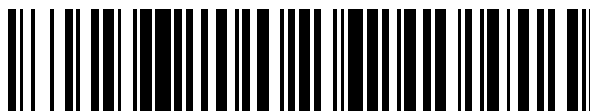


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 556 583**

51 Int. Cl.:

A61K 31/39 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 35/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2012** **E 12759678 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015** **EP 2755650**

54 Título: **Utilización de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina para el tratamiento de cáncer y en particular para la prevención y/o el tratamiento de las metástasis cancerosas**

30

Prioridad:

13.09.2011 FR 1158148

45

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

19.01.2016

73

Titular/es:

PIERRE FABRE MÉDICAMENT (100.0%)
45, Place Abel Gance
92100 Boulogne-Billancourt, FR

72

Inventor/es:

VACHER, BERNARD y
LE GRAND, BRUNO

74

Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 556 583 T3

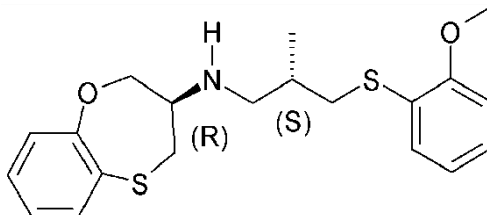
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Utilización de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina para el tratamiento de cáncer y en particular para la prevención y/o el tratamiento de las metástasis cancerosas.

La invención se refiere a la utilización de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en el tratamiento del cáncer y en particular en la prevención y/o el tratamiento de metástasis cancerosas.

En la solicitud de patente WO 02/081464 se describen la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metil-propil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina representada por la fórmula:



sus sales farmacéuticamente aceptables y su utilización en el tratamiento de la angina de pecho, de la insuficiencia cardíaca, del infarto de miocardio y de los trastornos del ritmo cardíaco,.

El cáncer puede ser definido de manera muy amplia como una enfermedad relacionada con la proliferación y la difusión incontrolada de células del organismo que se han convertido en anormales. Es una de las principales causas de mortalidad en los países desarrollados y el número de casos nuevos está en constante aumento. Sin embargo, gracias entre otras cosas a los progresos de los tratamientos anticancerosos, la tasa de mortalidad por cáncer ha disminuido significativamente. Los tratamientos anticancerosos incluyen, dependiendo del tipo y grado de la evolución de la enfermedad, la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia. En la mayoría de los casos, se requiere una combinación de dos o tres enfoques.

La radioterapia es un método de tratamiento regional local de los cánceres, que usan radiaciones ionizantes para destruir las células cancerosas dejando al mismo tiempo la mayor cantidad posible del tejido sano circundante. La quimioterapia consiste en la utilización de sustancias que pueden matar o limitar la proliferación de las células cancerosas.

Cuando se detecta un cáncer en un estado precoz, es decir antes haya metástasis, el pronóstico es relativamente bueno. En la práctica, sin embargo, esto solo representa aproximadamente el 30% de los casos. El tumor, llamado tumor primario se trata entonces por lo general a nivel local por cirugía y/o radioterapia; los pacientes pueden recibir quimioterapia adicional para reducir el riesgo de recurrencia y de aparición de tumores secundarios, o metástasis.

Muchos tipos de cáncer tienen la capacidad de formar metástasis que pueden estar distantes del tumor primario y pueden ocurrir varios años después del tratamiento de un tumor primario. Este fenómeno puede explicarse por la existencia de micrometástasis pre-angiogénicas o de células que no se dividen por un periodo de tiempo prolongado en la o las zonas secundarias. En cancerología el término metástasis denota tumores secundarios que se forman a partir de células de un tumor primario, identificado o no. El término micrometástasis se emplea cuando el tamaño de estos tumores secundarios no excede de 2 mm.

Aunque las células metastásicas se originen del tumor primario, no son exactamente idénticas a las células de este último. De hecho, estas células deben adquirir un cierto número de características que les permite la transición de las células del fenotipo canceroso al metastásico. Sin embargo, la metástasis es un fenómeno complejo, abreviado en la presente memoria como "proceso metastásico", durante el cual las células cancerosas dejan el tumor primario y migran a otras partes del cuerpo utilizando el sistema linfático y/o sanguíneo. El proceso metastásico se puede dividir en una pluralidad de etapas: 1) las células cancerosas se desprenden del tumor primario y se unen degradándolas en las proteínas que componen la matriz extracelular que separa el tejido circundante del tumor, 2) una vez que rota la matriz, se infiltran en los tejidos circundantes, incluyendo los vasos linfáticos y/o sanguíneos, 3) sobreviven entonces en la circulación y son transportadas hasta los sitios secundarios en donde emergen por extravasación, 4) se fijan en un tejido y proliferan después de la activación del microentorno de la inducción de la angiogénesis para formar una metástasis.

El término angiogénesis denota el conjunto de procesos que conducen a la formación de nuevos capilares sanguíneos a partir del sistema vascular preexistente.

En la mayoría de los casos de cáncer, la mortalidad no se debe al tumor primario, sino a las metástasis que se desarrollan y se multiplican a nivel de uno o varios órganos.

El tratamiento de los cánceres metastásicos se basa principalmente en la quimioterapia; empleándose la radioterapia y/o la cirugía generalmente como complemento para aliviar algunos síntomas. En la práctica, sin embargo, los tratamientos de quimioterapia sistémica son ineficaces en las metástasis y no tienen efecto sobre el propio proceso de metástasis.

Se ha desarrollado otra estrategia que consiste no en destruir las metástasis sino más bien en impedir su crecimiento más allá de unos pocos milímetros frenando la angiogénesis tumoral por medio de sustancias que bloquean la proliferación de las células del endotelio vascular.

Las sustancias anti-angiogénicas empleadas en los tratamientos anticancerosos incluyen bevacizumab, sorafenib y sunitinib. El bevacizumab es un anticuerpo monoclonal que se une a todas las isoformas del factor de crecimiento vascular (VEGF) e impide su unión a los receptores del VEGF. El sorafenib y el sunitinib son unos inhibidores no selectivos de los receptores de tirosina quinasa, especialmente los del VEGF. Las sustancias antiangiogénicas tienen una actividad anti-metastásica indirecta ya que mejoran el suministro de los agentes quimioterapéuticos a pesar de que no interfieren con el propio proceso metastásico. Sin embargo dichos medicamentos tienen graves desventajas: 1) reducen la densidad de los microvasos tisulares e interfieren con procesos normales de reparación, 2) agravan las enfermedades coronarias, causan hipertensiones arteriales y trombosis, 3) no existen factores predictivos de la respuesta o de la aparición de resistencia, y 4) su coste es muy elevado.

Dadas las limitaciones de los tratamientos actuales, hay una necesidad médica real de sustancias que tengan la capacidad de prevenir las metástasis en pacientes que sufren de cáncer. Además, es altamente deseable que estas sustancias tengan unas propiedades anti-metastásicas directas, por lo tanto complementarias a las de los medicamentos existentes.

Se han descrito los canales iónicos como implicados en los mecanismos de invasión y de migración necesarios para la formación de metástasis (Arcangeli *et al.*, 2009, Curr. Med. Chem. 16, 66-93). Los canales anormalmente expresados en las células de cáncer, incluyen el canal sódico dependiente de voltaje Nav1.5 (Onkal y Djamgoz 2009, Eur. J. Pharmacol. 625, 206-219). En la presente invención, el término "Nav1.5" designa los canales sódicos dependientes de voltaje cuya subunidad alfa que constituye el poro del canal está codificada por el gen SNC5A (también conocido como Hi) localizado en el cromosoma 3. La subunidad alfa puede estar asociada a una o varias subunidades auxiliares (denominadas subunidad(es) beta) codificada(s) por los genes SNC1B, SNC2B, SNC3B, SNC4B que se encuentran en los cromosomas 11 y 19.

Por lo tanto, se demostró que la expresión de canales Nav1.5 funcionales en las células de cáncer de ovario aumenta en gran medida su potencial metastásico (Gao *et al.* 2010, Oncology Reports 23, 1293-1299). Del mismo modo, unos canales Nav1.5 funcionales se han detectado en biopsias de cáncer de mama (Brisson *et al.*, 2011 Oncogene 30, 2070-2076) o el colon (House *et al.*, 2010, Cancer Res. 70, 6957-6967) altamente metastásicos, mientras que no se encuentran en células sanas de los tejidos correspondientes o en las de tumores poco o no metastásicos. Unos canales Nav1.5 también se han detectado en varias líneas tumorales y biopsias de cánceres de pulmón (Roger *et al.*, 2007, Int. J. Biochem. Cell. Biol. 39, 774-786). La expresión o la sobreexpresión de los canales del tipo Nav1.5 se ha propuesto además como herramienta de diagnóstico del potencial metastásico de las células cancerosas (Fraser *et al.*, 2005, Clin. Cancer Res. 11, 5381-5389). También se ha sugerido que el efecto beneficioso de los ácidos grasos insaturados con cadenas largas en los cánceres de mama, de colon y de próstata podría estar relacionado con sus propiedades inhibitorias de la corriente sódica Nav1.5, aunque su mecanismo de acción no se conozca (Gillet *et al.* 2011, Biochimie 93, 4-6). Unos experimentos *in vitro* indican que unos bloqueadores del canal Nav1.5, tales como la tetrodotoxina o unos anticuerpos policlonales dirigidos contra la forma neonatal del canal Nav1.5 atenúan el potencial metastásico en varias líneas de células cancerosas (Chioni *et al.* 2005, J. Neurosci. Methods 147, 88-98).

Así, un haz de elementos indica que la corriente sódica producida por el canal Nav1.5 juega un papel principal en el proceso metastásico de las células cancerosas, por lo menos en ciertos tipos de cánceres, en particular los cánceres de mama, de pulmón, de próstata, de colon, de vesícula, de ovario, de testículos, de piel, de tiroides, o cáncer gástrico. Los mecanismos por los cuales los canales Nav1.5 potencian la formación de metástasis no han sido dilucidados pero se han propuesto varias hipótesis, por ejemplo, la modificación de la adhesión, la regulación de las enzimas proteolíticas. En conclusión, el canal Nav1.5 aparece por lo tanto como una diana potencial para la prevención de la formación de las metástasis.

Sin embargo, dado el papel ubicuitario del canal Nav1.5, su utilización como diana terapéutica para la puesta a punto de un agente anticanceroso y/o anti-metastásico es complicada. De hecho, el canal Nav1.5 se distribuye ampliamente en el organismo, en particular a nivel de las células cardíacas y vasculares (Goldin, 2001, Annu. Rev. Physiol. 63, 871-894).

En los cardiomiocitos, la apertura del canal Nav1.5 desencadena una corriente sódica entrante que puede desactivarse según por lo menos dos modos, cada uno caracterizado por la cinética de cierre del canal: la inactivación rápida y la inactivación lenta. La inactivación rápida genera la corriente Nav1.5 "rápida" que dura sólo

unos pocos milisegundos, mientras que la inactivación lenta produce la corriente llamada "lenta" que dura varias decenas de milisegundos. La corriente rápida Nav1.5 juega un papel fundamental en el funcionamiento normal del corazón donde activa y asegura la propagación del potencial de acción cardíaca. Por el contrario, el de la corriente lenta de material no parece importante en el funcionamiento normal del corazón y solo se produce o se amplifica significativamente en las células cardíacas y vasculares sometidas a estrés (Bocquet *et al.* 2010 Br. J. Pharmacol. 161, 405-415).

Sorprendentemente, los inventores han demostrado que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina que es un inhibidor selectivo de la corriente Nav1.5 lenta, también bloquea la corriente sódica generada por los canales sódicos Nav1.5 presentes en las células cancerosas, abreviado en la presente memoria como "corriente Nav1.5 metastásica".

Basándose en esta observación, se desprende que la corriente Nav1.5 metastásica y la corriente Nav1.5 lenta tienen características biofísicas suficientemente similares para ser reconocidas ambas por la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina.

También se desprende que la corriente Nav1.5 metastásica y la corriente Nav1.5 rápida cardíaca son de hecho separables. En efecto, los inventores han demostrado que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina no afecta el funcionamiento normal del sistema cardiovascular bajo el control de la corriente Nav1.5 rápidas, incluso a altas dosis. La 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina tiene por lo tanto la selectividad de acción requerida para su utilización como un agente anti-metastásico porque bloquea la corriente Nav1.5 metastásica sin interferir con la corriente Nav1.5 rápida necesaria para el funcionamiento normal del corazón y de los vasos.

Los inhibidores/bloqueadores de canal Nav1.5 incluyen numerosos compuestos no-selectivos Nav1.5 tales como toxinas naturales, moléculas terapéuticas (por ejemplo, anestésicos, antiarrítmicos) e insecticidas (Anger *et al.*, 2001, J. Med. Chem. 44, 115-137). Sólo dos fármacos se describen como bloqueadores preferenciales de la corriente Nav1.5 lenta cardíaca: ranolazina (RN 95635-55-5) y riluzol (RN 1744-22-5), pero son relativamente ineficaces y poco selectivos con respecto a dicha corriente. Por otra parte, interactúan con otras dianas moleculares diferentes al canal Nav1.5. De manera interesante, se ha reportado que el riluzol tiene actividad anti-metastásica en melanomas, sin embargo, esta actividad utiliza otros mecanismos distintos a la inhibición de la corriente sódica Nav1.5 lenta (US 20100221246; Biechele *et al.*, 2010, Chemistry and Biology 17, 1177-1182; Wu *et al.* 2009, NeuroToxicology 30, 677-685).

Por lo tanto, la presente invención proporciona un nuevo medio para combatir el cáncer y más particularmente prevenir o tratar sus metástasis actuando directamente a nivel del proceso metastásico, lo cual ningún agente existente es capaz de realizar.

Aunque el canal Nav1.5 haya sido identificado en diversos tipos de cánceres metastásicos como los de mama, de pulmón, de próstata, de colon, es evidente que la utilización de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina no se limita a dichas formas de cáncer sino que se extiende a todos los cánceres cuyas células expresan, entre otras cosas, el canal Nav1.5.

Más específicamente y a modo de ejemplo, se muestra de acuerdo con la invención que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables bloquean la corriente Nav1.5 metastásica en una línea tumoral humana de cáncer de mama altamente metastásica. Dada la relación establecida entre la corriente producida por los canales Nav1.5 presentes en las células cancerosas y su propensión a formar metástasis, detectar propiedades inhibitorias de dicha corriente es de esta manera equivalente a detectar propiedades anti-metastásicas. Además, los inventores han demostrado que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina no era citotóxica.

La presente invención tiene por objeto la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para su utilización como medicamento destinado al tratamiento del cáncer y más particularmente para prevenir o tratar sus metástasis.

En la presente invención, la expresión "farmacéuticamente aceptable" se refiere a entidades moleculares y a composiciones que no producen ningún efecto adverso o alérgico o cualquier otra reacción indeseable cuando se administran a un ser humano. Cuando se usa en la presente memoria, la expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier diluyente, adyuvante o excipiente, tales como agentes conservantes, agentes de relleno, agentes disgregantes, humectante, emulsionante, dispersante, antibacteriano o antifúngico, o también agentes que permitirían retrasar la absorción y la resorción intestinal y digestiva. La utilización de estos medios o vectores es muy conocido por el experto en la materia.

Se designa por "sales farmacéuticamente aceptables" de un compuesto, unas sales que son farmacéuticamente aceptables, como se define en la presente memoria, y que poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto precursor. Dichas sales comprenden: las sales de adición de ácido formadas con ácidos minerales tales

como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido nítrico, el ácido fosfórico y similares o formadas con ácidos orgánicos tales como el ácido acético, el ácido bencensulfónico, el ácido benzoico, el ácido canforsulfónico, el ácido cítrico, el ácido etanosulfónico, el ácido fumárico, el ácido glucoheptónico, el ácido glucónico, el ácido glutámico, el ácido glicólico, el ácido hidroxinaftoico, el ácido 2-hidroxi-etansulfónico, el ácido láctico, el ácido maleico, el ácido málico, el ácido mandélico, el ácido metansulfónico, el ácido mucónico, el ácido 2-naftalensulfónico, el ácido propiónico, el ácido salicílico, el ácido succínico, el ácido dibenzoil-L-tárrico, el ácido tárrico, el ácido p-toluensulfónico, el ácido trimetilacético, el ácido trifluoroacético y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen las formas de adición de solventes (solvatos) o las formas cristalinas (polimorfos) como se definen en la presente memoria, de la misma sal de adición de ácido.

La invención también se refiere la utilización de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en pacientes que presentan uno(s) tumor(es) canceroso(s) cuyas células expresan, entre otras cosas, el canal sódico dependiente de voltaje Nav1.5.

La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica que contiene como agente activo la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su utilización en el tratamiento del cáncer y más particularmente para prevenir o tratar la metástasis cancerosas. De una manera preferida, los cánceres afectados por la composición de la presente invención son los de: mama, pulmón, próstata, colon, vesícula, ovario, testículos, piel, tiroides o gástrico.

De una forma preferida, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención está dirigida a los pacientes cuyas células tumorales expresan, entre otras cosas, el canal Nav1.5. La presencia de dicho canal en las células tumorales del paciente puede ser revelada por la presencia del ARN mensajero del gen SCN5A y/o la proteína del canal en sí. El ARN mensajero y/o la proteína se pueden detectar por medio de técnicas bien conocidas por el experto en la materia tales como, por ejemplo, la PCR (Polymerase Chain Reaction), transferencia de Western o hibridación *in situ*. Las células se pueden obtener a partir de extracciones efectuadas a nivel del tumor primario, de metástasis, de ganglios linfáticos o sanguíneos y pueden ser analizadas directamente o puestas en cultivo *in vitro* antes de ser analizadas.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención se puede administrar con uno u otros agente(s) activo(s), tal como un agente anticanceroso, o en asociación con un tratamiento radioterapéutico o quirúrgico, o con una combinación de estos últimos. La administración puede entonces ser simultánea, separada o escalonada con respecto a los otros tratamientos. También se puede utilizar en toda la duración o en un periodo más corto o más largo que el del otro tratamiento anticanceroso.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se formulan para la administración al ser humano. Las composiciones de acuerdo con la invención se pueden administrar por vía oral, sublingual, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, local o rectal o también intranasal. En este caso, el principio activo se puede administrar en formas unitarias de administración, mezclado con soportes farmacéuticos clásicos, a los seres humanos. Las formas unitarias de administración apropiadas comprenden las formas por vía oral tales como los comprimidos, las cápsulas, los polvos, los gránulos y las soluciones o suspensiones orales, las formas de administración sublingual y bucal, las formas de administración subcutánea o transdérmica, tópica, intramuscular, intravenosa, intranasal o intraocular, las formas de administración rectal.

Cuando se prepara una composición sólida en forma de comprimidos, el ingrediente activo principal se mezcla con un vehículo farmacéutico tal como la gelatina, el almidón, la lactosa, el estearato de magnesio, el talco, la goma arábiga, la sílice o similares. Las tabletas pueden estar recubiertas con sacarosa o con otros materiales adecuados o también pueden ser tratadas para que tengan una actividad prolongada o retardada y liberen de forma continua una cantidad predeterminada de principio activo.

Una preparación en cápsulas se obtiene mezclando el ingrediente activo con un diluyente y vertiendo la mezcla obtenida en unas cápsulas de gelatina blandas o duras.

Una preparación en forma de un jarabe o de elixir puede contener el ingrediente activo conjuntamente con un edulcorante, un antiséptico, así como un junto con un agente saborizante y un colorante apropiado.

Los polvos o los gránulos dispersables en agua pueden contener el ingrediente activo mezclado con unos agentes dispersantes o unos agentes humectantes, o unos agentes de puesta en suspensión, así como con unos correctores del sabor o unos edulcorantes.

Para la administración rectal, se recurre a supositorios que se preparan con unos aglutinantes que se funden a temperatura rectal, por ejemplo manteca de cacao o polietilenglicoles.

Para administración parenteral (intravenosa, intramuscular, intradérmica, subcutánea), intranasal o intraocular, se

utilizan unas suspensiones acuosas, unas soluciones salinas isotónicas o unas soluciones estériles e inyectables que contienen unos agentes de dispersión y/o unos agentes humectantes farmacológicamente compatibles.

El principio activo también se puede formular en forma de microcápsulas, opcionalmente con uno o varios soportes aditivos.

Ventajosamente, la composición farmacéutica de la presente invención está destinada a la administración por vía oral o intravenosa.

La composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede comprender otros principios activos que conducen a un efecto complementario o eventualmente sinérgico.

Las dosificaciones de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables en las composiciones de la invención, se pueden ajustar para obtener una cantidad de sustancia que es eficaz para obtener la respuesta terapéutica deseada para una composición particular al método de administración. La dosis eficaz del compuesto de la invención varía en función de muchos parámetros, tales como, por ejemplo, la vía de administración elegida, el peso, la edad, el sexo y la sensibilidad del individuo a tratar. En consecuencia, la dosis óptima la debe determinar el experto en la materia en función de los parámetros que considere pertinentes. Aunque las dosis efectivas puedan variar dentro de amplias proporciones, las dosis diarias podrían variar entre 1 mg y 1000 mg por 24 horas, y preferentemente entre 1 y 200 mg, para un adulto de un peso medio de 70 kg, en una o varias tomas.

El ejemplo siguiente permite comprender mejor la invención.

A título puramente ilustrativo, los inventores han optado por utilizar en el experimento la línea MDA-MB-231 que es una línea adenocarcinoma de mama humano altamente metastásico. En efecto, se ha demostrado que dichas células expresan, entre otras, unos canales sódicos dependientes de voltaje Nav1.5 funcionales y que el bloqueo de dicho canal por medio de diversas herramientas farmacológicas reducía su potencial metastásico (Brackenbury *et al.* 2007, Breast Cancer Res. Treat. 101, 149-160). Sin embargo, las herramientas farmacológicas en cuestión no permiten caracterizar con precisión la naturaleza de la corriente sódica Nav1.5 implicada en el proceso metastásico. Ahora bien, los inventores han demostrado mediante unos experimentos de patch-clamp en configuración de "célula entera", realizados en unas células MDA-MB-231, que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina reducía de una forma dependiente de la concentración la corriente Nav1.5 metastásica ($IC_{50} = 1.5 \text{ mM}$). Por eso, los inventores creen que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina tiene propiedades anti-metastásicas con respecto a las células cancerosas que expresan el canal Nav1.5. A este respecto, es importante tener en cuenta que muchos tipos de cánceres metastásicos se han reportado como que expresan el canal Nav1.5.

Método

Cultivo celular: Las células MDA-MB-231 se cultivaron en un medio de cultivo de tipo de Eagle, modificado por Dulbecco (Life Technologies LTD, Paisley, Reino Unido) suplementado con L-glutamina 4 mM y 10% de suero de ternera fetal. Las células se siembran en unas placas de cultivo de 100 mm y se colocan en una incubadora a 37°C, 100% de humedad y 5% de CO₂.

Mediciones electrofisiológicas en configuración de "célula entera": la pipeta de parche (resistencia 5-15 MΩ) contiene una solución de: NaCl 5 mM, CsCl 145 mM, MgCl₂ 2 mM, CaCl₂ 1 mM, HEPES 10 mM y EGTA 11 mM, el pH se ajusta a 7.4 con CsOH. El electrodo de referencia se sumerge en el medio extracelular constituido por una solución de: NaCl 140 mM, KCl 4 mM, MgCl₂ 2 mM, glucosa 11 mM, HEPES 10 mM, pH se ajusta a 7.4 con NaOH. Estos dos electrodos se conectan a un amplificador Axopatch 200B (Axon Instrument). Las corrientes son filtradas por medio de un filtro Bessel a una frecuencia de 5 kHz y se muestrean a una frecuencia de 5 kHz utilizando la interfaz Digidata (1200). La adquisición y el análisis de los datos se realizaron con el programa pClamp (Axon Instrument). El potencial de retención se ajusta a -110 mV para registrar la actividad máxima del canal Nav.

Se utilizaron dos protocolos:

1/ Protocolo "corriente I_{Na} dependiente de voltaje" que permite observar la amplitud máxima de I_{Na} en función del voltaje aplicado. Unas despolarizaciones por incrementos de 5 mV se realizan a una frecuencia de 0.2 Hz, desde -110 a +60 mV. El intervalo de despolarización dura 600 ms (véase figura adjunta).

2/ Protocolo "despolarización repetida" que permite medir el efecto del producto de ensayo en la amplitud de la corriente. Para esto, se suceden unas despolarizaciones a -20 mV a una frecuencia de 0.5 Hz. El intervalo de despolarización dura 25 ms.

Resultados

- 5 Las células de prueba expresan una corriente de amplitud máxima en el orden de 900 pA. El umbral de activación de la corriente se sitúa en -50 mV, el pico de corriente en aproximadamente -20 mV y el potencial inverso en +30 mV (figura adjunta). La corriente se cancela en ausencia de iones Na^+ en el medio, lo que confirma que la corriente en cuestión es una corriente de sodio. La inhibición de la corriente de pico por la tetrodotoxina (Sigma) es sólo parcial, es decir: $30 \pm 7\%$ a $1 \mu\text{M}$ y $54 \pm 8\%$ a $5 \mu\text{M}$, lo que indica que la corriente en cuestión es resistente a la tetrodotoxina.
- 10 Los inventores también han demostrado *in vivo* que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina no interfiere con el funcionamiento normal del corazón, incluso a dosis altas.
- 15 La presente invención se distingue por lo tanto: 1) por que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina actúa directamente sobre el proceso metastásico y, a este respecto, es complementaria a los tratamientos existentes, 2) por que la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina actúa selectivamente a nivel de las células cancerosas sin interferir, a las dosis antimetastáticas, con las otras funciones en las que están implicados los canales sódicos Nav1.5 como el funcionamiento normal del corazón y de los vasos.

REIVINDICACIONES

1. 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su utilización como medicamento destinado al tratamiento del cáncer.
2. 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para utilización según la reivindicación 1, para prevenir o tratar metástasis cancerosas.
3. 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en pacientes que presentan uno(s) tumor(es) canceroso(s), cuyas células expresan, entre otras cosas, el canal sódico dependiente de voltaje Nav1.5.
4. 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en pacientes que padecen cáncer de mama, de pulmón, de próstata, de colon, de vesícula, de ovario, de testículos, de piel, de tiroides o cáncer gástrico.
5. Composición farmacéutica caracterizada por que contiene como agente activo la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su utilización como medicamento destinado al tratamiento del cáncer.
6. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, para su utilización para prevenir o tratar metástasis cancerosas.
7. Composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 5 o 6, para su utilización en pacientes que presentan uno(s) tumor(es) canceroso(s), cuyas células expresan, entre otras cosas, el canal sódico dependiente de voltaje Nav1.5.
8. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, para su utilización en pacientes que padecen cáncer de mama, de pulmón, de próstata, de colon, de vesícula, de ovario, de testículos, de piel, de tiroides o cáncer gástrico.
9. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, para su utilización en pacientes sometidos a un tratamiento quimioterapéutico.
10. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, para su utilización en pacientes sometidos a un tratamiento radioterapéutico y/o quirúrgico.
11. Composición farmacéutica según una de las reivindicaciones 9 o 10 para su utilización simultánea, separada o escalonada con respecto al (a los) otro(s) tratamiento(s) quimioterapéutico(s), radioterapéutico(s) y/o quirúrgico(s).
12. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, para su utilización por vía oral o intravenosa.
13. Composición farmacéutica, para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, caracterizada por que se presenta en forma de una unidad de dosificación diaria de la 3-(R)-[3-(2-metoxifeniltio)-2-(S)-metilpropil]amino-3,4-dihidro-2H-1,5-benzoxatiepina o una de sus sales farmacéuticamente aceptables comprendida entre 1 y 1000 mg.

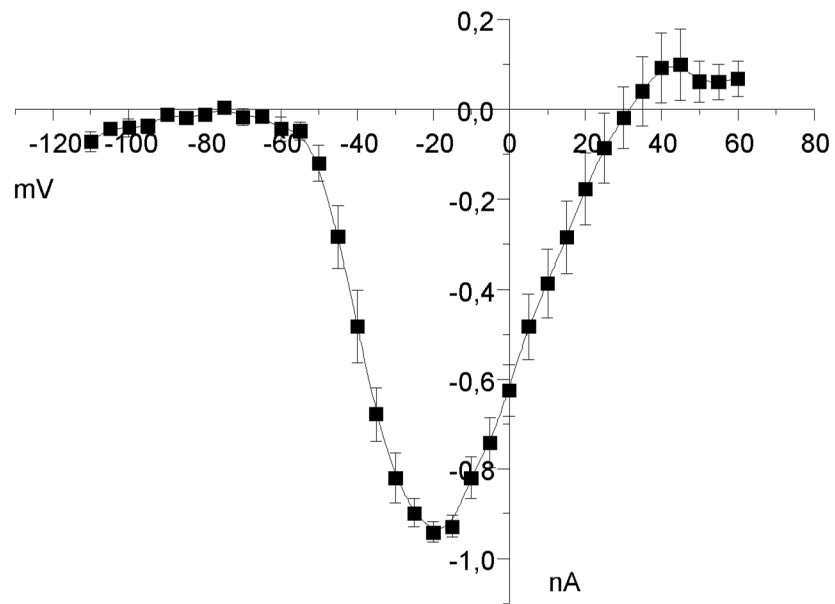


Figura única