en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, e identificar o diagnosticar a un sujeto que se ha determinado que tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, como que tiene un cáncer asociado a Trk.
- 10 20 También se proporcionan métodos para seleccionar un tratamiento para un sujeto que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria, en donde los métodos incluyen una etapa de realizar un ensayo in vitro (p. ej., un ensayo que utiliza secuenciación de próxima generación, inmunohistoquímica, FISH de separación o análisis FISH de doble fusión) (p. ej., usando un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA) en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, e identificar o diagnosticar a un sujeto que se ha determinado que tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, como que tiene un cáncer asociado a Trk, y seleccionar un tratamiento terapéutico que incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria para el sujeto identificado o diagnosticado como que tiene un cáncer asociado a Trk. Algunas realizaciones incluyen además administrar el tratamiento seleccionado al sujeto identificado o diagnosticado con un cáncer asociado a Trk.
- 15 30 35 40 45 También se proporcionan métodos para seleccionar un sujeto para el tratamiento que incluyen la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria que incluyen seleccionar, identificar o diagnosticar un sujeto que tiene un cáncer asociado a Trk, y seleccionar el sujeto para el tratamiento que incluye la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria. En algunas realizaciones, la identificación o el diagnóstico de un sujeto con un cáncer asociado a Trk puede incluir una etapa de realizar un ensayo (p. ej., un ensayo in vitro) (p. ej., un ensayo que utiliza secuenciación de próxima generación, inmunohistoquímica, FISH de separación o FISH de doble fusión) (p. ej., usando un kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA) en una muestra obtenida del sujeto para determinar si el sujeto tiene una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, e identificar o diagnosticar a un sujeto que se ha determinado que tiene una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, como que tiene un cáncer asociado a Trk. En algunas realizaciones, la selección de un tratamiento se puede utilizar como parte de un estudio clínico que incluye la administración de diversos tratamientos para un cáncer asociado a Trk.
- 50 55 60 65 En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos o usos descritos en la presente memoria, un ensayo usado para determinar si el sujeto tiene una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk o expresión o actividad, o nivel de la misma, usando una muestra (p. ej., una muestra biológica o una muestra de biopsia (p. ej., una muestra de biopsia incluida en parafina) de un sujeto (p. ej., un sujeto sospechoso de tener un cáncer asociado a Trk, un sujeto que tiene uno o más síntomas de un cáncer asociado a Trk y/o un sujeto que tiene un mayor riesgo de desarrollar un cáncer asociado a Trk) puede incluir, por ejemplo, secuenciación de próxima generación, inmunohistoquímica, microscopía de fluorescencia, análisis FISH de separación, prueba Southern blot, prueba Western blot, análisis FACS, prueba Northern blot y amplificación basada en PCR (p. ej., RT-PCR). Como es bien sabido en la técnica, los ensayos se realizan típicamente, p. ej., con al menos una sonda de ácido nucleico marcada o al menos un anticuerpo marcado o un fragmento de unión a antígeno del mismo. Los ensayos pueden utilizar otros métodos de detección conocidos en la técnica para detectar la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o los niveles de los mismos (véanse, p. ej., las referencias citadas en la presente memoria).
- Una formulación líquida como la proporcionada en la presente memoria se puede utilizar en combinación con uno o más medicamentos adicionales que actúan mediante el mismo mecanismo de acción o uno diferente. Dicho tratamiento conjunto puede lograrse mediante la administración simultánea, secuencial o separada de los componentes individuales del tratamiento. Los ejemplos incluyen compuestos antiinflamatorios, esteroides (p. ej., dexametasona, cortisona y fluticasona), analgésicos tales como los AINE (p. ej., aspirina, ibuprofeno, indometacina y ketoprofeno), opioides (tal como la morfina) y agentes quimioterapéuticos.

En el campo de la oncología médica es una práctica habitual utilizar una combinación de diferentes formas de tratamiento para tratar a cada paciente con cáncer. En oncología médica, los otros componentes de tal tratamiento conjunto además de las composiciones proporcionadas en la presente memoria pueden ser, por ejemplo, cirugía, radioterapia, quimioterapia, inhibidores de la transducción de señales y/o anticuerpos monoclonales. Por lo tanto, los compuestos de Fórmula (I) también pueden ser útiles como adyuvantes para el tratamiento del cáncer, es decir, se pueden usar en combinación con una o más terapias o agentes terapéuticos adicionales, por ejemplo un agente quimioterapéutico que actúa mediante el mismo mecanismo de acción o mediante uno diferente.

- 5 10 En consecuencia, una formulación líquida como la proporcionada en la presente memoria se puede administrar en combinación con uno o más agentes seleccionados entre inhibidores mitóticos, agentes alquilantes, antimetabolitos, ADN o ARN antisentido, antibióticos intercalantes, inhibidores de factores de crecimiento, inhibidores de la transducción de señales, inhibidores del ciclo celular, inhibidores de enzimas, moduladores del receptor de retinoides, inhibidores del proteasoma, inhibidores de la topoisomerasa, modificadores de la respuesta biológica, antihormonas, inhibidores de la angiogénesis, agentes citostáticos, antiandrógenos, anticuerpos dirigidos, inhibidores de la HMG-CoA reductasa e inhibidores de la prenil-proteína transferasa.
- 15 20 En algunas realizaciones de cualquiera de los métodos descritos en la presente memoria, las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria se administran en combinación con una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un agente terapéutico adicional seleccionado entre una o más terapias adicionales o agentes terapéuticos (p. ej., quimioterapéuticos).

- 25 Los ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos adicionales incluyen: otros agentes terapéuticos dirigidos al receptor de tirosina quinasa (p. ej., inhibidores de la quinasa TRK), terapias dirigidas a la quinasa, inhibidores de la vía de transducción de señales, inhibidores de puntos de control, moduladores de la vía de apoptosis (p. ej., obataclax); quimioterapéuticos citotóxicos, terapias dirigidas a la angiogénesis, agentes inmunodirigidos y radioterapia.

- 30 35 En los métodos de tratamiento descritos en la presente memoria, las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria pueden ser especialmente útiles para tratar a un sujeto con disfagia (p. ej., dificultad para tragar). Por ejemplo, las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria pueden usarse en un método para tratar el cáncer en un sujeto con disfagia orofaríngea.

- 40 45 Cuando el compuesto descrito en la presente memoria tiene al menos un centro quiral, los compuestos pueden existir en consecuencia como enantiómeros. Cuando los compuestos poseen dos centros quirales, los compuestos pueden existir además como diaestereómeros. Es decir, el compuesto de Fórmula I, además de tener la configuración deseada designada por la nomenclatura “hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida” (en adelante denominado el isómero (S,R)), también puede estar presente en cantidades menores como el isómero hidrogenosulfato de (R)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (en adelante denominado el isómero (R,R)) y/o también puede estar presente en cantidades menores como el hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((S)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (en adelante denominado el isómero (S,S)), y/o puede estar presente en cantidades menores como el isómero “hidrogenosulfato de (R)-N-(5-((S)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida” (en adelante denominado el isómero (R,S)). Se debe entender que todos tales isómeros y mezclas de los mismos están comprendidos dentro del alcance de la presente invención. Preferiblemente, cuando el compuesto está presente como el isómero (S,R), el isómero (S,R) está presente en un exceso de más de o igual a aproximadamente 80 %, más preferiblemente en un exceso de más de o igual a aproximadamente 90 %, más preferiblemente aún en un exceso de más de o igual a aproximadamente 95 %, más preferiblemente aún en un exceso de más de o igual a aproximadamente 98 %, más preferiblemente en un exceso de más de o igual a aproximadamente 99 %.

- 50 55 60 Se apreciará que la forma cristalina (I-HS) contiene dos centros de asimetría y, por lo tanto, puede prepararse y aislarse en una mezcla de isómeros, tal como una mezcla racémica o diaestereomérica, o en una forma enantioméricamente pura. Cuando la estereoquímica se especifica mediante una cuña sólida o una línea discontinua que representa una configuración particular, entonces ese estereoisómero queda así especificado y definido.

- 65 Como se utiliza en la presente memoria, el término “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales que conservan la actividad biológica deseada del compuesto en cuestión y exhiben efectos toxicológicos no deseados mínimos. Estas sales farmacéuticamente aceptables pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del compuesto, o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de ácido libre o base libre con una base o ácido adecuado, respectivamente. En algunas realizaciones, las sales farmacéuticamente aceptables pueden preferirse a la base libre o ácido libre respectivo porque tales sales imparten mayor estabilidad o solubilidad a la molécula, lo que facilita de este modo la formulación en una forma de dosificación. Los compuestos básicos generalmente son capaces de formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables mediante tratamiento con un ácido adecuado. Los ácidos adecuados incluyen ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables y ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables representativas incluyen clorhidrato, bromhidrato, nitrato, metilnitrato, sulfato, bisulfato, sulfamato, fosfato, acetato,

hidroxiacetato, fenilacetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, maleato, hidroximaleato, acrilato, fumarato, malato, tartrato, citrato, salicilato, p-aminosalicilato, glicolato, lactato, heptanoato, ftalato, oxalato, succinato, benzoato, o-acetoxibenzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, mandelato, tanato, formato, estearato, ascorbato, palmitato, oleato, piruvato, pamoato, malonato, laurato, glutarato, glutamato, estolato, metanosulfonato (mesilato), etanosulfonato (esilato), 2-hidroxietanosulfonato, bencenosulfonato (besilato), p-aminobencenosulfonato, p-toluenosulfonato (tosilato), naftaleno-2-sulfonato, etanodisulfonato y 2,5-dihidroxibenzoato.

5 Como se utiliza en la presente memoria, salvo que se indique lo contrario, el término “forma aislada” significará que el compuesto está presente en una forma que está separada de cualquier mezcla sólida con otro(s) compuesto(s), sistema solvente o entorno biológico. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) está presente como una forma aislada.

10 Como se utiliza en la presente memoria, salvo que se indique lo contrario, el término “forma sustancialmente pura” significará que el porcentaje en moles de impurezas en el compuesto aislado o la forma cristalina es menor que aproximadamente 5 % en moles, preferiblemente menor que aproximadamente 2 % en moles, más preferiblemente menor que aproximadamente 0,5 % en moles, lo más preferiblemente menor que aproximadamente 0,1 % en moles. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) está presente como una forma sustancialmente pura.

15 Como se utiliza en la presente memoria, salvo que se indique lo contrario, el término “sustancialmente libre de otras formas amorfas, polimorfas o cristalinas” cuando se utiliza para describir la forma cristalina (I-HS) significará que el porcentaje en moles de otras formas amorfas, polimorfas o cristalinas de la base aislada de la forma cristalina (I-HS) es menor que aproximadamente 5 % en moles, preferiblemente menor que aproximadamente 2 % en moles, más preferiblemente menor que aproximadamente 0,5 % en moles, lo más preferiblemente menor que aproximadamente 0,1 % en moles. En algunas realizaciones, la forma cristalina (I-HS) está presente como una forma sustancialmente libre de otras formas amorfas, polimorfas o cristalinas.

20 Los términos “polimorfo” y “forma polimórfica” se refieren a diferentes formas cristalinas de un solo compuesto. Es decir, los polimorfos son sólidos distintos que comparten la misma fórmula molecular, aunque cada polimorfo puede tener propiedades físicas de estado sólido distintas. Por lo tanto, un solo compuesto puede dar lugar a una variedad de formas polimórficas donde cada forma tiene propiedades físicas de estado sólido diferentes y distintas, tales como diferentes perfiles de solubilidad, tasas de disolución, temperaturas de punto de fusión, fluidez y/o diferentes picos de difracción de rayos X. Las diferencias en las propiedades físicas pueden afectar parámetros farmacéuticos tales como la estabilidad de almacenamiento, la compresibilidad y la densidad (que pueden ser importantes en la formulación y fabricación del producto) y la tasa de disolución (que puede ser un factor importante en la biodisponibilidad). Las técnicas para caracterizar formas polimórficas incluyen, pero no se limitan a, difracción de rayos X en polvo (XRPD), calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis gravimétrico térmico (TGA), difracción de rayos X de cristal único (XRD), espectroscopía vibracional, p. ej., espectroscopía infrarroja (IR) y Raman, espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) de estado sólido y disolución, microscopía óptica, microscopía óptica de platina caliente, 25 microscopía electrónica de barrido (SEM), cristalográfica electrónica y análisis cuantitativo, análisis de tamaño de partícula (PSA), análisis de área superficial, mediciones de solubilidad, mediciones de disolución, análisis elemental y análisis de Karl Fischer.

30 El término “amorfo” significa un sólido en estado sólido que es un estado no cristalino. Los sólidos amorfos son disposiciones desordenadas de moléculas y, por lo tanto, no poseen una red cristalina o celda unitaria distinguible y, en consecuencia, no tienen un ordenamiento de largo alcance definible. La forma de estado sólido de un sólido se puede determinar mediante microscopía de luz polarizada, difracción de rayos X en polvo (“XRPD”), calorimetría diferencial de barrido (“DSC”) u otras técnicas estándar conocidas por aquellos expertos en la técnica.

35 40 Como se utiliza en la presente memoria, salvo que se indique lo contrario, los términos “tratar”, “tratamiento” y similares, incluirán el manejo y el cuidado de un sujeto o paciente (preferiblemente mamífero, más preferiblemente humano) con el propósito de combatir una enfermedad, condición o trastorno e incluye la administración de un compuesto descrito para aliviar los síntomas o complicaciones, o reducir la tasa de progresión de la enfermedad, condición o trastorno.

45 45 Como se utiliza en la presente memoria, salvo que se indique lo contrario, el término “prevención” incluirá (a) la reducción de la frecuencia de uno o más síntomas; (b) reducción de la gravedad de uno o más síntomas; (c) el retraso o la evitación de la aparición de síntomas adicionales; y/o (d) retraso o evitación del desarrollo del trastorno o condición.

50 55 Como se utiliza en la presente memoria, el término “cáncer asociado a Trk” se definirá para incluir cánceres asociados con o que tienen desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., cualquiera de los tipos de desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, descritos en la presente memoria). Se describen en la presente memoria ejemplos no limitantes de un cáncer asociado a Trk.

60 65

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término “dolor” se definirá para incluir el dolor agudo, crónico, inflamatorio y neuropático, incluida la neuropatía diabética. Además, el dolor puede tener una mediación central, una mediación periférica, estar causado por una lesión de tejido estructural, por una lesión de tejido blando o por una enfermedad progresiva. Cualquier lesión tisular estructural, lesión de tejidos blandos, mediada centralmente o dolor relacionado con una enfermedad progresiva puede ser agudo o crónico.

Como se usa en la presente memoria, salvo que se indique lo contrario, el dolor incluirá dolor inflamatorio, dolor mediado centralmente, dolor mediado periféricamente, dolor visceral, dolor relacionado con la estructura, dolor por cáncer, dolor relacionado con lesiones de tejidos blandos, dolor relacionado con enfermedades progresivas, dolor neuropático, dolor agudo por lesión aguda, dolor agudo por traumatismo, dolor agudo por cirugía, dolor de cabeza, dolor dental, dolor de espalda (preferiblemente dolor lumbar), dolor crónico por afecciones neuropáticas y dolor crónico por afecciones posteriores a un accidente cerebrovascular.

El dolor puede seleccionarse del grupo que consiste en osteoartritis, artritis reumatoide, fibromialgia, dolor de cabeza, dolor de muelas, quemadura, quemadura solar, mordedura de animal (tales como mordedura de perro, mordedura de gato, mordedura de serpiente, mordedura de araña, picadura de insecto y similares), vejiga neurogénica, hipertrofia prostática benigna, cistitis intersticial, rinitis, dermatitis de contacto/hipersensibilidad, picazón, eczema, faringitis, mucositis, enteritis, celulitis, causalgia, neuritis ciática, neuralgia de la articulación mandibular, neuritis periférica, polineuritis, dolor de muñón, dolor de miembro fantasma, íleo postoperatorio, colecistitis, síndrome de dolor postmastectomía, dolor neuropático oral, dolor de Charcot, distrofia simpática refleja, síndrome de Guillain-Barré, meralgia parestésica, síndrome de boca ardiente, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino, neuropatía periférica, neuropatía periférica bilateral, neuropatía diabética, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino, neuritis óptica, neuritis posfebril, neuritis migratoria, neuritis segmentaria, neuritis de Gombault, neuronitis, neuralgia cervicobraquial, neuralgia craneal, neuralgia geniculada, neuralgia glosofaríngea, neuralgia migrañosa, neuralgia idiopática, neuralgia intercostal, neuralgia mamaria, neuralgia de Morton, neuralgia nasociliar, neuralgia occipital, neuralgia roja, neuralgia de Sluder, neuralgia esplenopalatina, neuralgia supraorbitaria, neuralgia vidiana, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome del intestino irritable, parto, cólicos menstruales, cáncer, dolor de espalda, dolor lumbar y dolor del síndrome del túnel carpiano.

El dolor agudo incluye el dolor causado por una lesión aguda, un traumatismo, una enfermedad o una cirugía (por ejemplo, cirugía de tórax abierto (incluida la cirugía a corazón abierto o de bypass)). El dolor agudo también incluye, pero no se limita a, dolor de cabeza, dolor postoperatorio, dolor de cálculos renales, dolor de vesícula biliar, dolor de cálculos biliares, dolor obstétrico, dolor reumatológico, dolor dental o dolor causado por lesiones de medicina deportiva, síndrome del túnel carpiano, quemaduras, esguinces y distensiones musculoesqueléticas, distensión musculotendinosa, síndromes de dolor cervicobraquial, dispepsia, úlcera gástrica, úlcera duodenal, dismenorrea o endometriosis.

El dolor crónico incluye el dolor causado por una enfermedad inflamatoria, osteoartritis, artritis reumatoide o como secuela de una enfermedad, lesión aguda o trauma. El dolor crónico también incluye, pero no se limita a, dolor de cabeza, dolor de espalda superior o dolor de espalda inferior (seleccionado entre dolor de espalda resultante de enfermedad de la columna vertebral sistémica, regional o primaria (seleccionado entre radiculopatía)), dolor óseo (seleccionado entre dolor óseo debido a osteoartritis, osteoporosis, metástasis óseas o razones desconocidas), dolor pélvico, dolor asociado a lesión de la médula espinal, dolor torácico cardíaco, dolor torácico no cardíaco, dolor central posterior a un accidente cerebrovascular, dolor miofascial, dolor por cáncer, dolor por SIDA, dolor de células falciformes, dolor geriátrico o dolor causado por dolor de cabeza, migraña, neuralgia del trigémino, síndrome de la articulación temporomandibular, síndrome de fibromialgia, osteoartritis, artritis reumatoide, gota, fibrositis o síndromes del desfiladero torácico.

El dolor neuropático incluye el dolor que resulta de afecciones o trastornos crónicos o debilitantes. Las condiciones o trastornos crónicos o debilitantes que pueden conducir al dolor neuropático incluyen, pero no se limitan a, neuropatía periférica diabética dolorosa, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino, dolor posterior a un accidente cerebrovascular, dolor asociado con esclerosis múltiple, dolor asociado con neuropatías como la neuropatía idiopática o posttraumática y la mononeuritis, dolor neuropático asociado con VIH, dolor neuropático asociado con cáncer, dolor neuropático asociado con el túnel carpiano, dolor asociado con lesión de la médula espinal, síndrome de dolor regional complejo, dolor neuropático asociado con fibromialgia, dolor lumbar y cervical, distrofia simpática refleja, síndrome del miembro fantasma y otros síndromes de dolor asociados a condiciones crónicas y debilitantes.

Los “trastornos o enfermedades neurodegenerativas agudas” incluyen, pero no se limitan a, varios tipos de trastornos neurodegenerativos agudos asociados con la muerte o daño neuronal, incluyendo insuficiencia cerebrovascular, traumatismo cerebral focal, daño cerebral difuso y lesión de la médula espinal, es decir, isquemia o infarto cerebral, incluyendo oclusión embólica y oclusión trombótica, reperfusión después de isquemia aguda, lesión hipóxico-isquémica perinatal, paro cardíaco, así como hemorragia intracranal de cualquier tipo (incluyendo, pero no limitado a, epidural, subdural, subaracnoidea e intracerebral), y lesiones intracraneales e intravertebrales (incluyendo, pero no limitado a, contusión, penetración, corte, compresión y laceración), y síndrome del latigazo cervical infantil. En algunas realizaciones, el trastorno neurodegenerativo agudo es el resultado de un accidente cerebrovascular, una lesión isquémica aguda, una lesión en la cabeza o una lesión en la columna vertebral.

Los “trastornos o enfermedades neurodegenerativas crónicas” incluyen, entre otros, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Pick, enfermedad difusa de cuerpos de Lewy, parálisis supranuclear progresiva (síndrome de Steele-Richardson), degeneración multisistémica (síndrome de Shy-Drager), afecciones epilépticas crónicas asociadas con neurodegeneración, enfermedades de las neuronas motoras, incluida la esclerosis lateral amiotrófica, ataxias degenerativas, degeneración basal cortical, complejo ALS-Parkinson-Demencia de Guam, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, sinucleinopatías (incluida la atrofia multisistémica), afasia progresiva primaria, degeneración estriatonigral, enfermedad de Machado-Joseph/ataxia espinocerebelosa tipo 3 y degeneraciones olivopontocerebelosas, enfermedad de Gilles de la Tourette, parálisis bulbar y pseudobulbar, atrofia muscular espinal y espinobulbar (enfermedad de Kennedy), esclerosis múltiple, esclerosis lateral primaria, paraplejía espástica familiar, enfermedad de Werdnig-Hoffmann, enfermedad de Kugelberg-Welander, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, enfermedad espástica familiar, enfermedad de Wohlfart-Kugelberg-Welander, paraparesia espástica, leucoencefalopatía multifocal progresiva, disautonomía familiar (síndrome de Riley-Day) y enfermedades priónicas (incluidas, entre otras, Creutzfeldt-Jakob, enfermedad de Gerstmann-Straussler-Scheinker, Kuru e insomnio familiar fatal). En algunas realizaciones, el trastorno neurodegenerativo crónico se selecciona entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple o parálisis cerebral.

El término “sujeto” tal como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un animal, lo más preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano, que ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento. En algunas realizaciones, el sujeto ha experimentado y/o exhibido al menos un síntoma de la enfermedad o trastorno a tratar y/o prevenir. En algunas realizaciones, el paciente tiene desde el nacimiento hasta los primeros 28 días de vida, desde los 29 días de edad hasta menos de dos años de edad, desde los dos años de edad hasta menos de 12 años de edad, (desde los 12 años de edad hasta los 21 años de edad (hasta, pero sin incluir, el vigésimo segundo cumpleaños), desde los 22 años de edad hasta los 35 años de edad, desde los 35 años de edad hasta los 65 años de edad, o es mayor de 65 años de edad. En algunas realizaciones, un paciente es un paciente pediátrico (es decir, un paciente menor de 21 años en el momento del diagnóstico o tratamiento). El término “pediátrico” puede dividirse en varias subpoblaciones, entre ellas: neonatos (desde el nacimiento hasta los primeros 28 días de vida); lactantes (de 29 días de edad a menos de dos años de edad); niños (de dos años de edad a menos de 12 años de edad); y adolescentes (de 12 a 21 años de edad (hasta el vigésimo segundo cumpleaños, pero sin incluirlo)). Berhman RE, Kliegman R, Arvin AM, Nelson WE. Nelson Textbook of Pediatrics, 15th Ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996; Rudolph AM, y col. Rudolph's Pediatrics, 21st Ed. New York: McGraw-Hill, 2002; and Avery MD, First LR. Pediatric Medicine, 2nd Ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. En algunas realizaciones, el paciente es un paciente de edad avanzada (p. ej., un paciente de más de 65 años de edad).

En algunas realizaciones, se ha identificado o diagnosticado que el sujeto tiene un cáncer con desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., según se determina usando un ensayo o kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA). En algunas realizaciones, el sujeto tiene un tumor que es positivo para la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., según se determina usando un ensayo o kit aprobado por la agencia reguladora). El sujeto puede ser un sujeto con un tumor(es) que sea positivo para la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., identificado como positivo usando un ensayo o kit aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA). El sujeto puede ser un sujeto cuyos tumores tienen desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o un nivel de la misma (p. ej., cuando el tumor se identifica como tal usando un kit o ensayo aprobado por una agencia reguladora, p. ej., aprobado por la FDA). En algunas realizaciones, se sospecha que el sujeto tiene un cáncer asociado a Trk. En algunas realizaciones, el sujeto tiene un historial clínico que indica que el sujeto tiene un tumor que tiene desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (y opcionalmente el historial clínico indica que el sujeto debe tratarse con cualquiera de las composiciones proporcionadas en la presente memoria).

El término “Trk” o “proteína Trk” incluye cualquiera de las proteínas Trk descritas en la presente memoria (p. ej., una proteína TrkA, una TrkB o una proteína TrkC).

El término “gen NTRK” incluye cualquiera de los genes NTRK descritos en la presente memoria (p. ej., un gen NTRK1, un gen NTRK2 o un gen NTRK3).

El término “silvestre” describe un ácido nucleico (p. ej., un gen NTRK o un ARNm de Trk) o una proteína (p. ej., una proteína Trk) que se encuentra en un sujeto que no tiene un cáncer asociado a Trk (y opcionalmente tampoco tiene un mayor riesgo de desarrollar un cáncer o una afección asociada a Trk y/o no se sospecha que tenga un cáncer o una afección asociada a Trk) o se encuentra en una célula o tejido de un sujeto que no tiene un cáncer o una afección asociada a Trk (y opcionalmente tampoco tiene un mayor riesgo de desarrollar un cáncer o una afección asociada a Trk y/o no se sospecha que tenga un cáncer o una afección asociada a Trk).

El término “agencia reguladora” es la agencia de un país para la aprobación del uso médico de agentes farmacéuticos en el país. Por ejemplo, un ejemplo no limitativo de una agencia reguladora es la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA).

- La frase “desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma” es una mutación genética (p. ej., una translocación del gen NTRK que da como resultado la expresión de una proteína de fusión, una delección en un gen NTRK que da como resultado la expresión de una proteína Trk que incluye una delección de al menos un aminoácido en comparación con la proteína Trk silvestre, o una mutación en un gen NTRK que da como resultado la expresión de una proteína Trk con una o más mutaciones puntuales, una versión empalmada alternativa de un ARNm de Trk que da como resultado una proteína Trk que da como resultado la delección de al menos un aminoácido en la proteína Trk en comparación con la proteína Trk silvestre), o una duplicación del gen NTRK que da como resultado la sobreexpresión de una proteína Trk) o una actividad autocrina resultante de la sobreexpresión de un gen NTRK en una célula, que da como resultado un aumento patógeno en la actividad de un dominio quinasa de una proteína Trk (p. ej., una dominio quinasa constitutivamente activo de una proteína Trk) en una célula. Por ejemplo, una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, puede ser una mutación en un gen NTRK1, NTRK2 o NTRK3 que codifica una proteína Trk que es constitutivamente activa o tiene una actividad aumentada en comparación con una proteína codificada por un gen NTRK1, NTRK2 o NTRK3 que no incluye la mutación. Por ejemplo, una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, puede ser el resultado de una translocación genética que da como resultado la expresión de una proteína de fusión que contiene una primera porción de TrkA, TrkB o TrkC que incluye un dominio de quinasa funcional, y una segunda porción de una proteína portadora (es decir, que no es TrkA, TrkB o TrkC). Un gen que codifica una proteína de fusión puede incluir, p. ej., los siguientes exones de un gen NTRK1 silvestre: exones 10-19, exones 12-19, exones 12-19, exones 13-19, exones 14-19 o exones 15-19. Un gen que codifica una proteína de fusión puede incluir, p. ej., los siguientes exones de un gen NTRK2 silvestre: exones 12-21, exones 13-21, exones 15-21, exones 16-21 o exones 17-21. Un gen que codifica una proteína de fusión puede incluir, p. ej., los siguientes exones de un gen NTRK3 silvestre: exones 17-22 o exones 16-22. En las Tablas 1, 3 y 4 se describen ejemplos no limitativos de proteínas de fusión que son el resultado de una translocación del gen NTRK.
- Una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, puede, p. ej., incluir una o más mutaciones en un gen NTRK1, NTRK2 o NTRK3 que resulten en un TrkA, TrkB o TrkC que contenga al menos una (p. ej., dos, tres, cuatro o cinco) mutaciones puntuales (p. ej., una o más de las mutaciones puntuales enumeradas en la Tabla 6). Una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, puede incluir, p. ej., una mutación en un gen NTRK2 que da como resultado una proteína TrkB que incluye una mutación puntual de V673M. Una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, puede incluir, p. ej., una mutación en un gen NTRK3 que da como resultado una proteína TrkC que incluye una mutación puntual de H677Y.
- Una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, puede ser una mutación en un gen NTRK1, NTRK2 o NTRK3 que da como resultado una delección de uno o más aminoácidos contiguos (al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 15, al menos 20, al menos 30, al menos 40, al menos 50, al menos 60, al menos 70, al menos 80, al menos 90, al menos 100, al menos 110, al menos 120, al menos 130, al menos 140, al menos 150, al menos 160, al menos 170, al menos 180, al menos 190, al menos 200, al menos 210, al menos 220, al menos 230, al menos 240, al menos 250, al menos 260, al menos 270, al menos 280, al menos 290, al menos 300, al menos 310, al menos 320, al menos 330, al menos 340, al menos 350, al menos 360, al menos 370, al menos 380, al menos 390 o al menos 400 aminoácidos) en la proteína TrkA, TrkB o TrkC (excepto la eliminación de aminoácidos en el dominio quinasa de TrkA, TrkB o TrkC que daría como resultado la inactivación del dominio quinasa). En algunas realizaciones, la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, puede incluir una eliminación en un gen NTRK1 que da como resultado una proteína TrkA que carece del sitio de unión de NGF o del exón 10, que incluye el sitio de unión de NGF, el último de los cuales está asociado con la leucemia mieloide aguda.
- En algunos ejemplos, una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, puede incluir una forma empalmada alternativa de un ARNm de Trk, p. ej., una variante empalmada de TrkAII o una forma empalmada alternativa de un ARNm de TrkA que da como resultado la producción de una proteína TrkA que carece de los aminoácidos codificados por el exón 10. En algunos ejemplos, una desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o la expresión o actividad, o el nivel de la misma, incluye una amplificación de un gen NTRK (p. ej., una, dos, tres o cuatro copias adicionales del gen NTRK) que puede resultar, p. ej., en una expresión autocrina de un gen NTRK en una célula.
- El término “cáncer o tumor asociado a Trk” es un cáncer que está asociado con la desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma (p. ej., un cáncer que está asociado con al menos un ejemplo (p. ej., dos, tres, cuatro o cinco ejemplos) de desregulación de un gen NTRK, una proteína Trk, o expresión o actividad, o nivel de la misma, descrito en la presente memoria).
- El término “mamífero”, como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un animal de sangre caliente que tiene o está en riesgo de desarrollar una enfermedad descrita en la presente memoria e incluye, pero no se limita a, conejillos de indias, perros, gatos, ratas, ratones, hámsteres y primates, incluidos los humanos.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz”, como se utiliza en la presente memoria, significa la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema de tejido, animal o humano que busca un investigador, veterinario, médico u otro clínico, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o trastorno que se está tratando. En particular, una cantidad terapéuticamente eficaz, cuando se administra a un sujeto que necesita tal tratamiento, es suficiente para (i) tratar o prevenir una enfermedad, condición o trastorno particular que se puede tratar con un inhibidor de TrkA y/o TrkB, (ii) atenuar, mejorar o eliminar uno o más síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular, o (iii) prevenir o retrasar la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, condición o trastorno particular descrito en la presente memoria. La cantidad de forma cristalina (I-HS) que corresponderá a tal cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo de factores tales como la condición de la enfermedad y su gravedad, la identidad (p. ej., el peso) del mamífero que necesita el tratamiento, pero, no obstante, puede ser determinada rutinariamente por un experto en la técnica.

Como se utiliza en la presente memoria, el término “composición” pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Para proporcionar una descripción más concisa, algunas de las expresiones cuantitativas dadas en la presente memoria no están calificadas con el término “aproximadamente”. Se entiende que, independientemente de que se use explícitamente el término “aproximadamente” o no, cada cantidad dada en la presente memoria se refiere al valor dado real, y también se refiere a la aproximación a tal valor dado que podría inferirse razonablemente con base en la habilidad ordinaria en la técnica, incluidas las aproximaciones debidas a las condiciones experimentales y/o de medición para tal valor dado.

En algunas realizaciones, el término “aproximadamente” se utiliza en la presente memoria para significar aproximadamente, en la región de, aproximadamente o alrededor. Cuando el término “aproximadamente” se utiliza junto con un rango numérico, modifica ese rango extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término “aproximadamente” se utiliza en la presente memoria para modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor establecido en una variación del 10 %.

El término “aproximadamente” que precede a una o más posiciones de pico en un patrón de difracción de rayos X en polvo significa que todos los picos del grupo al que precede se informan en términos de posiciones angulares (dos theta) con una variabilidad permitida de $\pm 0,3^\circ$. La variabilidad de $\pm 0,3^\circ$ está destinada a utilizarse al comparar dos patrones de difracción de rayos X en polvo. En la práctica, si a un pico de patrón de difracción de un patrón se le asigna un rango de posiciones angulares (dos theta) que es la posición del pico medida $\pm 0,3^\circ$ y si esos rangos de posiciones de pico se superponen, entonces se considera que los dos picos tienen la misma posición angular. Por ejemplo, si se determina que un pico de un patrón tiene una posición de $11,0^\circ$, para fines de comparación, la variabilidad permitida permite asignar al pico una posición en el rango de $10,7^\circ$ a $11,3^\circ$.

El término “aproximadamente” que precede a un valor para DSC, TGA, TG o DTA, que se informan en grados Celsius, tiene una variabilidad permitida de $\pm 5^\circ\text{C}$.

Para proporcionar una descripción más concisa, algunas de las expresiones cuantitativas mencionadas en la presente memoria se recitan como un rango desde aproximadamente la cantidad X hasta aproximadamente la cantidad Y. Se entiende que cuando se recita un rango, el rango no está limitado a los límites superior e inferior recitados, sino que incluye el rango completo desde aproximadamente la cantidad X hasta aproximadamente la cantidad Y, o cualquier rango dentro del mismo.

En algunas realizaciones, una formulación líquida como se proporciona en la presente memoria contiene, por unidad de dosificación, aproximadamente 20 mg, aproximadamente 30 mg, aproximadamente 40 mg, aproximadamente 50 mg, aproximadamente 100 mg, aproximadamente 150 mg, aproximadamente 200 mg, aproximadamente 250 mg, aproximadamente 300 mg, aproximadamente 400 mg o aproximadamente 500 mg de un compuesto de la Fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos. Sin embargo, las dosis pueden variar dependiendo de los requerimientos de los pacientes, la gravedad de la condición a tratar y el compuesto a emplear. En algunas realizaciones, las dosis se administran una vez al día (QD) o dos veces al día (BID).

La dosis diaria de un compuesto de la Fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una combinación de los mismos en una formulación líquida como se describe en la presente memoria puede variar en un amplio rango de 1,0 a 10.000 mg por humano adulto por día, o más, o cualquier rango dentro de este. Para administración oral, las composiciones se proporcionan preferiblemente en forma de comprimidos que contienen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, 50,0, 100, 150, 200, 250 y 500 miligramos del principio activo para el ajuste sintomático de la dosis al paciente a tratar. Una cantidad eficaz del fármaco se suministra normalmente en un nivel de dosis de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier rango dentro del mismo. El rango puede ser de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 500 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier rango dentro de este. El rango puede ser de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 250 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier rango dentro de este. El rango puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier rango dentro de este rango. En un ejemplo, el rango puede ser de

aproximadamente 0,1 a aproximadamente 50,0 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier cantidad o rango dentro del mismo. En otro ejemplo, el rango puede ser de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 15,0 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier rango dentro del mismo. En otro ejemplo más, el rango puede ser de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 7,5 mg/kg de peso corporal por día, o cualquier cantidad dentro de ese rango. Una formulación líquida como la descrita en la presente memoria puede administrarse en un régimen de 1 a 4 veces al día o en una única dosis diaria.

Las dosis óptimas a administrar pueden ser determinadas fácilmente por aquellos expertos en la técnica, y variarán según el modo de administración, la concentración de la preparación, el modo de administración y el avance de la enfermedad. Además, los factores asociados con el paciente particular que se está tratando, incluida la edad, el peso, la dieta y el momento de la administración, darán lugar a la necesidad de ajustar las dosis.

Un experto en la técnica reconocerá que tanto los ensayos *in vivo* como *in vitro* que utilizan modelos celulares y/o animales adecuados, conocidos y generalmente aceptados son predictivos de la capacidad de un compuesto de prueba para tratar o prevenir un trastorno determinado.

Un experto en la técnica reconocerá además que los ensayos clínicos en humanos, incluidos los primeros ensayos en humanos, de determinación de dosis y de eficacia, en pacientes sanos y/o en aquellos que padecen un trastorno determinado, pueden completarse según métodos bien conocidos en las artes clínicas y médicas. Por ejemplo, la determinación de las dosis adecuadas para pacientes pediátricos se puede realizar usando métodos conocidos, incluidos el peso, la edad y modelos como el modelado de simulación pediátrica Simcyp® (CERTARA, Princeton, New Jersey) que se puede usar para establecer un enfoque farmacocinético para la dosificación que tenga en cuenta la edad del paciente, la ontogenia de las vías de depuración que tiene un compuesto de fórmula (I), una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una combinación de los mismos, y área de superficie corporal (BSA).

Las formulaciones líquidas proporcionadas en la presente memoria se pueden administrar a través de varias vías diferentes, incluida la administración oral, la administración intranasal y la administración a través de una sonda de alimentación enteral o de gastrostomía.

Los acrónimos que se encuentran en la especificación tienen los siguientes significados:

ATP	Trifosfato de adenosina
DI	Desionizado
EtOH	Etanol
GC	Cromatografía de gases
MOPS	Ácido 3-(N-morfolino)-propanosulfónico
MTBE	Éter <i>terc</i> -butílico de metilo
PDA	Matriz de fotodioides
RRT	Tiempo de retención relativo
RT	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
TMB	3,3',5,5'-tetrametilbencidina

Los siguientes ejemplos ilustran la invención y se presentan para ayudar a comprender la invención, y no pretenden ni deben interpretarse como que limitan de ningún modo la invención expuesta en las reivindicaciones que siguen a continuación.

En los ejemplos que se describen a continuación, salvo que se indique lo contrario, todas las temperaturas se establecen en grados Celsius. Los reactivos se adquirieron a proveedores comerciales como Sigma-Aldrich Chemical Company, EMD, JT Baker o Pharco-Aaper, y se usaron sin purificación adicional salvo que se indique lo contrario. El tetrahidrofurano (THF), el heptano y otros disolventes orgánicos se compraron a proveedores comerciales, como Sigma-Aldrich Chemical Company, ACROS, Alfa-Aesar, Lancaster, TCI o Maybridge, y se usaron tal como se recibieron.

Un experto en la técnica reconocerá que, cuando no se especifique lo contrario, la o las etapas de reacción se realizan en condiciones adecuadas, según métodos conocidos, para proporcionar el producto deseado. Un experto en la técnica también reconocerá que, si bien una etapa de reacción como el descrito en la presente memoria puede llevarse a cabo en una variedad de solventes o sistemas de solventes, dicha etapa de reacción también puede llevarse a cabo en una mezcla de solventes o sistemas de solventes adecuados. Un experto en la técnica reconocerá que, en la especificación y las reivindicaciones que se presentan en la presente memoria, en las que un reactivo o una clase/tipo

de reactivo (p. ej., base, disolvente, etc.) se menciona en más de una etapa de un proceso, los reactivos individuales se seleccionan independientemente para cada etapa de reacción y pueden ser iguales o diferentes entre sí. Por ejemplo, cuando dos etapas de un proceso recitan una base orgánica o inorgánica como reactivo, la base orgánica o inorgánica seleccionada para la primera etapa puede ser la misma o diferente que la base orgánica o inorgánica de la segunda etapa.

Las reacciones que se describen a continuación se realizaron generalmente bajo presión positiva de nitrógeno (salvo que se indique lo contrario) en solventes de "grado ACS" y los matraces de reacción generalmente estaban equipados con tapones de goma para la introducción de sustratos y reactivos mediante una jeringa o un embudo de adición.

Se utilizaron dos sistemas de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) de fase inversa para el monitoreo y análisis durante el proceso, usando acetonitrilo y agua/ácido trifluoroacético como fases móviles. Un sistema empleó una columna Agilent Zorbax Extend C18 a 264 nm, mientras que el otro sistema (en adelante, "TRK1PM1 HPLC") incluyó una columna Waters Xbridge Phenyl a 268 nm. Salvo que se indique lo contrario, se utilizó el sistema anterior.

La sílice de ambos sistemas se agitó en un matraz con el compuesto y después se filtró a través de un paño de polipropileno antes de analizarse.

Forma de base libre amorfa del compuesto de Fórmula I: Se disuelve aproximadamente 1 gramo de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida en una cantidad mínima de agua y se enfriá a una temperatura de aproximadamente -26 °C, seguido de un secado en el liofilizador durante 24 horas. Se pesaron aproximadamente 20 mg del material amorfó obtenido del liofilizador en un vial, al que se añadieron 5 alícuotas de volumen de un sistema de solvente apropiado. Se verificó la disolución de la mezcla y, si no se observaba disolución, se calentó a aproximadamente 40 °C y se verificó nuevamente. Este procedimiento se continuó hasta observar disolución o hasta que se añadieron 100 volúmenes de disolvente. El patrón XRPD del material amorfó obtenido del experimento de liofilización se muestra en la figura 7.

Sal de hidrogenosulfato amorfó del compuesto de Fórmula I se preparó como se describe en el ejemplo 14A en el documento WO 2010/048314 (véase ejemplo 3). Los patrones XRPD de los dos lotes diferentes de material amorfó preparados mediante este método se muestran en la figura 28.

También se proporciona en la presente memoria un proceso para la preparación de la forma cristalina (I-HS). En algunas realizaciones, el proceso comprende las etapas que se muestran en el Esquema 1.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria un proceso para la preparación de la forma cristalina (I-HS), que comprende:

(a) añadir ácido sulfúrico concentrado a una disolución de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida en EtOH para formar la sal de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida;

(b) añadir heptano a la disolución de la etapa (a) para formar una suspensión;

(c) filtrar la suspensión para aislar el hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida;

(d) mezclar dicho hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida con una disolución de agua/2-butanona en proporción 5:95 p/p;

(e) calentar la mezcla de la etapa (d) a aproximadamente 65-70 °C con agitación hasta que el porcentaje en peso de etanol sea de aproximadamente 0,5 % para formar una suspensión de la forma cristalina de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida; y

(f) aislar la forma cristalina del hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida mediante filtración.

En algunas realizaciones, el método anterior comprende además: (b1) sembrar la disolución de la etapa (a) con hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida a temperatura ambiente y dejar que la disolución se agite hasta que se forme una suspensión.

En algunas realizaciones, se proporciona en la presente memoria un proceso para la preparación de la forma cristalina (I-HS), que comprende:

(a) hacer reaccionar 5-cloro-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina con (R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina (R)-2-hidroxisuccinato en presencia de una base para formar (R)-5-(2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina;

(b) tratar dicha (*R*)-5-(2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina con Zn y ácido clorhídrico para formar (*R*)-5-(2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-amina;

5 (c) tratar dicha (*R*)-5-(2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-amina con una base y cloroformiato de fenilo para formar fenilo (*R*)-(5-(2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)carbamato;

10 (d) hacer reaccionar dicho fenilo (*R*)-(5-(2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)carbamato con (*S*-pirrolidin-3-ol para formar (*S*)-N-(5-((*R*)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida;

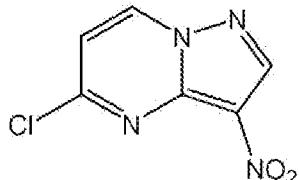
15 10 (e) añadir ácido sulfúrico a dicha forma de (*S*)-N-(5-((*R*)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida hidrogenosulfato de (*S*)-N-(5-((*R*)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida; y

15 15 (f) aislar la forma cristalina de hidrogenosulfato de (*S*)-N-(5-((*R*)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida.

En algunas realizaciones de la etapa (a) anterior, la base es una base de amina, tal como trietilamina.

20 20 En algunas realizaciones de la etapa (c) anterior, la base es una base de metal alcalino, tal como un carbonato de metal alcalino, tal como carbonato de potasio.

Preparación A



Preparación de 5-cloro-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina

35 Etapa A: Preparación de pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-olato de sodio: Se cargó una disolución de 1H-pirazol-5-amina y 1,3-dimetilpirimidina-2,4(1H,3H)-diona (1,05 equiv.) en un matraz de fondo redondo equipado con un agitador mecánico, un recipiente de vapor, un condensador de refluxo, una sonda de temperatura J-Kem y un adaptador de N₂ para control positivo de presión de N₂. Bajo agitación mecánica, los sólidos se suspendieron con 4 vol. (4 ml/g) de EtOH absoluto bajo una atmósfera de nitrógeno, después se cargaron con 2,1 equivalentes de NaOEt (disolución al 21 % en peso en EtOH), y después se enjuagó la línea con 1 vol. (1 ml/g) de EtOH absoluto. La suspensión se calentó a aproximadamente 75 °C y se agitó a refluxo suave hasta que se observó menos del 1,5 % del área de 1H-pirazol-5-amina mediante HPLC TRK1PM1 para seguir la progresión de la reacción usando 20 µl de suspensión diluida en 4 ml de agua desionizada y una inyección de 5 µl a 220 nm.

45 40 Después de 1 hora adicional, la mezcla se cargó con 2,5 vol. (2,5 ml/g) de heptano y después se calentó a refluxo a 70 °C durante 1 hora. Después la suspensión se enfrió a temperatura ambiente durante la noche. El sólido se recogió mediante filtración en un embudo de mesa y una tela filtrante de polipropileno. El reactor se enjuagó y se cargó encima de la torta de filtración con 4 volúmenes (4 ml/g) de heptano, extrayéndose la torta y transfiriéndose los sólidos a bandejas de secado taradas y se secaron en horno a 45 °C bajo alto vacío hasta que su peso fue constante. Se obtuvo pirazolo[1,5-a]-pirimidin-5-olato de sodio sólido de color amarillo pálido con un rendimiento del 93-96 % (corregido) y un área mayor al 99,5 % observada por HPLC (dilución de 1 mg/ml en agua desionizada, TRK1PM1 a 220 nm).

55 Etapa B: Preparación de 3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona: Se cargó un matraz de fondo redondo tarado con pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-olato de sodio que se disolvió a 40-45 °C en 3,0 vol. (3,0 ml/g) de agua desionizada y después se concentró al vacío alto a 65 °C en un baño de agua en un evaporador rotatorio hasta que se observó 2,4 x peso del material de partida (1,4 vol/1,4 ml/g de contenido de agua desionizada). Se realizó una cromatografía de gases (GC) para EtOH residual (30 µl de disolución disuelta en ~ 1 ml de MeOH) que mostró menos de 100 ppm con trazas de humos de nitrato de etilo que se observaron a continuación tras la adición posterior de HNO₃. En algunos casos, la disolución original se cargó con 1,5 vol. adicionales (1,5 ml/g) de agua DI, después se concentró al vacío alto a 65 °C en un baño de agua en un evaporador rotatorio hasta que se observó 2,4 x peso del material de partida (1,4 vol/1,4 ml/g de contenido de agua DI). Se realizó una cromatografía de gases para EtOH residual (30 µl de disolución disuelta en aproximadamente 1 ml de MeOH) que mostró <<100 ppm de EtOH residual sin observar ningún humo de nitrato de etilo por debajo de la adición posterior de HNO₃.

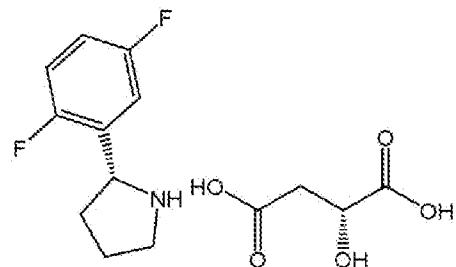
65 60 Un recipiente de fondo redondo equipado con un agitador mecánico, un recipiente de vapor, un condensador de refluxo, una sonda de temperatura J-Kem y un adaptador de N₂ para control positivo de presión de N₂ se cargó con 3 vol.

(3 ml/g, 10 equiv) de >90 % en peso de HNO₃ y se enfrió a unos 10 °C bajo una atmósfera de nitrógeno usando un baño de enfriamiento externo de agua y hielo bajo una atmósfera de nitrógeno. Usando un embudo de adición de igualación de presión, la disolución de HNO₃ se cargó con 1,75-1,95 volúmenes de una disolución de agua desionizada de pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-olato de sodio (1,16-1,4 ml de agua DI/g de pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-olato de sodio) a una velocidad para mantener una temperatura interna de 35-40 °C bajo enfriamiento. Se observaron dos azeótropos sin humos de nitrato de etilo. El matraz azeotrópico, la línea de transferencia (si corresponde) y el embudo de adición se enjuagaron con 2 x 0,1 vol. (2 x 0,1 ml/g) de agua desionizada añadida a la mezcla de reacción. Una vez completada la adición, la temperatura se aumentó gradualmente a aproximadamente 45-50 °C durante aproximadamente 3 horas y la HPLC mostró una conversión de > 99,5 % de área de pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-olato de sodio a 3-nitropirazol[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona.

Etapa C: Preparación de 5-cloro-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina: Se cargó 3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona en un matraz de fondo redondo equipado con un agitador mecánico, una manta calefactora, un condensador de refluxo, una sonda de temperatura J-Kem y un adaptador de N₂ para un control positivo de presión de N₂. Bajo agitación mecánica los sólidos se suspendieron con 8 volúmenes (8 ml/g) de CH₃CN, y después se cargó con 2,6-lutitina (1,05 equiv) seguido de calentamiento de la suspensión a aproximadamente 50 °C. Usando un embudo de adición de igualación de presión, la mezcla se cargó gota a gota con 0,33 equivalentes de POCl₃. Esta carga produjo una suspensión espesa y beige de un trímero que se homogeneizó mientras se agitaba hasta que se observó una masa semimóvil. Se cargaron 1,67 equivalentes adicionales de POCl₃ a la mezcla mientras se dejaba que la temperatura se estabilizara, seguido de calentar la mezcla de reacción a un refluxo suave (78 °C). Se observó cierta hinchazón al calentar la mezcla, que después desapareció a medida que la suspensión espesa se hacía más líquida.

La mezcla de reacción se dejó refluir hasta su completa disolución hasta obtener una disolución oscura y hasta que HPLC (20 µl diluidos en 5 ml de CH₃CN, HPLC TRK1PM1, inyección de 5 µl, 268 nm) confirmó que no había más trímero (RRT 0,92) y se observó menos de 0,5 % de área de 3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona (RRT 0,79) al eliminar manualmente cualquier pico interferente y de elución temprana relacionado con lutidina del área de integración. En una escala de 1,9 kg, se observó 0 % de área del trímero, 0,25 % de área de 3-nitropirazol[1,5-a]pirimidin-5(4H)-ona y 99,5 % de área de 5-cloro-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina después de 19 horas de refluxo suave usando HPLC TRK1PM1 a 268 nm

Preparación B



Preparación de (R)-2-hydroxisuccinato de (R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina

Etapa A: Preparación de (4-(2,5-difluorofenil)-4-oxobutil)-carbamato de *terc*-butilo: Se disolvió 2-bromo-1,4-difluorobenceno (1,5 eq.) en 4 volúmenes de THF (según el peso de 2-oxopirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo) y se enfrió a unos 5 °C. Se añadió a la mezcla una disolución de 2,0 M de iPrMgCl en THF (1,4 eq.) durante 2 horas mientras se mantenía una temperatura de reacción por debajo de 25 °C. La disolución se dejó enfriar a aproximadamente 5 °C y se agitó durante 1 hora (el análisis de GC confirmó la formación de Grignard). Una disolución de 2-oxopirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (1,0 eq.) se añadió en 1 volumen de THF durante aproximadamente 30 minutos mientras se mantenía una temperatura de reacción por debajo de 25 °C. La reacción se agitó a unos 5 °C durante 90 min (se confirmó que 2-oxopirrolidina-1-carboxilato de *terc*-butilo representaba menos del 0,5 % del área mediante HPLC). La reacción se detuvo con 5 volúmenes de HCl acuoso 2 M mientras se mantenía una temperatura de reacción por debajo de 45 °C. Después, la reacción se transfirió a un embudo de decantación añadiendo 10 volúmenes de heptano y eliminando la capa acuosa. La capa orgánica se lavó con 4 volúmenes de NaCl acuoso saturado seguido de la adición de 2 x 1 volumen de NaCl acuoso saturado. La capa orgánica se cambió por solvente a heptano (<1 % en peso de THF confirmado por GC) a una temperatura de destilación de 35-55 °C y una presión de destilación de 100-200 mm Hg para 2 x 4 volúmenes de heptano que se añadieron con un volumen de destilación mínimo de aproximadamente 7 volúmenes. Después, la mezcla se diluyó a 10 volúmenes con heptano mientras se calentaba a aproximadamente 55 °C, obteniéndose un sólido más denso y dejando que la mezcla se enfriara a temperatura ambiente durante la noche. La suspensión se enfrió a menos de 5 °C y se filtró a través de una tela filtrante de polipropileno. La torta húmeda se lavó con 2 x 2 volúmenes de heptano. Los sólidos se secaron al vacío a 55 °C hasta que el peso fue constante, obteniéndose (4-(2,5-difluorofenil)-4-oxobutil)-carbamato de *terc*-butilo como un sólido blanco con un rendimiento teórico de aproximadamente 75 % a 85 %.

Etapa B: Preparación de 5-(2,5-difluorofenil)-3,4-dihidro-2H-pirrol: Se disolvió (4-(2,5-difluorofenil)-4-oxobutil)-carbamato de *terc*-butilo en 5 volúmenes de tolueno y se añadieron 2,2 equivalentes de HCl 12 M, observándose una leve exotermia y desprendimiento de gas. La reacción se calentó a 65 °C durante 12-24 horas y se controló mediante HPLC. Una vez finalizada la reacción se enfrió a menos de 15 °C con un baño de hielo y agua. El pH se ajustó a

5 aproximadamente 14 con 3 equivalentes de NaOH acuoso 2M (4,7 vol.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1-2 horas. La mezcla se transfirió a un embudo de separación con tolueno. Se eliminó la capa acuosa y la capa orgánica se lavó con 3 volúmenes de NaCl acuoso saturado. La capa orgánica se concentró hasta obtener un aceite y se redissolvió en 1,5 volúmenes de heptano. La suspensión resultante se filtró a través de un papel de filtro GF/F y se concentró hasta obtener un aceite amarillo claro de 5-(2,5-difluorofenil)-3,4-dihidro-2H-pirrol con un rendimiento teórico del 90 % al 100 %.

Etapa C: Preparación de (*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina: Dímero de iridio de cloro-1,5-ciclooctadieno (0,2 mol %) y (*R*)-2-(2-(difenilfosfino)fenil)-4-isopropil-4,5-dihidrooxazol (0,4 mol %) se suspendieron en 5 volúmenes de MTBE (basado en 5-(2,5-difluorofenil)-3,4-dihidro-2H-pirrol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 1 hora y la mayoría de los sólidos se disolvieron y la disolución se tornó de color rojo oscuro. La formación del catalizador se controló usando un detector HPLC/PDA. La reacción se enfrió a menos de 5 °C y se añadió 5-(2,5-difluorofenil)-3,4-dihidro-2H-pirrol (1,0 eq.) usando un enjuague de 0,5 volúmenes de MTBE. Se añadió difenilsilano (1,5 eq.) durante

10 aproximadamente 20 minutos mientras se mantenía una temperatura de reacción por debajo de 10 °C. La reacción se agitó durante 30 minutos por debajo de 10 °C y después se dejó calentar a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La finalización de la reacción se confirmó mediante HPLC y después se enfrió a menos de 5 °C. La reacción se detuvo con 5 volúmenes de HCl acuoso 2M manteniendo la temperatura por debajo de 20 °C. Después de 10 minutos se retiró el baño de hielo/agua y se dejó que la temperatura de reacción aumentara a temperatura ambiente mientras se agitaba durante 2 horas. La mezcla se transfirió a un embudo de decantación con 3 volúmenes de MTBE. La capa acuosa se lavó con 3,5 volúmenes de MTBE seguido de la adición de 5 volúmenes de MTBE a la capa acuosa mientras se ajustaba el pH a aproximadamente 14 añadiendo 0,75 volúmenes de NaOH acuoso al 50 %. La capa orgánica se lavó con 5 volúmenes de NaCl acuoso saturado, después se concentró hasta obtener un aceite y se diluyó con 3 volúmenes de MTBE. La disolución se filtró a través de una tela filtrante de polipropileno y se enjuagó con 1 volumen de MTBE. El filtrado se concentró hasta obtener un aceite de (*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina con un rendimiento teórico del 95 % al 100 % y con un 75-85 % ee.

15 Etapa D: Preparación de (*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina (*R*)-2-hidroxi-succinato: (*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina (1,0 eq.) se transfirió a un matraz de fondo redondo cargado con 15 volúmenes (corregidos por potencia) de EtOH (200 prf). Se añadió ácido D-málico (1,05 eq.) y la mezcla se calentó a 65 °C. Todos los sólidos se disolvieron a unos 64 °C. Se dejó enfriar la disolución a temperatura ambiente. A unos 55 °C, la disolución se sembró con (*R*)-2-hidroxi-succinato de (*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina (aproximadamente 50 mg, >97 % ee) y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la suspensión se filtró a través de una tela filtrante de polipropileno y se lavó con 2 x 1 volúmenes de EtOH (200 prf). Los sólidos se secaron al vacío a 55 °C, obteniéndose (*R*)-2-hidroxi-succinato de (*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina con un rendimiento teórico del 75 % al 90 % y con >96 % ee.

20 40 Refiriéndose al **Esquema 1**, las bases adecuadas incluyen bases de amina terciaria, como trietilamina y K₂CO₃. Los disolventes adecuados incluyen etanol, heptano y tetrahidrofurano (THF). La reacción se realiza convenientemente a temperaturas entre 5 °C y 50 °C. El progreso de la reacción generalmente se controló mediante HPLC TRK1PM1.

45

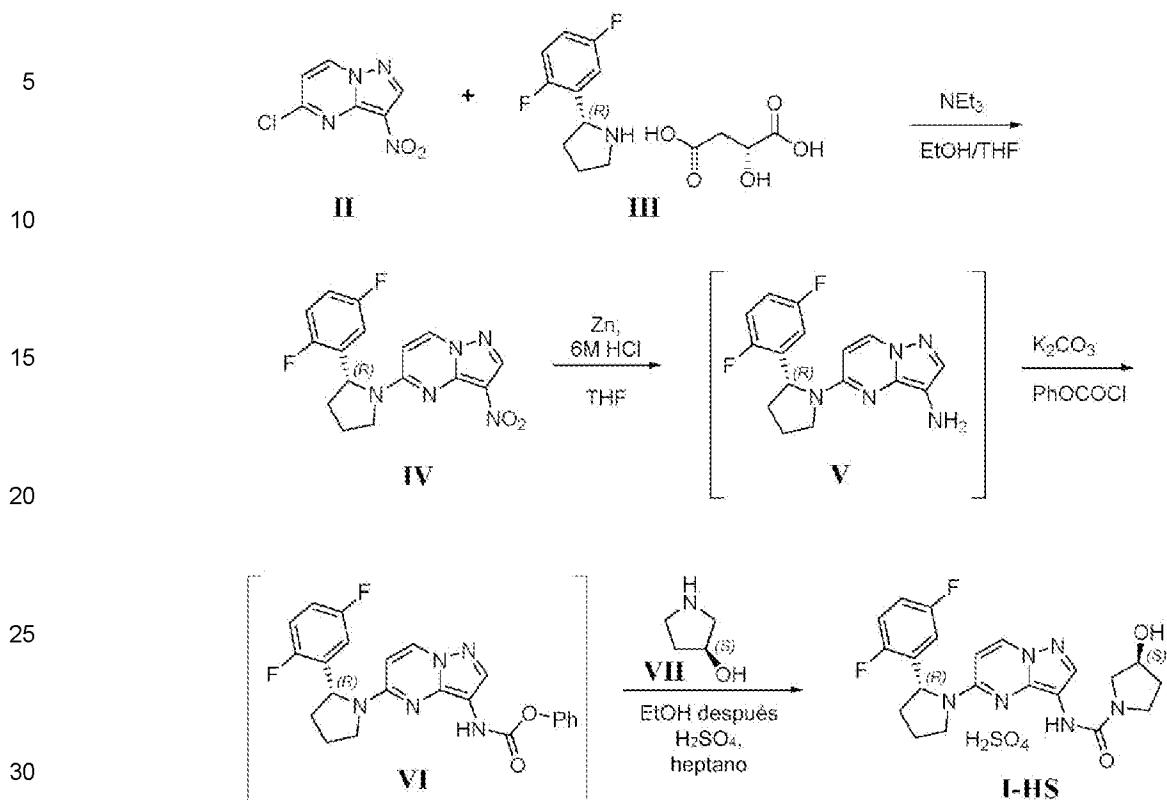
50

55

60

65

Esquema 1



Se cargaron los Compuestos **II** (5-cloro-3-nitropirazolo[1,5-a]pirimidina) y **III** ((*R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidina (*R*-2-hidroxisuccinato, 1,05 eq.) en un matraz de fondo redondo equipado con un agitador mecánico, una sonda de temperatura J-Kem y un adaptador de N₂ para un control positivo de presión de N₂. Una disolución de EtOH:THF en proporción 4:1 (10 ml/g de compuesto **II**) y después se añadió trietilamina (NEt₃, 3,50 eq.) a través de un embudo de adición y la temperatura alcanza unos 40 °C durante la adición. Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se agitó durante 0,5-3 horas para obtener el compuesto **IV**.

A un matraz de fondo redondo equipado con un agitador mecánico, una sonda de temperatura J-Kem, y se añadió un compuesto **IV** de entrada de N₂ seguido de la adición de tetrahidrofurano (10 ml/g de compuesto **IV**). La disolución se enfrió a menos de 5 °C en un baño de hielo y se añadió Zn (9-10 eq.). Después se añadió gota a gota 6M HCl (9-10 eq.) a una velocidad tal que la temperatura se mantuviera por debajo de los 30 °C (para una escala de 1 kg, la adición tardó aproximadamente 1,5 horas). Una vez que la exotermia disminuyó, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 30-60 minutos hasta que el compuesto **IV** no fue detectado por HPLC. En este momento, se añade una disolución de carbonato de potasio (K₂CO₃, 2,0 eq.) en agua (5 ml/g de compuesto **IV**) se añadió de una sola vez y después se añadió rápidamente gota a gota cloroformiato de fenilo (PhOCOCl, 1,2 eq.). Se observó evolución de gas (CO₂) durante ambas adiciones mencionadas anteriormente y la temperatura aumentó a aproximadamente 30 °C después de añadir cloroformiato de fenilo. La formación de carbamato se agitó a temperatura ambiente durante 30-90 minutos. Inmediatamente después se realizó el análisis HPLC para asegurar que la amina presente fuera inferior al 1 % del área y un alto rendimiento del compuesto **VI** en la solución.

A la disolución anterior se le añade amina **VII** ((*S*)-pirrolidin-3-ol, 1,1 eq. basado en el rendimiento teórico del compuesto **VI**) y EtOH (10 ml/g de compuesto **VI**). El compuesto **VII** se añadió antes o al mismo tiempo que EtOH para evitar la formación de impurezas de carbamato de etilo. La disolución de EtOH anterior se concentró a un volumen mínimo (4-5 ml/g) usando el concentrador por lotes a presión reducida (los niveles de THF deben ser <5 % por GC) y EtOH (10 ml/g de compuesto **VI**) se añadió nuevamente para dar un total de 10 ml/g. Después, la reacción se calentó a 50 °C durante 9-19 horas o hasta que la HPLC muestra que el compuesto **VI** es menor al 0,5 % del área. Después se enfrió la reacción a temperatura ambiente y se añadió ácido sulfúrico (H₂SO₄, 1,0 eq. al compuesto **VI**) se añadió a través de un embudo de adición para obtener el compuesto **I-HS** con una temperatura generalmente exotérmica de alrededor de 30 °C.

Ejemplo 1

Preparación de la forma cristalina (I-HS) (Método 1)

(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (0,500 g, 1,17 mmol) se disolvió en EtOH (2,5 ml) y se enfrió a aproximadamente 5 °C. Se añadió ácido sulfúrico concentrado (0,0636 ml, 1,17 mmol) a la disolución enfriada y se agitó durante aproximadamente 10 minutos, mientras se calentaba a temperatura ambiente. Se añadió lentamente éter *terc*-butílico de metilo (MTBE) (2 ml) a la mezcla, lo que provocó que el producto se volviese gomoso. Después se añadió EtOH (2,5 ml) a la mezcla y se calentó a reflujo hasta que se disolvieron todos los sólidos. Al enfriar a temperatura ambiente y agitar durante aproximadamente 1 hora, se formaron algunos sólidos. Después de enfriar a unos 5 °C, los sólidos se filtraron y se lavaron con MTBE. Después de filtrar y secar al aire durante unos 15 minutos, hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida se aisló como un sólido.

Ejemplo 2

Preparación de la forma cristalina (I-HS) (Método 2)

Se añadió ácido sulfúrico concentrado (392 ml) a una disolución de 3031 g de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida en 18322 ml de EtOH para formar la sal de hidrogenosulfato. La disolución se sembró con 2 g de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante al menos 2 horas para formar una suspensión de la sal de hidrogenosulfato. Se añadió heptano (20888 g) y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante al menos 60 minutos. La suspensión se filtró y la torta de filtración se lavó con heptano/EtOH en proporción 1:1. Después los sólidos fueron secados al vacío a temperatura ambiente (temperatura del horno ajustada a 15 °C).

La sal de hidrogenosulfato seca (6389 g de 4 lotes combinados) se añadió a una disolución de agua/2-butanona en proporción 5:95 p/p (peso total 41652 g). La mezcla se calentó a aproximadamente 68 °C con agitación hasta que el porcentaje en peso de etanol fue de aproximadamente 0,5 %, tiempo durante el cual se formó una suspensión. La suspensión se filtró y la torta de filtración se lavó con una disolución de agua/2-butanona en proporción 5:95 p/p. Despues, los sólidos se secaron al vacío a temperatura ambiente (temperatura del horno ajustada a 15 °C) para proporcionar la forma cristalina de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida.

Ejemplo 3

Preparación de la forma amorfá AM(HS)

A una disolución de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (9,40 g, 21,94 mmol) en MeOH (220 ml) se añadió lentamente ácido sulfúrico (0,1 M en MeOH, 219,4 ml, 21,94 mmol) a temperatura ambiente bajo agitación rápida. Despues de 30 minutos, la reacción se concentró primero mediante evaporador rotatorio hasta casi sequedad, despues a alto vacío durante 48 h para proporcionar la forma amorfá de sulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (11,37 g, 21,59 mmol, rendimiento del 98,43 %). LCMS (apci m/z 429,1, M+H).

Ejemplo 4

Preparación de sal de HCl cristalina de fórmula I

Una mezcla de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (0,554 g, 1,29 mmol) en EtOH (6 ml, 200 grados) y MTBE (10 ml) se calentó a 50 °C mientras se agitaba para obtener una disolución, seguido de la adición de cloruro de hidrógeno (conc.) (0,108 ml, 1,29 mmol) en una porción. Despues se dejó enfriar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y despues se enfrió a aproximadamente 5 °C en un baño de agua helada con agitación para inducir la cristalización. La suspensión se agitó durante 4 h en un baño de agua helada antes de filtrarla al vacío, la torta de filtración se enjuagó con MTBE y se secó al vacío a 55 °C hasta peso constante, obteniéndose clorhidrato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida cristalino (0,534 g, rendimiento del 89 %). LCMS (apci m/z 429,2, M+H).

Preparación de sal de HBr cristalina de fórmula I

Una mezcla de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (0,505 g, 1,18 mmol) en EtOH (6 ml, 200 grados) y MTBE (10 ml) se calentó a 50 °C mientras se agitaba para obtener una disolución, seguido de la adición de bromuro de hidrógeno (33 % ac.) (0,213 ml, 1,18 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a reflujo para obtener una disolución mayoritariamente transparente con una pequeña cantidad de residuo aceitoso en la pared de vidrio del recipiente de reacción. Al enfriarse a temperatura ambiente, apareció precipitación y el residuo aceitoso se solidificó. La mezcla se calentó nuevamente a 50 °C, despues se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La suspensión se filtró al vacío, la torta de filtración se enjuagó con MTBE y se secó al vacío a 55 °C hasta peso constante, obteniéndose bromhidrato de (S)-N-(5-((R)-2-

(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida cristalino (0,51 g, rendimiento del 85 %). LCMS (apci m/z 429,3, M+H).

Preparación de sal de mesilato cristalina de fórmula I

Una mezcla de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (0,532 g, 1,24 mmol) en EtOH (2,7 ml, 200 grados) y MTBE (5,3 ml) se calentó a 50 °C mientras se agitaba para obtener una disolución, seguido de la adición de ácido metanosulfónico (0,076 ml, 1,24 mmol) en una porción. La mezcla de reacción se calentó a refluro para obtener una disolución mayoritariamente transparente con una pequeña cantidad de partículas. Al enfriarse a temperatura ambiente, apareció precipitación junto con algunos residuos aceitosos. Se añadieron EtOH adicional (0,5 ml, 200 grados) y ácido metanosulfónico (0,010 ml) para obtener una disolución. La mezcla de reacción se calentó nuevamente a 50 °C, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La suspensión se filtró al vacío, la torta de filtración se enjuagó con MTBE y se secó al vacío a 55 °C hasta peso constante, produciendo metanosulfonato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida cristalino (0,51 g, rendimiento del 78 %). LCMS (apci m/z 429,4, M+H).

Preparación de sal de camsilato cristalina de fórmula I

Una mezcla de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida (0,500 g, 1,17 mmol) y ácido S-(+)-canforsulfónico (0,271 g, 1,17 mmol) en EtOH (3 ml, 200 grados) y MTBE (5 ml) se calentó a refluro mientras se agitaba para obtener una disolución. Al enfriarse a temperatura ambiente, apareció precipitación. La suspensión se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después se filtró al vacío, la torta de filtración se enjuagó con MTBE y se secó al vacío a 55 °C hasta peso constante, obteniéndose ((1S,4R)-7,7-dimetil-2-oxobiciclo[2.2.1]heptan-1-il)metanosulfonato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida cristalino.

Ejemplo 5

Fibrosarcoma infantil con fusión NTRK3-ETV6 tratado con éxito con una formulación líquida de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida

Materiales y métodos

En diciembre de 2015 se inició un estudio multicéntrico pediátrico de fase 1 de aumento de dosis en pacientes con tumores sólidos o primarios avanzados del sistema nervioso central (Identificador de ClinicalTrials.gov: NCT02637687) para evaluar la seguridad y tolerabilidad del Compuesto I-HS (es decir, la sal de hidrogenosulfato de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)pirrolidin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida). Los criterios de elegibilidad incluyeron edad de 1 a 21 años independientemente de la presencia de una alteración conocida de TRK, así como aquellos pacientes de 1 mes de edad o más con una fusión NTRK conocida y un diagnóstico de fibrosarcoma infantil o nefroma mesoblástico congénito. Se desarrolló una formulación líquida oral del Compuesto I-HS para pacientes que no pueden tragar cápsulas. Se usó el modelado de simulación pediátrica SimCyp® (CERTARA, Princeton, New Jersey) para establecer un enfoque farmacocinético para la dosificación que tiene en cuenta la edad del paciente, la ontogenia de las vías de depuración que eliminan el compuesto I-HS y el área de superficie corporal (BSA). Se predijo que la dosis pediátrica seleccionada para la cohorte inicial sería igual a la exposición lograda en pacientes adultos que tomaban una dosis de 100 mg dos veces al día, la dosis recomendada para adultos en la Fase 2. Los ciclos se miden en incrementos de 28 días con dosificación continua. Se programan evaluaciones de respuesta mediante modalidades de imágenes apropiadas cada ocho semanas. Los pacientes continúan con la terapia hasta que haya evidencia de progresión de la enfermedad o toxicidad intolerable.

Se proporcionó un kit que incluía un frasco ámbar graduado y sellado que contenía 7,6 g del compuesto I-HS; Un frasco sellado que contenía 51 g de CAVASOL® W7 HP Pharma; un frasco sellado que contenía 500 g de citrato trisódico dihidrato; un frasco sellado que contenía 100 ml de agua esterilizada; un frasco sellado de una pinta (~473 ml) de ORA-Sweet® SF; un embudo; un adaptador de frasco a presión de 28 mm; una caja que contenía 56 unidades de jeringas dosificadoras de un solo uso de 1 ml; una caja que contenía 56 unidades de jeringas dosificadoras de un solo uso de 5 ml; una etiqueta de un producto farmacéutico que indique la concentración del compuesto I-HS (20 mg/ml); e instrucciones de composición.

Se preparó una disolución líquida como se muestra en la figura 9. En primer lugar, se retiró el sello (tapa) del frasco que contenía CAVASOL® W7 HP Pharma. A continuación, usando el embudo, se añadió el contenido del frasco de 100 ml de agua esterilizada al frasco que contenía CAVASOL® W7 HP Pharma. Después se cerró el frasco con su tapón y el frasco que contenía CAVASOL® W7 HP Pharma y agua esterilizada se agitó hasta que todo el CAVASOL® W7 HP fue disuelto. Se dejaron pasar diez minutos para la disolución total del CAVASOL® W7 HP Pharma. Se inspeccionaron el fondo y los lados del frasco para asegurarse de que todo el CAVASOL® W7 HP Pharma se disolvió y no se aglomeró en el fondo ni se adhirió a los lados. A continuación, se dejó reposar el frasco sin agitación durante aproximadamente cinco minutos para permitir que las burbujas creadas a partir del CAVASOL® W7 HP Pharma

disuelto se disiparan. Después se retiró el sello (tapa) del frasco graduado que contenía el compuesto I-HS. Usando el mismo embudo de la etapa anterior, la disolución de CAVASOL® W7 HP Pharma se añadió al frasco graduado que contenía el compuesto I-HS. Se tapó el frasco y se agitó a mano hasta que se disolvió. Se permitió que las burbujas salieran a la superficie y el resultado fue una disolución roja transparente. Usando el mismo embudo anterior, se añadió 5 qs a 300 ml con el ORA-Sweet® SF suministrado. Se tapó el frasco graduado y se invirtió suavemente 10 veces para mezclar el ORA-Sweet® SF con la disolución del compuesto I-HS/CAVASOL® W7 HP teniendo cuidado de no introducir demasiadas burbujas en la formulación. A continuación, se pesaron 3,5 g de citrato trisódico dihidrato del recipiente provisto de citrato trisódico dihidrato y se añadieron, usando el segundo embudo del kit, a la formulación líquida y, posteriormente, se tapó el frasco y se invirtió diez veces. Se dejó que las burbujas subieran a la parte superior 10 y se inspeccionó el contenido del frasco para asegurarse de que todo el citrato trisódico dihidrato estuviera completamente disuelto; En caso contrario, el frasco se invertía 10 veces más. Posteriormente, se retiró la tapa del frasco graduado y se insertó en el frasco el adaptador de presión de 28 mm provisto (adaptador de jeringa). Después se cerró el frasco colocando la tapa de forma segura. Después se administró la formulación líquida en la cantidad deseada de Compuesto I-HS usando una jeringa de 1 ml o 5 ml, según el régimen de dosificación del paciente.

15 Resultados

Una niña, por lo demás sana, nació con una gran masa vascular en el lado derecho del cuello que se extendía hasta la cara y que inicialmente fue diagnosticada y tratada como un hemangioma congénito de involución rápida. A los 6 20 meses de edad, la masa creció rápidamente y la escisión quirúrgica/reducción de masa reveló el diagnóstico de IFS confirmado por una translocación de ETV6 mediante hibridación in situ fluorescente (FISH). Durante los primeros 7 días después de la operación, el tumor progresó rápidamente, invadiendo la cavidad oral. Se inició quimioterapia con vincristina, actinomicina-D y ciclofosfamida, pero el paciente experimentó progresión de la enfermedad durante el ciclo 1. Se inició un nuevo régimen de quimioterapia compuesto de ifosfamida y doxorubicina (ID) simultáneamente con la 25 cirugía de citorreducción y se colocó una traqueotomía por obstrucción orofaríngea. Dos cursos adicionales de ID y cuatro cursos de ifosfamida y etopósido tuvieron un impacto mínimo sobre el tumor. El tumor progresó hasta afectar la base del cráneo, los mastoides y la vasculatura cervical. En octubre de 2015, un equipo de cirujanos multidisciplinarios realizó una resección quirúrgica macroscópica, pero no se pudieron lograr márgenes quirúrgicos limpios.

30 Cinco semanas después de la resección quirúrgica, una resonancia magnética del cerebro y el cuello mostró una masa hiperrealzante de 20 mm x 19 mm x 18 mm que afectaba la base del cráneo de la fosa craneal media, justo anterior e inferior a las estructuras del oído interno (figura 10A y figura 10B). Se determinó que otra quimioterapia era 35 inútil debido a la falta de respuesta a todos los regímenes estándar. Se consideró que no era posible repetir la resección quirúrgica. La radioterapia terapéutica era posible, pero según la edad del paciente y la localización de la enfermedad, se esperaba que produjera secuelas devastadoras a largo plazo.

A la edad de 16 meses, el paciente se inscribió en el estudio pediátrico de fase 1 del inhibidor selectivo oral de TRK 40 Compuesto I-HS. Los padres notaron una mejora en el compromiso y el espíritu lúdico durante todo el ciclo 1. Al final del ciclo 1 (día 28), una resonancia magnética del cerebro y el cuello mostró una reducción significativa del tamaño y un aumento de la masa de más del 90 % con respecto al valor inicial (figura 10C y figura 10D). Las exploraciones 45 repetidas al final del ciclo 2 confirmaron la reducción de tamaño y mostraron una disminución continua en la mejora, lo que confirma la respuesta parcial (figura 10E y figura 10F). Durante los dos primeros ciclos, el paciente presentó fiebre e influenza A confirmada por PCR (considerada no relacionada), pero ningún evento adverso relacionado con el compuesto I-HS.

Ejemplo 6

50 Formulaciones líquidas de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida

Se preparó una formulación líquida de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida con los componentes enumerados en la Tabla 16.

55 Tabla 16. Una formulación líquida de (S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamida.

Nombre del material	% de peso (a)	Peso total de la formulación en gramos (b)	Cantidad teórica requerida (axb) / 100	Cantidad por frasco ⁽¹⁾
API de compuesto I-HS	2,05 %	171.648	3.518,8 gramos ⁽¹⁾⁽²⁾	1,47 g.
Agua purificada, USP	33,55 %		57.587,9 gramos	24,01 g.
KLEPTOSE® HPB Grado Parenteral EP, USP	14,55 %		24.974,8 gramos	10,48 gramos

Nombre del material	% de peso (a)	Peso total de la formulación en gramos (b)	Cantidad teórica requerida (axb) / 100	Cantidad por frasco ⁽¹⁾
ORA-SWEET®	48,51 %		83.266,4 gramos	34,93 g.
Citrato de sodio dihidrato granulado, USP (Spectrum)	0,94 %		1.613,5 gramos (1.694,2 gramos) ⁽³⁾	0,68 g.
Saborizante tipo enmascarante natural 231a12 (Abelei)	0,10 %		171,6 gramos	0,07 g.
Sabor tipo enmascarante del amargor natural 231a39 (Abelei)	0,20 %		343,3 gramos	0,14 g.
Sabor enmascarante de amargor, natural (FONA - líquido)	0,05 %		85,8 gramos	0,04 g.
Sabor modificador del sabor FONATEC®, Natural	0,05 %		85,8 gramos	0,04 g.

(1) Incluye un factor de corrección API de 0,8137. Cálculo: Peso molecular de base libre / Peso de la fórmula de sal = 428,441526 51. La densidad de la formulación líquida es de 1,2 mg. / ml.
(2) Reivindicación de etiqueta: -3.518,8 gramos Forma de sal APIx 0,8137/171,648 gramos de formulación total * 1,2 g/ml densidad * 1.000 mg/g.
(3) Incluye un 5 % adicional de la cantidad total de citrato de sodio añadido a la formulación para ajustar el pH, según sea necesario.

Referencias:

1. Wiesner y col., Nature Comm. 5:3116, 2014.
2. Vaishnavi y col., Nature Med. 19:1469-1472, 2013.
3. Greco y col., Mol. Cell. Endocrinol. 28:321, 2010.
4. Kim y col., PLoS ONE 9(3):e91940, 2014.
5. Vaishnavi y col., Nature Med. 19:1469-1472, 2013.
6. Fernandez-Cuesta y col., "Cross-entity mutation analysis of lung neuroendocrine tumors sheds light into their molecular origin and identifies new therapeutic targets", AACR Annual Meeting 2014, Abstract, Abril 2014.
7. Stransky y col., Nature Comm. 5:4846, 2014.
8. Ross y col., Oncologist 19:235-242, 2014.
9. Doebele y col., J. Clin. Oncol. 32:5s, 2014.
10. Jones y col., Nature Genetics 45:927-932, 2013.
11. Wu y col., Nature Genetics 46:444-450, 2014.
12. WO 2013/059740
13. Zheng y col., "Anchored multiplex PCR for targeted next-generation sequencing," Nature Med., publicado en línea el 10 de noviembre de 2014.
14. Caria y col., Cancer Genet. Cytoogenet. 203:21-29, 2010.
15. Frattini y col., Nature Genet. 45:1141-1149, 2013.
16. Martin-Zanca y col., Nature 319:743, 1986.
17. Meyer y col., Leukemia 21: 2171-2180, 2007.
18. Reuther y col., Mol. Cell. Biol. 20:8655-8666, 2000.
19. Marchetti y col., Human Mutation 29(5):609-616, 2008.
20. Tacconelli y col., Cancer Cell 6:347, 2004.

21. Walch y col., Clin. Exp. Metastasis 17: 307-314, 1999.
22. Papatsoris y col., Expert Opin. Invest. Drugs 16(3):303-309, 2007.
- 5 23. Van Noesel y col., Gene 325: 1-15, 2004.
24. Zhang y col., Oncology Reports 14: 161-171, 2005.
- 10 25. Truzzi y col., J. Invest. Dermatol. 128(8):2031, 2008.
26. Kolokythas y col., J. Oral Maxillofacial Surgery 68(6):1290-1295, 2010.
- 15 27. Ni y col., Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 13:1511, 2012.

20

25

30

35

40

45

50

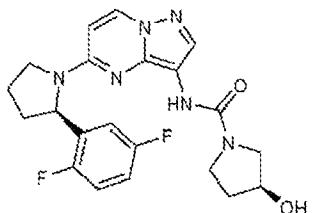
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Una formulación líquida que comprende (*S*)-N-(*(R*)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolina-1-carboxamida que tiene la fórmula (I):



(I)

una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o una combinación de las mismas,

un agente solubilizante; y
una base;
en donde:

la formulación tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5; y el compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o la combinación de los mismos, tiene una concentración de aproximadamente 15 mg/ml a aproximadamente 35 mg/ml en la formulación líquida.

2. La formulación líquida de la reivindicación 1, en donde el compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o la combinación de las mismas, tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml en la formulación líquida.

3. La formulación líquida de la reivindicación 1 o 2, en donde el agente solubilizante comprende una ciclodextrina.

- 35 4. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el agente solubilizante se selecciona del grupo que consiste en un derivado de β -ciclodextrina, una γ -ciclodextrina, y combinaciones de las mismas; preferiblemente una hidroxi alquil- γ -ciclodextrina; o en donde el agente solubilizante comprende una β -ciclodextrina seleccionada del grupo que consiste en una hidroxialquil- β -ciclodextrina, una sulfoalquil éter- β -ciclodextrina, y combinaciones de las mismas; preferiblemente hidroxipropil- β -ciclodextrina.

- 40 5. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el agente solubilizante está presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a aproximadamente 35 % en peso; preferiblemente aproximadamente 13 % en peso a aproximadamente 17 % en peso.

- 45 6. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la base comprende al menos uno de un citrato, un lactato, un fosfato, un maleato, un tartrato, un succinato, un acetato, un carbonato, o un hidróxido; preferiblemente la base comprende citrato de sodio dihidratado.

- 50 7. La formulación líquida de la reivindicación 6, en donde la base está presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 % en peso.

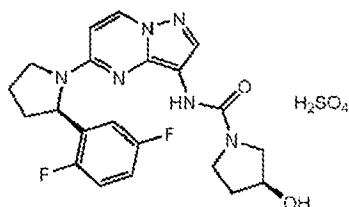
8. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la formulación tiene un pH de aproximadamente 3 a aproximadamente 4; preferiblemente aproximadamente 3,5.

- 55 9. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde la formulación líquida comprende además un edulcorante; preferiblemente el edulcorante es sacarosa o sucralosa.

10. La formulación líquida de la reivindicación 9, en donde el edulcorante está presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente 70 % en peso.

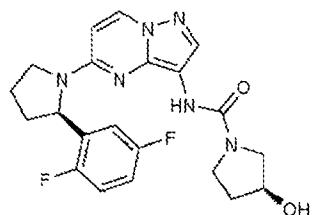
- 60 11. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde la formulación líquida comprende además un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso; preferiblemente aproximadamente 0,2 % en peso a aproximadamente 0,5 % en peso.

12. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde la formulación comprende además un agente saborizante que está presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 2 % en peso; preferiblemente aproximadamente 0,01 % en peso a aproximadamente 0,1 % en peso; y en donde el agente saborizante comprende al menos uno de un agente saborizante natural, un agente saborizante de fruta natural, un agente saborizante artificial, un agente saborizante de fruta artificial o un potenciador del sabor.
 13. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la formulación líquida se prepara a partir de una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I); preferiblemente la sal de hidrogenosulfato del compuesto de fórmula (I).
 14. La formulación líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, en donde la formulación líquida se prepara a partir de una forma cristalina del compuesto de fórmula (I) que tiene la fórmula (I-HS):



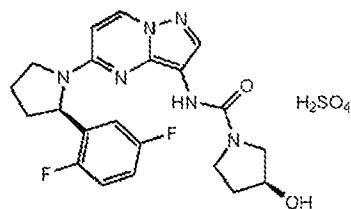
L-HS

- 25 15. Una formulación líquida según la reivindicación 1 que comprende:
(S)-N-(5-((R)-2-(2,5-difluorofenil)-pirrolidin-1-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-3-hidroxipirrolidina-1-carboxamina que tiene la fórmula (I):



11

- 40 una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o una combinación de las mismas,
un agente solubilizante presente en una cantidad de aproximadamente 5 % en peso a
aproximadamente 35 % en peso;
45 una base presente en una cantidad de aproximadamente 0,1 % en peso a aproximadamente 5 %
en peso;
un edulcorante presente en una cantidad de aproximadamente 30 % en peso a aproximadamente
70 % en peso;
un agente enmascarante del amargor presente en una cantidad de aproximadamente 0,2 % en peso
a aproximadamente 0,5 % en peso; y
50 un agente saborizante presente en una cantidad de aproximadamente 0,01 % en peso a
aproximadamente 2 % en peso;
en donde:
55 la formulación tiene un pH de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,5; y
el compuesto de fórmula (I), la sal farmacéuticamente aceptable del mismo o la
combinación de los mismos tiene una concentración de aproximadamente 20 mg/ml a
aproximadamente 30 mg/ml en la formulación líquida.
60 16. La formulación líquida de la reivindicación 15, en donde la formulación líquida se prepara a partir de una
forma cristalina del compuesto de fórmula (I) que tiene la fórmula (I-HS);



I-HS

- 10 17. La formulación líquida de la reivindicación 16, en donde la forma cristalina está **caracterizada por** que tiene picos de difracción XRPD (20 grados) en 18,4 ± 0,2, 20,7 ± 0,2, 23,1 ± 0,2 y 24,0 ± 0,2; o que tienen picos de difracción XRPD (20 grados) 10,7 ± 0,2, 18,4 ± 0,2, 20,7 ± 0,2, 23,1 ± 0,2, y 24,0 ± 0,2; o que tienen picos de difracción XRPD (20 grados) en 10,7 ± 0,2, 18,4 ± 0,2, 19,2 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, 20,7 ± 0,2, 21,5 ± 0,2, 23,1 ± 0,2, y 24,0 ± 0,2; o que tienen picos de difracción XRPD (20 grados) a 10,7 ± 0,2, 15,3 ± 0,2, 16,5 ± 0,2, 18,4 ± 0,2, 19,2 ± 0,2, 19,9 ± 0,2, 20,2 ± 0,2, 20,7 ± 0,2, 21,5 ± 0,2, 22,1 ± 0,2, 23,1 ± 0,2, 24,0 ± 0,2, 24,4 ± 0,2, 25,6 ± 0,2, 26,5 ± 0,2, 27,6 ± 0,2, 28,2 ± 0,2, 28,7 ± 0,2, 30,8 ± 0,2, y 38,5 ± 0,2.
- 15 18. Una formulación líquida según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17 para uso en un método de tratamiento del cáncer en un paciente que lo necesita.
- 20 19. La formulación líquida para uso de la reivindicación 18, en donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en un cáncer de cabeza y cuello, un cáncer de garganta, un cáncer de esófago o combinaciones de los mismos.
- 25

30

35

40

45

50

55

60

65

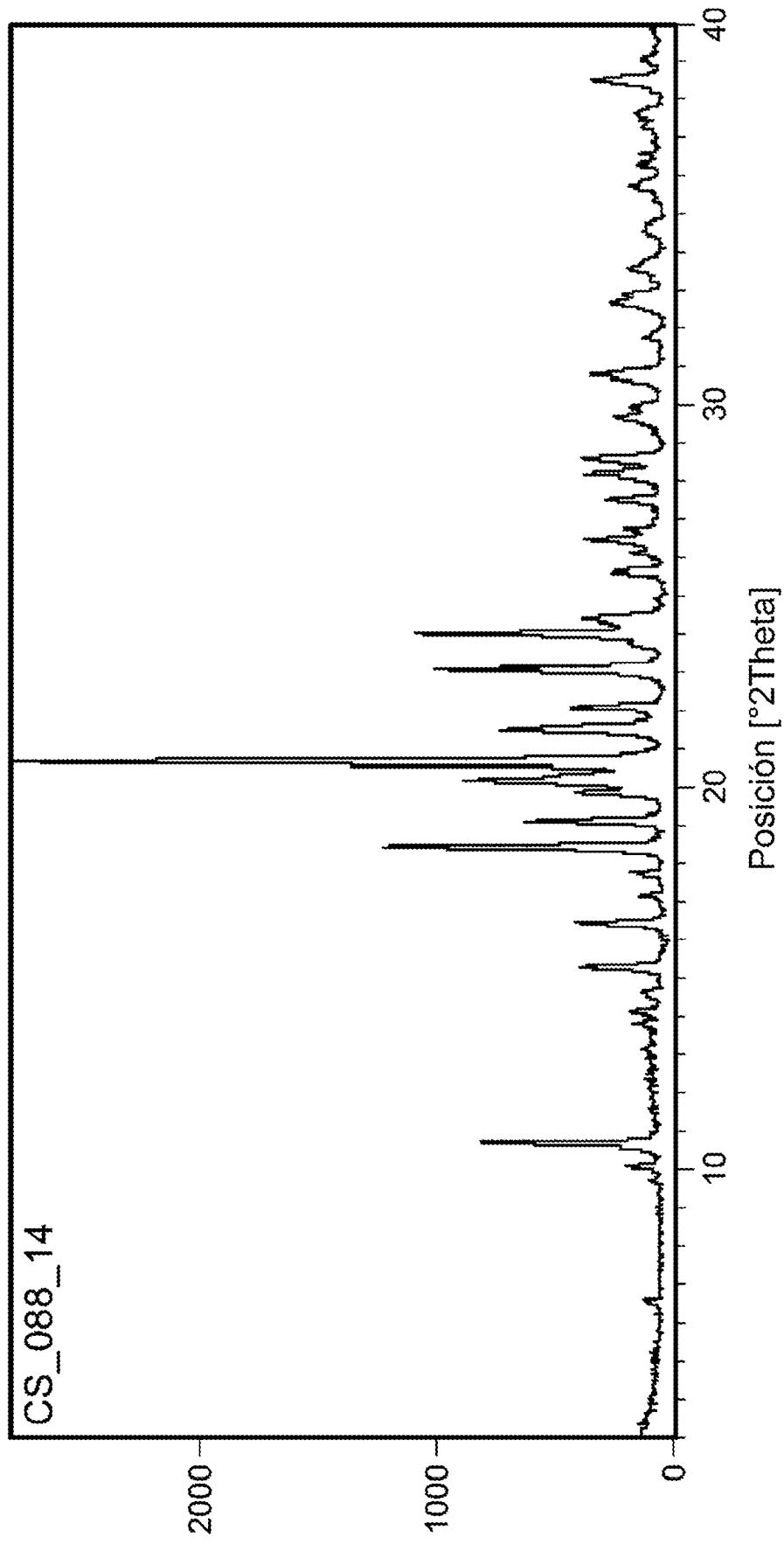


Figura 1

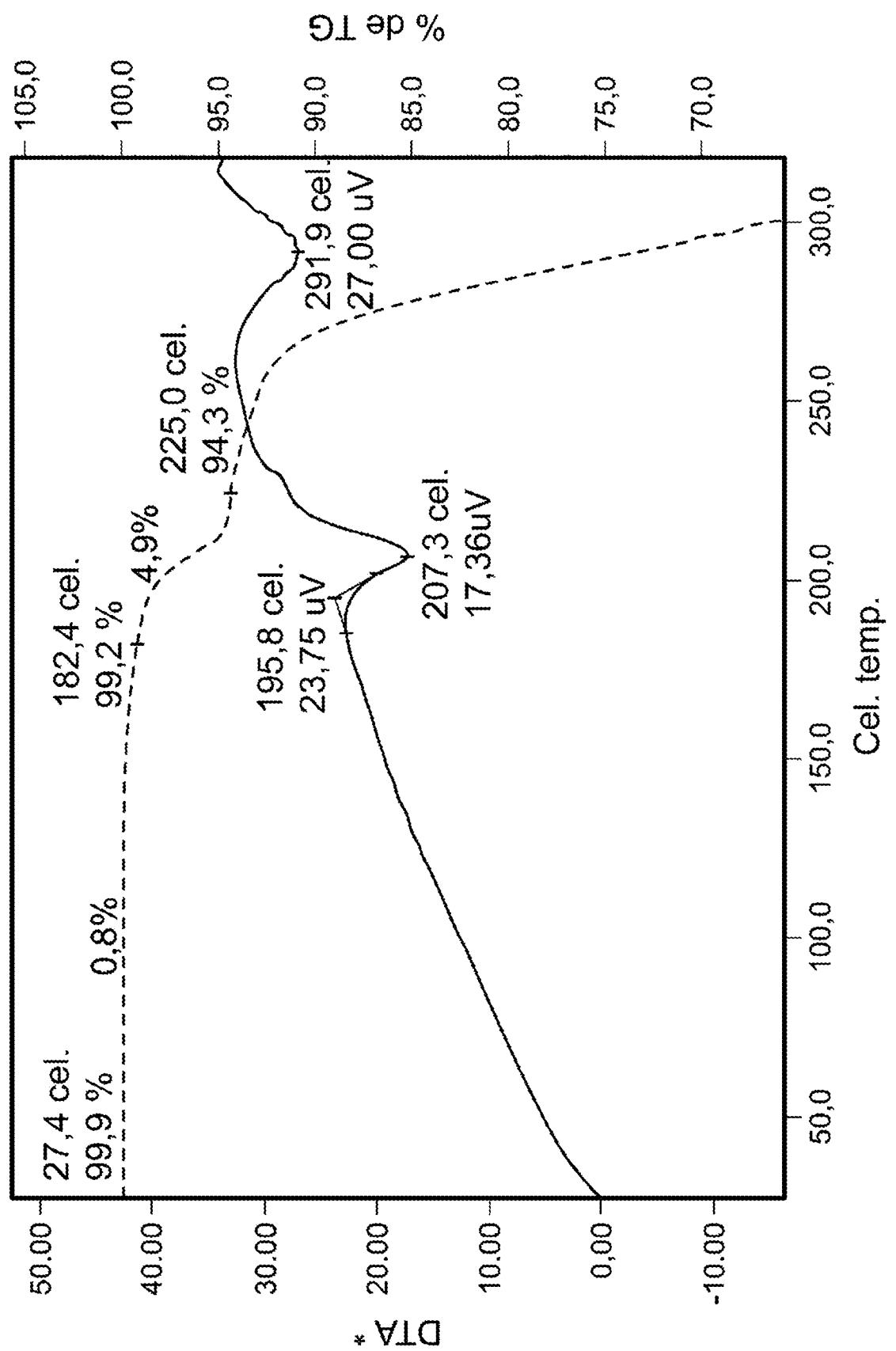


Figura 2

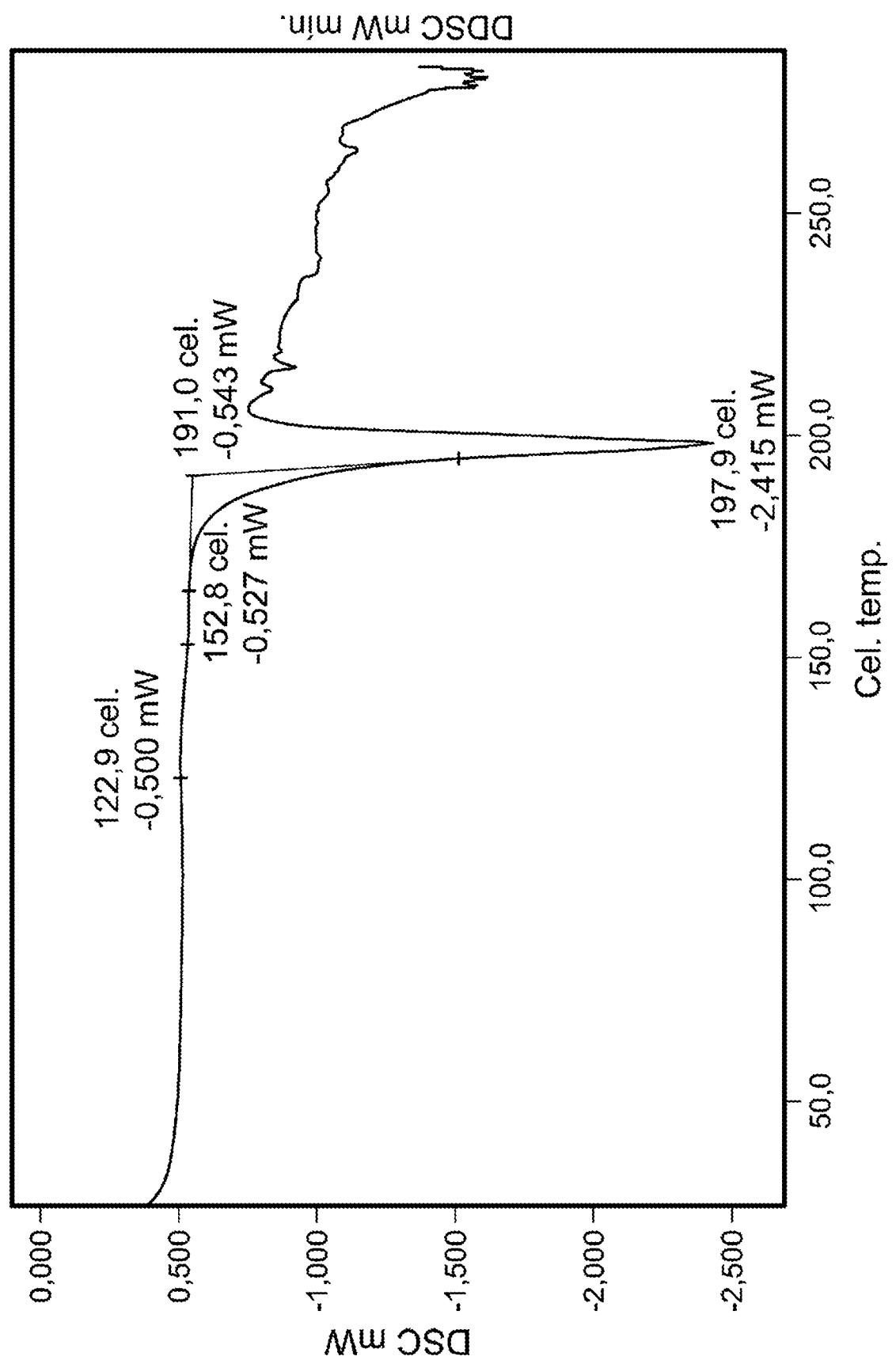
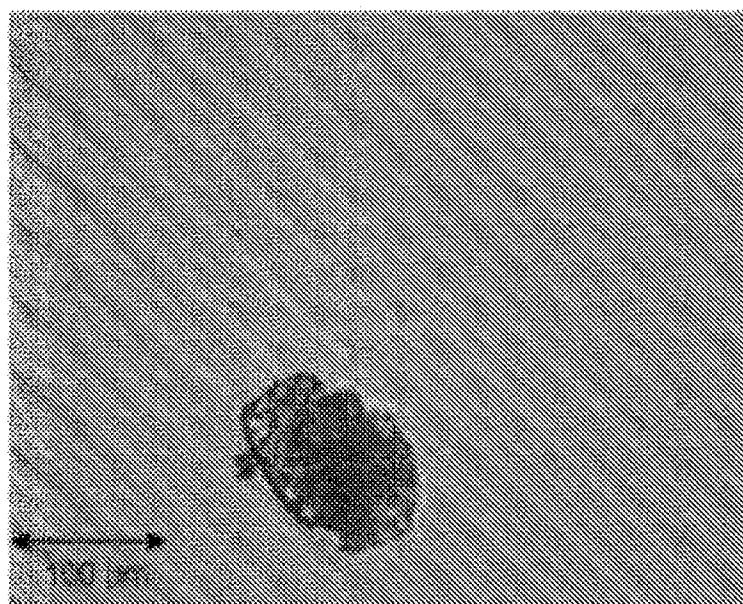
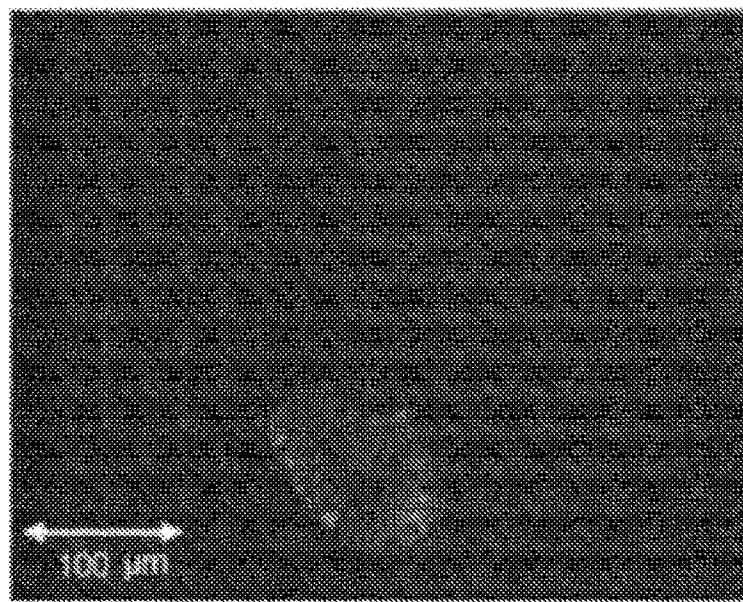


Figura 3



Luz no polarizada
Figura 4A



Luz polarizada
Figura 4B

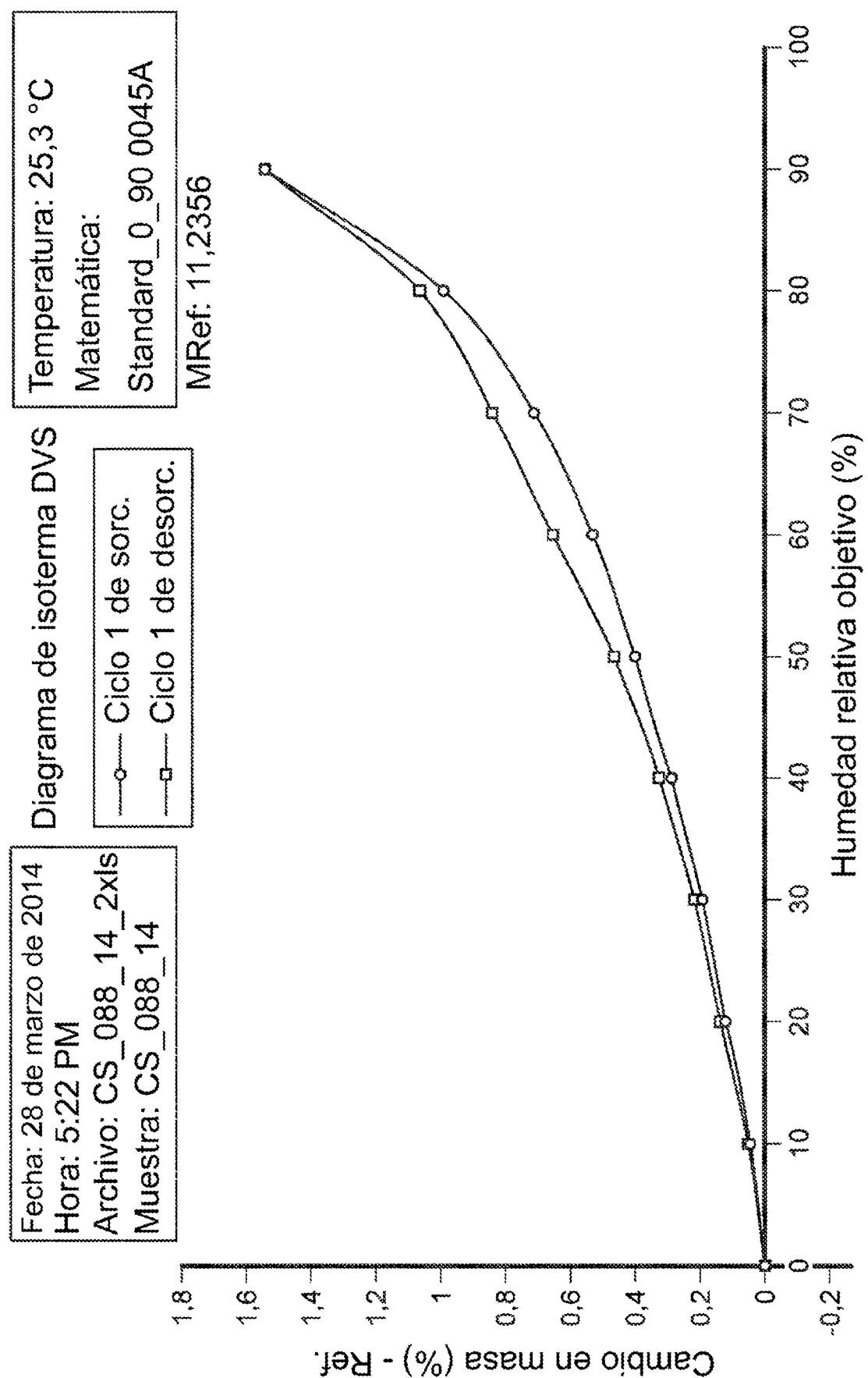


Figura 5

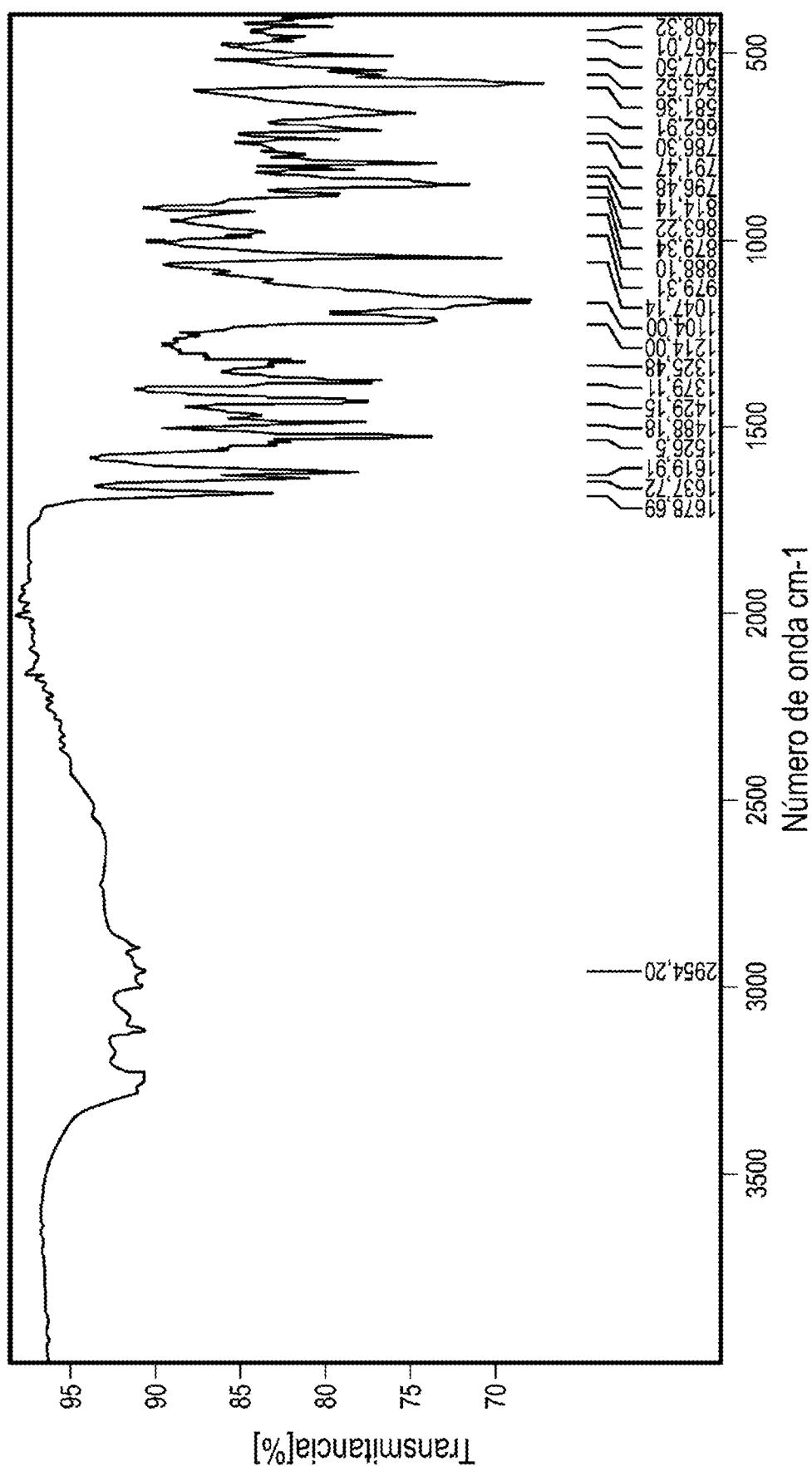


Figura 6

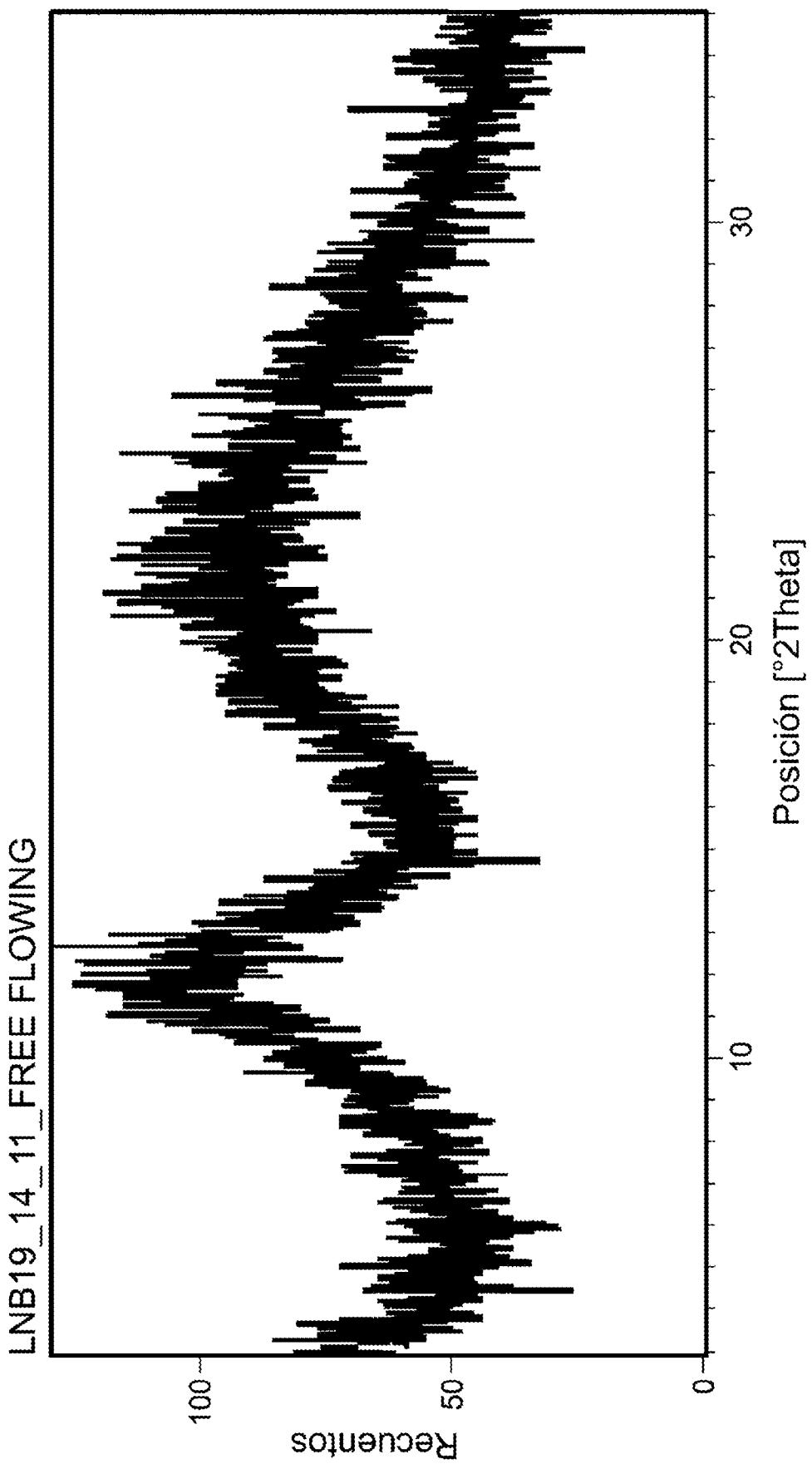


Figura 7

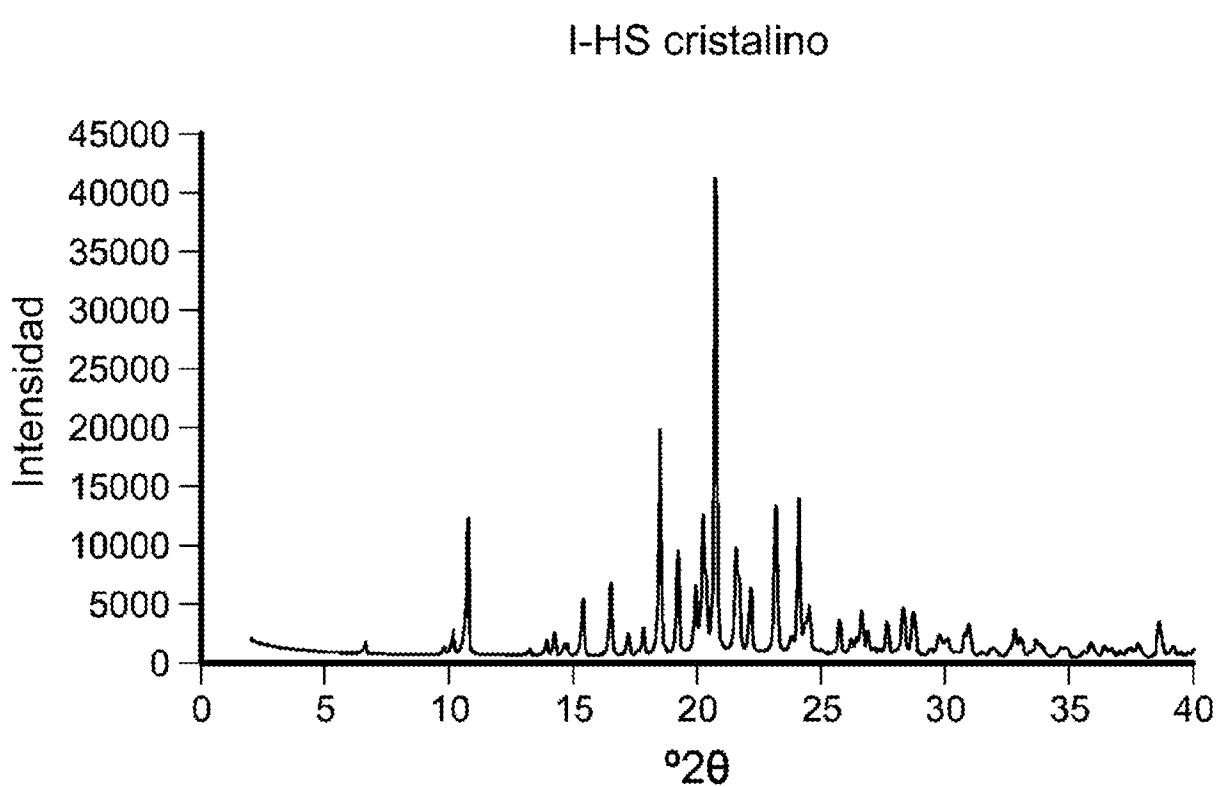


Figura 8

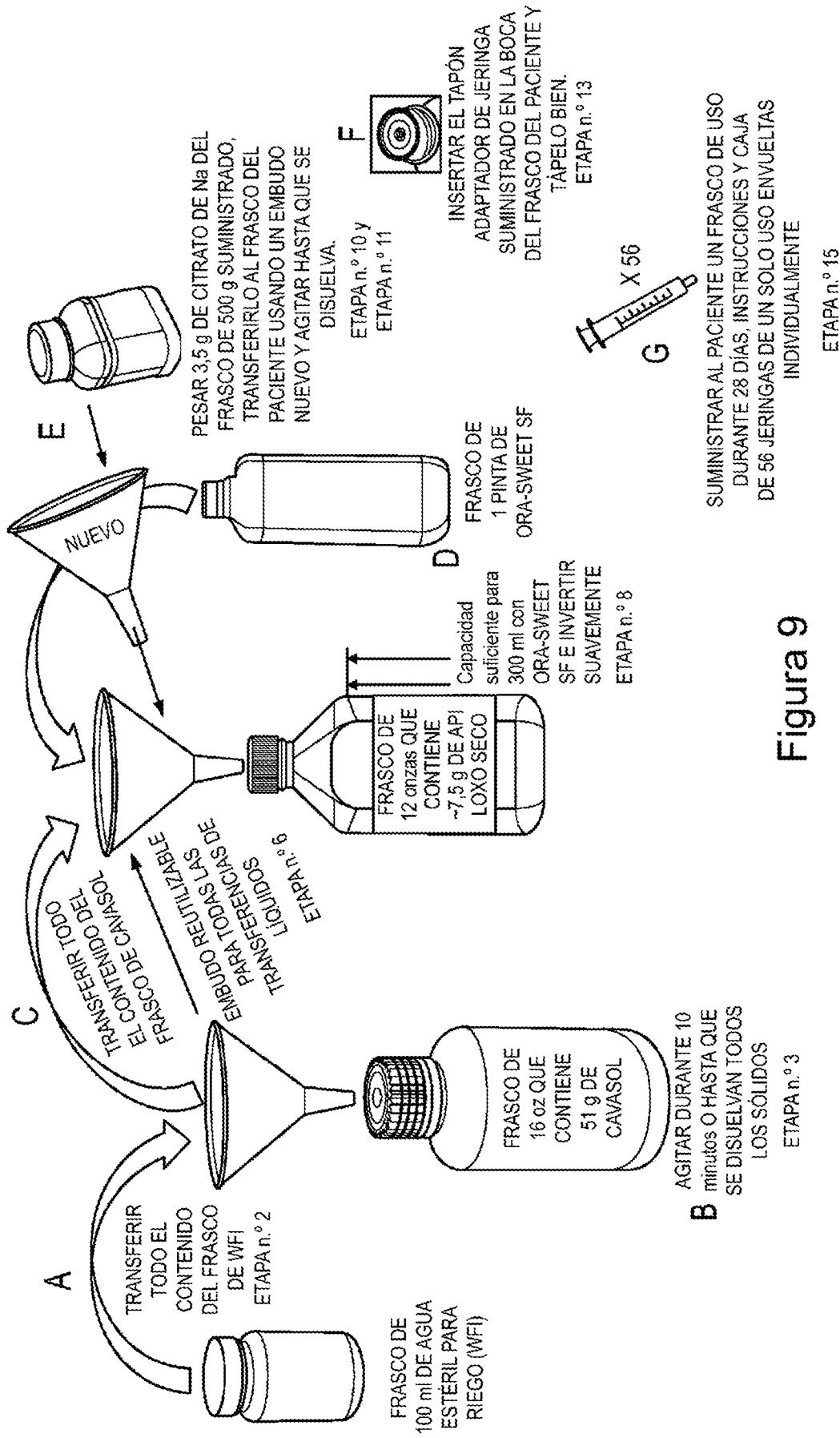


Figura 9

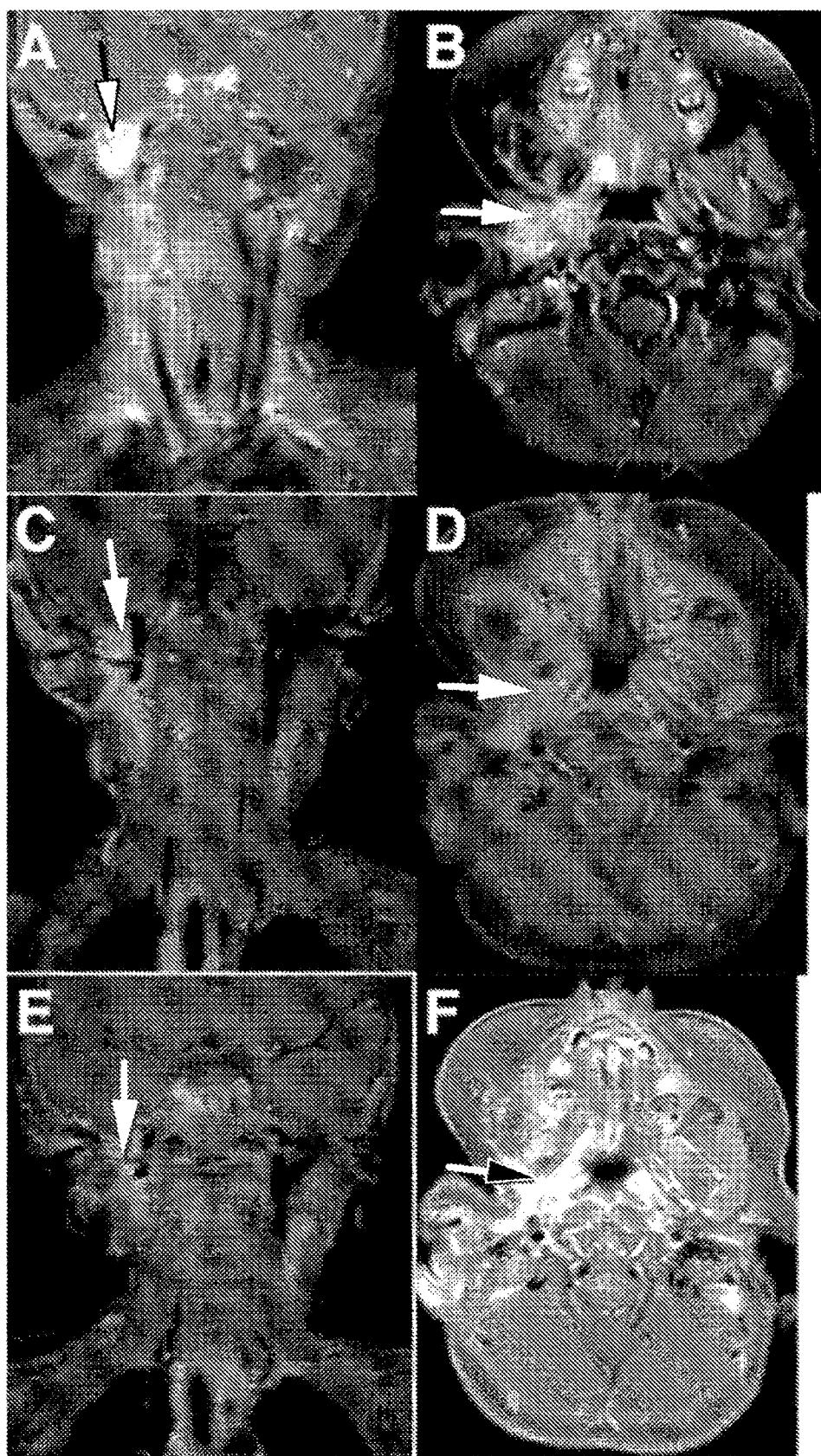


Figura 10

ES 2 987 474 T3

Id. de sec. n.º: 1

PRT

Homo sapiens

Precursor de la proteína TrKA silvestre

Los aminoácidos 1-32 codifican la secuencia señal

```
1 mlrggrrgql gwhswaaagpg sllawilas agaapcpdac cphgssgilrc trdgaldslh
 61 hlpagaenlte lyienqghlq hlelrdrlgl gelrnltivk sglrfvapda fhftprlsrl
121 nlsfnalesl swktvqglsl qelvlsgrpl hcscalrwlq rweeeqlggv peqklqchqq
181 gplahmpnas cgypptikvqv pnasvdvgdd vllrcqvegr gleqagwilt eleqsatvmk
241 sglplslglt lanvtsdlnr knvtcwaeend vgraevsvqv nvsfpasvql htavemhhwc
301 ipfsvdggpa pslwlfngs vlnetsfift eflepaanet vrhgclrlnq pthvnngnyt
361 llaanpfqqa sasimaafmd npfefnpedp ipvsfspvdt nstsgdpvek kdetpfgvsv
421 avglavfacl flstlllvln kgrrnkfgi nrpavliaped glamslhfmt lggsslispte
481 gkgsglqghi ienpqyfsda cvhhikrrdi vlkwelgega fgkvflaech nllpeqdkml
541 vavkalkeas esarqdfqre aelltmhq hivrffgvt egrpllmvfe ymrhgdlnrf
601 lrshgpdkl laggedvapg plglgqllav asqvaagmv yaglhfvhrd latrnclvgq
661 glvvkigdfg msrdiystdy yrvggrtmvp irwmppesil yrkfittesdv wsfgvvlei
721 ftygkqpwyq lsnteaaidci tggrelerpr acpprevyaim rgcwqrepqq rhsikdvhar
781 lqalaqappv yldvlg
```

[www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/94730402?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0)

Figura 11

Id. de sec. n.º: 2

PRT

Homo sapiens

Precursor de la proteína TrkB silvestre

Los aminoácidos 1-31 codifican la secuencia señal

1 msswirwhgp amarlwgfcw lvvgfwraaf acptsckcsa sriwcsdpsp givafprlep
61 nsvdpenite ifianqkrle iineddvaeay vglrnltivd sgikfvahka flknsnlqhi
121 nftrnkitsl srkhfrhidl selilvgnpf tcscdimwik tlpeaksspd tqdlycines
181 sknipllanlq ipncglpsan 1aapnlvvee gksitlscsv agdpvpnmyw dvgnlvsxhm
241 netshtqgsl ritnissdds gkqiscvaen lvgedqdsvn ltvhfaptit flesptsdhh
301 wciopftvkgn pkpalqwfyn gailneskyi ctkihvttnht eyhgclqldn pthmnngdyt
361 liakneygkd ekqi.sahfmg wpgiddganp nypdviyedy gtaandigdt tnrnsneipst
421 dvtddktgreh lsvyavvvia svvgfc11vm lfl1klarhs kfgmkgpasv isndddsasp
481 lhhisngsnt pssseggpda viigmktkipv ienpqyfgit nsqlikpdtfv qhikrhnivi
541 krelgegafg kvflaecynl cpeqdkilva vktlkdasdn arkdfhreae lltnlqhehi
601 vkfygvcveg dplimvfeym khgdlnkflr ahgpdav1ma egnppteltq sqmlhiaqqi
661 aagmvylasq hfvhrlatn nclvgenllv k1gdfgmsrd vystdyrrvg ghtmlpirwm
721 ppesimyrkf ttesdvws1g vvlweifftyg kqpwyqlsn eviecitqgr vlqrprtcpq
781 evyelmlqcw qrephmrkni kgih1llqnl akaspvyldi lg

[www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log\\$=protalign&blast_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2497560?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0)

Figura 12

Id. de sec. n.º: 3

PRT

Homo sapiens

Precursor de la proteína TrkC silvestre

Los aminoácidos 1-31 codifican la secuencia señal

```
1 mdvslcpakc sfwrfifllgs wldyvgsvl acpancvcsk teincrrpdd gnlfpllegq
 61 dsgnsngnas initdisrni tsihienwrs lhtlnavdme lytqlqklti knsglrsiqp
121 rafaknphlr yinlessnrlt tlswqlfqtl slrelqleqn ffncscdirw mqlwqegea
181 klnsqnlyci nadsqlplf rmnisqcdlp eisvshvnlt vregdnavit cngsgsplpd
241 vdwiwtglqs inthgtnlnw tnvhainltl vnvtshedngf tltciaenvv gmsnasvalt
301 vyyprrvvsl eepelrlehc iefvvrgnpp ptlhwlhngq plreskiihv eyyqegeise
361 qcllfnkpth ynngnytlia knplgtanqt inghflkepf pestdnfilf devsptppit
421 vthkpeedtf gvsiaavglaa facvllvvlf vmainkygrs kfgmkgpvav isgeedsasp
481 lhhinhgitt pssltagpdt vvigmtripv ienpqyfrqg hnchkpdtv qhikrrdivi
541 krelgegafg kvflaecynl sptkdkmlva vkalkdptla arkdfqreae lltnlqhehi
601 vkfyvgvcgdg dplimvfeym khgdlnkflr ahgpdamilv dgqprqakge lglsqmlhia
661 sqiasgmvyl asqhfvrndl atrnclvgan llvkigdfgm srdvystdyy rlfnpsgndf
721 ciwcevgght mlpirwmppe simyrkfitts sdvwsfigvil weiftygkqp wfqlsnsnevi
781 ecitqgrvle rprvcpkely dvmlgcwqre pqqrlnikei ykilhalgka tpiyldilg
```

[www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/134035335?report=genbank&log\\$=protalign&b
last_rank=0&RID=0](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/134035335?report=genbank&log$=protalign&blast_rank=0&RID=0)

Figura 13