

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 829 637**

51 Int. Cl.:

A61K 31/05 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 17/10 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.12.2015 PCT/IB2015/059490**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.06.2016 WO16092493**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.12.2015 E 15816887 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.09.2020 EP 3229840**

54 Título: **3,5-dihidroxi-4-isopropil-trans-estilbeno para su uso en el tratamiento tópico del acné**

30 Prioridad:

12.12.2014 US 201462090908 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
01.06.2021

73 Titular/es:

**DERMAVANT SCIENCES GMBH (100.0%)
Viaduktstrasse 8
4051 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**COTE-SIERRA, JAVIER;
SMITH, SUSAN H. y
FREY, STEVEN M.**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 829 637 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

3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno para su uso en el tratamiento tópico del acné

Campo de la invención

La presente invención se refiere al nuevo uso de un derivado de estilbeno para el tratamiento del acné vulgaris.

5 Antecedentes de la invención

El acné vulgaris (o simplemente acné) es una afección cutánea común que afecta a aproximadamente 650 millones de personas, o el 9.4 % de la población, en todo el mundo (Vos et al. Lancet, 380(9859):2163-2196, 2012). La afección, caracterizada por áreas de piel con seborrea, comedones, pápulas, nódulos, granos y posibles cicatrices, a menudo ocurre en la adolescencia, pero puede persistir mucho más en la edad adulta (James. N Engl J Med, 352(14): 1463-1472, 2005).

La adolescencia es un período de alta inseguridad social, y la aparición y las posibles cicatrices del acné a menudo resultan en problemas psicológicos tales como la reducción de la autoestima, la depresión o, en casos extremos, el suicidio (Goodman. Aust Fam Physician, 35(7):503-504, 2006; Purvis et al. J Paediatr Child Health, 42(12):793-796, 2006).

Una reacción inmunológica al microbio grampositivo *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) está implicada en jugar un papel principal en el inicio de la respuesta inflamatoria aguda en pacientes (De Young et al. J Invest Dermatol, 83(5):394-398, 1984; Jappe et al. Br J Derm. 146(2):202-209, 2002). Los tratamientos para el acné funcionan reduciendo la producción de sebo por los sebocitos, acelerando la renovación celular, o combatiendo las infecciones bacterianas, reduciendo la inflamación o alguna combinación de estas estrategias. El tratamiento del acné tiende a ser prolongado y se centra principalmente en el uso de retinoides, peróxido de benzoilo y antibacterianos, en particular tetraciclinas orales y clindamicina tópica. Adicionalmente de la tasa de crecimiento de la resistencia de *P. acnes* a estos tratamientos, recientemente se ha cuestionado la utilidad de la erradicación de *P. acnes*, una bacteria comensal que se encuentra en la mayoría de la piel humana sana, como objetivo principal para la terapia del acné, y en cambio, algunos están considerando un modelo en base al tratamiento de la respuesta inflamatoria a las bacterias (Agak et al. J Invest Dermatol, 2013). La inflamación se asocia clínicamente en etapas tardías del acné con la presencia de pápulas y pústulas inflamadas e histológicamente por la presencia de infiltrados celulares en comedones abiertos (Tanghetti, E.A. J. Clin. and Aesthetic Derm. 6(9):27-35, 2013). En la última década, nuevos hallazgos han demostrado la participación de mecanismos inflamatorios como parte de la patogénesis del acné temprano (Norris, J.F. and et al. Br. J. Dermatol. 118:651-659, 1988) y la visión en evolución es que el acné se debe considerar una enfermedad inflamatoria (Stein, L.F. and et al. J. Drugs Dermatol. Suppl 6:s67-s69, 2013). De hecho, la piel es un órgano inmunológicamente activo. Los queratinocitos y sebocitos foliculares, los principales constituyentes de la unidad pilosebácea, activan el sistema inmunológico innato al reconocer *P. acnes*. Tanto los queratinocitos como los sebocitos humanos interfoliculares e infundibulares pueden detectar la presencia de *P. acnes* ya que expresan el receptor tipo Toll funcional (TLR) 2, TLR4 y CD14, de acuerdo con el papel de estas células en la inmunidad innata (Song, P.I. et al. J. Invest Dermatol. 119:424-432, 2002; Selway, J.L. et al. BMC Dermatol. 13:10, 2013; Nagy et al. Microbes and Infection, 8:2195-2205, 2006). De hecho, *P. acnes*, una bacteria grampositiva, puede desencadenar el sistema inmunológico en lesiones por acné tempranas y tardías a través de la activación de TLR2 por los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) tales como el peptidoglicano (PGN) y el ácido lipoteicoico (LTA). De hecho, los queratinocitos liberan IL-1a en respuesta a la activación de TLR2. De manera similar, PGN y LTA causan hipercornificación de los queratinocitos, que es característica de las lesiones por acné. También se ha demostrado que *P. acnes* induce la secreción de Th1 y citocinas proinflamatorias (IPN γ , IL-12, IL-18, IL-8 e IL-1b) en monocitos humanos, lo que sugiere que *P. acnes* puede activar macrófagos tisulares. que rodean los folículos pilosebáceos (Sugisaki, H. et al. J. Dermatol. Sci. 55(1):47-52, 2009; Kim, J. Dermatology. 211(3): 193-198, 2005). Finalmente, estudios recientes han demostrado que *P. acnes* estimuló la expresión de genes relacionados con Th17, incluidos IL-17A, ROR α , ROR γ , IL-17RA y desencadenó la secreción de IL-17 de las células T CD4 (Agak et al. J Invest Dermatol, Feb 2014 134(2): 366-73). Por lo tanto, debido a que la inflamación está presente tanto en las lesiones por acné tempranas como en las tardías, se proponen terapias antiinflamatorias capaces de eliminar las lesiones por acné independientemente del factor etiológico implicado en el inicio o mantenimiento de las lesiones por acné.

La utilidad de los compuestos puramente antiinflamatorios disponibles comercialmente es limitada debido a preocupaciones de seguridad con respecto al uso prolongado de corticosteroides y retinoides y análogos de vitamina D. Adicionalmente, los tratamientos antiinflamatorios pueden tener otros efectos sobre la producción de sebo, las poblaciones bacterianas y la renovación de la piel.

De este modo, sigue existiendo la necesidad de terapias más seguras y eficaces para su uso en el tratamiento del acné. Un tratamiento que sea seguro, eficaz y antiinflamatorio por una vía novedosa que no tenga los mismos problemas de seguridad que los tratamientos antiinflamatorios actuales sería una adición inventiva a los regímenes de tratamiento del acné.

El documento US 2002/059733 describe el uso de estilbenos y sus derivados, incluido el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno (WBI-1001), para el tratamiento de enfermedades inflamatorias y autoinmunes tales como psoriasis, eccema y enfermedad inflamatoria intestinal.

- 5 Carola Gessner ("Neurodermitis - Sonnenblumenöl hilft Steroid einsparen: Medical Tribune - Medizin und Gesundheit" 6 July 2011) enseña el uso de WBI-1001 para tratar la dermatitis atópica.

Hanna-Leena Kelh  la et al (PLOS One, vol. 9, no. 8, page e105238) enseñan que la vía de las células T auxiliares 17 se activa en las lesiones por ac  ne y puede desempeñar un papel en el procedimiento de la enfermedad.

El documento US 9,308,239 enseña el uso de IL-17 para tratar el ac  ne.

Descripción de los dibujos

- 10 La figura 1 muestra que la expresión del transcrito de IL-17A se inhibe con el pretratamiento de 1 día de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno.

La figura 2 muestra los efectos dependientes de la dosis del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre la producción de proteína IL-17A.

- 15 La figura 3 (A-C) muestra que el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno suprime la secreción de citocinas por las células Th17 diferenciadas e inhibe de forma potente la polarización Th17 de las células T CD4+.

La figura 4 muestra que el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno no inhibe la producción de sebo.

La figura 5 muestra el efecto apoptótico del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre los queratinocitos primarios.

La figura 6 compara los resultados de las pruebas de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno y resveratrol en un panel de 149 ensayos bioquímicos.

- 20 Sumario de la invención

En este documento se describe un método para el tratamiento del ac  ne usando el compuesto antiinflamatorio 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

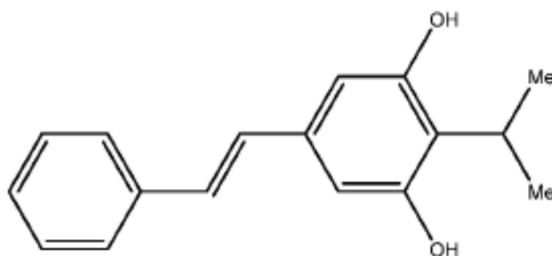
También se describe la aplicación tópica al paciente para el tratamiento del ac  ne con el compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 25 También se describe la aplicación tópica una vez al día al paciente para el tratamiento del ac  ne con el compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención proporciona el compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento t  pico del ac  ne.

Descripción detallada de la invención

- 30 El compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, también se conoce como 5-[(E)-2-fenilet  nil]-2-(propan-2-il) benceno-1,3-diol, o 2-(1-m  t  etil)-5-[(1E)-2-fenilet  nil]-1,3-benzenodiol, y también denominado en este documento como compuesto 1, tiene la siguiente estructura:



- 35 La síntesis de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno es conocida y ha sido estudiada adicionalmente por un número de investigadores, véase Krow, G.R. et al. JOC, 57(14):4040-4043, 1992; Azzena, U. et al. Synthetic Communications 33(8):1309-1317, 2003; Gao, J. et al., Advanced Materials Research 236-238:2378-2382, 2011. También se han presentado varias solicitudes de patente de the University of Hebei Sci & Technology sobre la síntesis de este compuesto, véanse los documentos CN 101531571 (2009); CN 101633606 (2010); CN 101648851 (2010); CN 101830764 (2010); y CN 101838173 (2010).

También se ha propuesto una ruta de biosíntesis para la producción de estilbenos, incluido 1, por *Photorhabdus*, véase Joyce, S.A. et al., *Angewandte Chemie Int. Ed.* 47:1942-1945, 2008. Se cree que el compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno fue descrito originalmente por Paul, V. et al., *Journal of Chemical Ecology* 7(3):589-597, 1981 como antibiótico. Li, J. et al., *Applied and Environmental Microbiology* 61(12):4329-4333, 1995 también aislaron el compuesto, pero de una cepa bacteriana diferente y además demostraron actividad fungicida. La actividad fungicida también se identificó en una solicitud PCT presentada por Agro Biotech, en el documento WO 1995/003695. El compuesto se describió además en el documento WO 2001/042231, Welichem Biotech como inhibidor de la proteína quinasa. El compuesto ha sido desarrollado por Welichem Biotech como WBI-1001 para el tratamiento de la psoriasis y la dermatitis atópica.

Mientras que la actividad insecticida, bactericida y fungicida del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno se ha estudiado bien, su uso contra *P. Acnes* no lo ha sido. Dada la historia del compuesto 1, se podría creer fácilmente que es activo contra *P. acnes*, pero como se puede ver a continuación en la sección experimental, no lo es. El otro modo de acción conocido del compuesto, por ejemplo, como inhibidor de la proteína quinasa tampoco llevaría a un experto en la técnica a creer que este compuesto sería apropiado para su uso en el tratamiento del acné. De este modo, es un hallazgo inesperado que el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sea útil para el tratamiento del acné.

Se ha descubierto ahora que el compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno es un inhibidor de la ruta molecular Th 17. Es por este modo de acción que se establece su uso en el tratamiento del acné.

Las células Th17, un linaje Th distinto originariamente de la diferenciación de células T CD4+ naive, son potentes inductores de la inflamación tisular, y la hiperactividad de las células Th17 se ha implicado en una variedad de trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, tales como psoriasis, artritis reumatoide y esclerosis múltiple (Peck et al. *Infect Immun*, 78(1):32-38, 2010). A nivel molecular, las células Th17 se caracterizan por la producción de un perfil distinto de citocinas efectoras que incluyen IL-17A e IL-17F. Estas citocinas activan diferentes tipos de células, tales como los queratinocitos, lo que conduce a su hiperproliferación y a una mayor producción de citocinas proinflamatorias, quimiocinas y péptidos antimicrobianos, que a su vez reclutan y activan otras células inmunes en la piel inflamada, lo que conduce a la amplificación de la respuesta inflamatoria.

Los estudios han demostrado que *P. acnes* y los aislados clínicos de pacientes con acné pueden inducir la diferenciación de células T CD4+ CD45RA naive a células Th17 productoras de IL-17 e inducir la secreción de IL-17A e IL-17F de células PBMC humanas (Agak et al., *J Invest Dermatol*, advance online publication 12 September 2013; doi: 10.1038/jid.2013.334). Adicionalmente, las células que expresan IL-17 se encuentran en las biopsias de piel de pacientes con acné, pero no en la piel de individuos sanos, cerca de los folículos pilosebáceos. Estos hallazgos sugieren que la inducción de células TH17 y la producción de IL-17A e IL-17F juegan un papel clave en la patogénesis del acné.

Adicionalmente, existe evidencia de que la regulación a la baja o inhibición de citocinas inflamatorias puede tener un efecto beneficioso para los pacientes con acné. Se ha demostrado que la vitamina D y los análogos de la vitamina A, ambos usados en el tratamiento del acné, regulan negativamente la expresión de IL-17A e IL-17F en células PBMC humanas en respuesta a *P. acnes* (véase Agak et al., *Supra*.)

En vista de esto, los fármacos tópicos y sistémicos que inhiben la producción de citocinas proinflamatorias derivadas de Th17 en la piel representan posibles terapias contra el acné.

El mecanismo de acción del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno no se ha aclarado completamente hasta la fecha. La actividad antiinflamatoria del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno se ha demostrado tanto en un modelo de edema de oreja de ratón, con una reducción dependiente de la dosis tanto en el enrojecimiento como en el grosor de la piel, y en ensayos en humanos para psoriasis y dermatitis atópica (Véase Bissonnette et al., *Arch Dermatol*, 146(4):446-449, 2010; Bissonnette et al., *Br. J. Dermatol.*, 166(4):853-860, 2012; y Bissonnette et al., *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 26(12):1516-1521, 2012). Antes de esto, no se había demostrado la acción del compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre la secreción de IL-17 de las células TH17.

De este modo, en este documento se describe el uso de una cantidad eficaz del compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento del acné. También se describe un método de tratamiento del acné con una cantidad eficaz del compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La invención proporciona el compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del acné.

También se describe el uso de una composición farmacéutica que comprende 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable, en el tratamiento del acné. También se describe un método de tratamiento del acné con una cantidad eficaz de una composición farmacéutica de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. Un aspecto adicional de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento del acné.

También se describe el uso de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para suprimir la producción de IL-17A en un mamífero que lo necesite. También se describe la supresión de la producción de IL-17A en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 También se describe el uso de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para inducir la muerte celular de queratinocitos. La muerte de los queratinocitos reduciría la hiperproliferación de los queratinocitos y la formación de comedomas, reduciendo así el bloqueo de los folículos y la posterior retención de sebo en un poro bloqueado.

- 10 También se describe la inducción de la muerte de las células de queratinocitos en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar a dicho mamífero una cantidad eficaz de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se describe el uso de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para suprimir la producción de IL-17A a partir de tejido cutáneo cultivado expuesto a una afección de polarización de Th17.

- 15 El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica en una concentración que varía desde aproximadamente 0.5 % a aproximadamente 5 % p/p.

El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica en una concentración de aproximadamente 0.5 % a aproximadamente 2 % p/p.

- 20 El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se pueden aplicar por vía tópica en una concentración de aproximadamente 0.5 %, 1 % o 2 % p/p.

El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica en una concentración de aproximadamente 0.5 % p/p.

El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica en una concentración de aproximadamente el 1.0 % p/p.

- 25 El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica en una concentración de aproximadamente 2.0 % p/p.

El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica una o dos veces al día en las áreas afectadas de un paciente que lo necesite.

- 30 El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica una vez al día en las áreas afectadas de un paciente que lo necesite.

El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica dos veces al día en las áreas afectadas de un paciente que lo necesite.

- 35 El 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar por vía tópica en una cantidad desde aproximadamente 0.5 % a aproximadamente 5 % p/p una o dos veces al día en las áreas afectadas de un paciente que lo necesite.

Dado que el perfil biológico del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, y sus sales farmacéuticamente aceptables, difiere del de los productos disponibles actualmente, esto ofrece a los pacientes una nueva opción terapéutica para el tratamiento del acné. Aunque se encuentran disponibles otras opciones de tratamiento tópico, todavía se necesita mucho un medicamento tópico novedoso que combine un alto nivel de eficacia con un perfil de seguridad aceptable que permita la aplicación a una gran superficie corporal sin restricciones en la duración del tratamiento.

- 40 En una realización, la frecuencia de dosificación en el área o áreas afectadas puede ahora dosificarse con menos frecuencia de lo previsto anteriormente. La aplicación del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se puede aplicar a las áreas afectadas dos veces al día, una vez al día, una vez cada dos días; dos veces a la semana; tres veces a la semana, o una vez a la semana, con la dosis representada por cualquiera de las divulgaciones en este documento. En otra realización, el tratamiento se puede administrar en dos fases, una frecuencia de dosificación inicial, tal como una o dos veces al día, seguida de una fase de mantenimiento, tal como cada dos días; dos veces a la semana; tres veces a la semana, o una vez a la semana.

- 50 En otro aspecto de la invención, la combinación de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, administrada con al menos un agente terapéutico adicional proporcionaría dos o más impulsores con modos de acción diferentes, tal como antibacteriano, contra la enfermedad del acné.

Se espera además que se usen combinaciones de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con otros regímenes y productos de tratamiento terapéutico. Por tanto, en

una realización, se aplica por vía tópica 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más agentes secundarios.

Se conocen bien en la técnica diversas vías de administración de al menos uno o más compuestos terapéuticos a un sujeto, que incluyen, pero no se limitan a, vía tópica, oral, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, rectal, ótica y ocular. En una realización, la administración del segundo agente es tópica u oral. En otra realización, la administración del segundo agente es tópica. Se espera que el segundo agente terapéutico también se aplique a las mismas lesiones locales sobre el cuerpo del paciente que el compuesto de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno.

De forma apropiada, el agente secundario se administra en una composición farmacéutica o dermatológicamente aceptable. Los agentes apropiados incluyen, pero no se limitan a, peróxido de benzoilo, ácido azelaico, dapsona, ácido salicílico, tretinoína, adapaleno y otros derivados del ácido retinoico. Adicionalmente, tratamiento combinado con antibióticos tópicos, tales como clindamicina fosfato, clindamicina, lincomicina, retapamulina, mupirocina, ácido fusídico, tetraciclina y sus derivados (por ejemplo, doxiciclina, minociclina y tetraciclina), penicilina y sus derivados, y quinolona y todos sus derivados, incluida la clase de compuestos de fluoroquinolonas se incluyen en la presente. Los segundos agentes terapéuticos para su uso como un producto oral que se usará en este documento incluyen, pero no se limitan a, isotretinoína y los antibióticos disponibles por vía oral tal como la tetraciclina y sus derivados (por ejemplo, doxiciclina, minociclina y tetraciclina), incluidas las versiones de liberación prolongada de las mismas, penicilina y sus derivados, y quinolona y todos sus derivados, incluida la clase de compuestos de las fluoroquinolonas. Todas las diversas permutaciones de su vía de administración están destinadas a ser cubiertas en este documento.

Los dos o más medicamentos se pueden administrar juntos (dependiendo del segundo agente terapéutico), secuencial, simultáneamente o en momentos alternativos, tales como por la mañana o por la noche. La incorporación de un segundo activo terapéutico en la misma formulación, aunque se contempla, puede estar sujeta a los problemas habituales de estabilidad e incompatibilidades.

En consecuencia, el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable, se pueden usar ya sea juntos al mismo tiempo mientras se encuentran en diferentes formulaciones, o se pueden usar secuencialmente o usar simultáneamente o incluso administrarse a tiempos completamente alternativos, por ejemplo, uno por la mañana y otro por la noche con los agentes habituales disponibles para el tratamiento del acné.

Condiciones

Como se usa en este documento, los términos "modular" o "modula" se refieren a un aumento o disminución en la cantidad, calidad o efecto de una actividad particular.

Como se usa en este documento, "agentes biológicos" significa moléculas biológicas complejas tales como anticuerpos, anticuerpos monoclonales, proteínas, polipéptidos y nucleótidos.

Como se usa en este documento, el término "acné" incluye acné troncal, acné facial, acné del cuero cabelludo, acné de espalda, acné braquial, acné antebrachial o acné de piernas.

Como se usa en este documento, un "tratamiento" para, o un "método de tratamiento", una afección médica, tales como una afección de acné, se refiere a un método de reducción, mejora o retraso de los signos, síntomas o progresión de esa afección médica. Como se usa en este documento, "tratamiento" no implica una cura. No es necesario que un tratamiento sea eficaz en todos los miembros de una población, por ejemplo, una población de pacientes con acné, para tener utilidad clínica, como se reconoce en las técnicas médica y farmacéutica.

Como se usa en este documento, "tratar", un "tratamiento" para, o un "método de tratamiento" en referencia a una afección significa: (1) mejorar o prevenir la afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (2) para interferir con (a) uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a o es responsable de la afección o (b) una o más de las manifestaciones biológicas de la afección, (3) para aliviar uno o más de los síntomas o efectos asociados con la afección, o (4) para ralentizar la progresión de la afección o una o más de las manifestaciones biológicas de la afección. El experto en la materia apreciará que "prevención" no es un término absoluto. En medicina, se entiende que "prevención" se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir sustancialmente la probabilidad o gravedad de una afección o manifestación biológica de la misma, o para retrasar la aparición de dicha afección o manifestación biológica de la misma.

Como se usa en este documento, "excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable implicado en dar forma o consistencia a la composición farmacéutica. Cada excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la composición farmacéutica cuando se mezclan de manera que se eviten las interacciones que reducirían sustancialmente la eficacia del compuesto de la invención cuando se administra a un individuo y las interacciones que darían como resultado composiciones farmacéuticas que no son farmacéuticamente aceptables. Adicionalmente, cada excipiente debe tener, por supuesto, una pureza suficientemente alta para que sea farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en este documento, las condiciones de activación de Th17 se refieren a las condiciones de cultivo de tejido que dan como resultado la diferenciación de las células T residentes en el tejido en células auxiliares Th17 efectoras. Como se usa en este documento, "activación Th17" se usa indistintamente con el término "estimulación Th17".

- 5 Como se usa en este documento, "sujetos" y/o "pacientes" incluye sujetos humanos y pacientes, incluidos pacientes adultos, adolescentes y pediátricos.

- 10 Como se usa en este documento, la administración "tópica" de un compuesto o medicamento se refiere a la aplicación y absorción a través de revestimientos epiteliales o mucocutáneos. En un aspecto, la aplicación tópica consiste en o comprende la aplicación a la piel o al tegumento externo de un sujeto, tal como la aplicación a la epidermis de la piel, incluida la aplicación a las lesiones por acné. Se conocen en la técnica portadores y vehículos farmacéuticos apropiados para su uso en aplicación tópica.

- 15 En una realización, el término "farmacéuticamente aceptable" significa que puede ser aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o enumerado en the U.S. Pharmacopeia u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en humanos. El término "portador" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico.

Se debe entender que los términos "un" y "una" como se usan en este documento se refieren a "uno o más" o "al menos uno" de los componentes enumerados. Será evidente para un experto en la técnica que el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario.

- 20 El término "y/o" como se usa en este documento cubre tanto de forma aditiva como alternativa los elementos individuales de una lista que están de este modo vinculados de manera que estos elementos se deben entender como vinculados selectivamente con "y" o respectivamente con "o". Adicionalmente, los términos usados en singular, por supuesto, también comprenden el plural.

- 25 A lo largo de la solicitud, las descripciones de diversas realizaciones usan un lenguaje "que comprende", sin embargo, en algunos casos específicos, una realización se puede describir usando el lenguaje "que consiste esencialmente en" o "que consiste en".

Se puede determinar una "cantidad eficaz" del compuesto o agente para el tratamiento de una enfermedad o afección mediante técnicas clínicas estándar.

Como se usa en este documento, "mamífero" incluye, pero no se limita a, humanos, incluidos pacientes pediátricos, adultos y geriátricos.

- 30 Sección experimental

Ejemplo 1: Efectos del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre células T CD4⁺ derivadas de sangre periférica en la producción de citocinas de células inmunes residentes en la piel

En este ejemplo, investigamos la capacidad del compuesto 1 para suprimir la liberación de IL-17A de piel humana ex vivo desafiada con un cóctel proinflamatorio de Th17-sesgado.

- 35 La estimulación de las células inmunitarias residentes en la piel en explantes de piel humana ex vivo conduce a la producción de citocinas proinflamatorias, que incluyen, pero no se limitan a, IL-17A, IL-17F e IL-22, proporcionando así un nuevo sistema modelo con el que evaluar terapias inmunomoduladoras dirigidas a procedimientos inflamatorios de la piel. Usando este sistema, mostramos que el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno puede suprimir la inducción de IL-17A.

- 40 Se evaluó la capacidad de un compuesto de prueba para modular la expresión de citocinas proinflamatorias usando el método de activación de células inmunes residentes en la piel. La piel humana ex vivo obtenida de la cirugía de abdominoplastia se procesó para eliminar la grasa y el tejido se dermatomizó hasta ~ 750 micrómetros. Luego se limpió la piel dermatomizada en dos enjuagues seriados de 5-10 minutos cada uno en PBS a temperatura ambiente que contenía una solución antibiótica/antimicótica que contenía fungizona al 1 % (Invitrogen), 50 µg/ml de gentamicina (Invitrogen) y PSG al 0.5 %, para las concentraciones finales de 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomina y L-glutamina 2 mM (Gibco). La sección se cortó con punzones de biopsia desechables de un solo uso en secciones redondas de 10 mm de diámetro, que luego se colocaron en la cámara superior de un transwell de membrana PCF de 0.4 µm (Millicell # PIHP01250) que contenía 30 µl de una solución de colágeno bovino al 64 % (Organogenesis, # 200-055). Las muestras de piel se dejaron reposar sobre la solución de colágeno durante 30 min a 37 °C. Luego, las muestras de piel en transwells se transfirieron a placas de 6 pocillos (1 muestra por pocillo) y la cámara inferior se llenó con 1 ml de medio completo (medio de cornificación) y se trató con o sin 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno.

El último día de cultivo, el tejido de la piel se recogió en ARN más tarde para su análisis mediante qPCR (N = 9 donantes de piel individuales).

- Las células inmunes residentes en la piel se activaron in situ en condiciones de polarización de Th17, similares a las condiciones usadas en la bibliografía para las PBMC. Específicamente, los explantes de piel humana (muestras por triplicado por donante por afección) se estimularon con anticuerpos CD3 (2 µg/ml; clon UCHT1; BD Pharmingen) y CD28 (1 µg/ml; clon # 37407; R&D Systems) en el medio de cultivo para activar el receptor de antígeno de células T y proporcionar señales coestimuladoras en presencia de condiciones de polarización Th17, que incluyen anticuerpos neutralizantes dirigidos contra IPN γ (2 µg/ml; clon # 25723; R&D Systems) e IL-4 (2 µg/ml; clon # 3007; R&D Systems), citocinas humanas recombinantes (rh) de R&D Systems, que incluyen rh IL-6 (10 ng/ml), rh IL-1b (10 ng/ml) y TGF β (1 ng/ml), así como rh IL-21 (10 ng/ml) de SouthernBiotech.
- Se aisló el ARN total de aproximadamente 30-40 mg de tejido usando el kit de aislamiento de mini ARN de Qiagen (Cat # 74106). El tejido se homogeneizó en la máquina Precellys-24 usando 300 µL de solución reguladora RLT suplementado con 2- β -mercaptoetanol al 1 % a 6300 rpm durante 30 segundos durante 9 ciclos con una rotura de hielo de 2 min cada 3 ciclos. Se agregó agua libre de ARNasa (600 µl) que contenía proteinasa K al homogeneizado y se digirió a 55 °C, durante 15 minutos. El tejido digerido se centrifugó durante 3 minutos a 10,000X g y el sobrenadante se usó para el aislamiento del ARN usando las minicolumnas RNeasy de Qiagen según el protocolo del fabricante. Para cada réplica técnica, se usaron 100 ng de ARN como molde en un volumen de PCR de 20 µL usando el kit Applied Biosciences ARN-a-CT 1 Etapa (Catálogo AB # 4392938) así como la sonda TaqMan específica para cada gen que se va a cuantificar. Master Mix de Applied Biosciences tiene un control interno de colorante ROX. La máquina de PCR OneStepPlus se usó tanto para la etapa de RT como para los 40 ciclos de amplificación. Cada gen se analizó por triplicado y el valor medio de Ct se usó para calcular la expresión genética relativa.
- Los datos de expresión génica relativa se promediaron a través de réplicas biológicas por triplicado de la amplificación por PCR analizada en triplicados técnicos. Todos los datos se normalizaron a las muestras de control no tratadas (establecido en 1), y se calculó el cambio de veces promedio (+/- SEM) para cada gráfico. Las diferencias significativas entre los grupos de tratamiento se identificaron mediante la prueba t de Student de dos colas, $p \leq 0.05$.
- La estimulación de explantes de piel humana ex vivo con anticuerpos y citocinas que favorecen la diferenciación de células T auxiliares de tipo 17 (Th17), denominadas en todo momento "condiciones Th17" o "condiciones de polarización Th17", conduce a una inducción espectacular en la expresión del transcrito y secreción de proteínas de las citocinas de tipo Th17, IL-17A e IL-17F. Se examinó el compuesto 1 para ver si afectaba a la expresión de citocinas en este modelo. Un día de tratamiento antes de la estimulación de las células T residentes en la piel en condiciones de polarización de Th17 redujo el nivel de expresión del gen IL-17A a las 24 horas después de la estimulación en comparación con los cultivos de explantes estimulados con control (Figura 1). Los niveles de transcripción relativa se determinaron usando qPCR de ARN completo extraído de explantes de piel individuales (N = 3 por grupo de tratamiento por donante) y se cuantificaron mediante el método delta Ct, que compara la expresión del gen de interés (esto es, expresión del gen IL-17A) a un gen de control de mantenimiento endógeno (esto es, beta-actina).
- Para comprender mejor el intervalo de dosis activa de la supresión de citocinas asociadas a Th17 mediada por el compuesto 1, se cribó la secreción de proteína IL-17A en células T CD4+ de sangre periférica después de 5 días de cultivo en condiciones de polarización Th17 en presencia o ausencia de dosis de titulación del compuesto 1 (Figura 2). Los sobrenadantes se recogieron al final del período de cultivo y la proteína secretada se analizó mediante Magpix (tecnología Luminex de base magnética). En este experimento, los niveles de proteína IL-17A fueron suprimidos por el compuesto 1 de una manera dependiente de la dosis.
- Como se puede ver en la figura 1, esquema experimental: se muestra la inhibición de la expresión del gen *il17a* inducida por el compuesto 1 (10 µM) en relación con muestras tratadas con vehículo (DMSO 0.2 %) (establecido en 100 % de tal modo que la inhibición se podría comparar a través de múltiples donantes de piel. El compuesto 1, como se usa en este documento, se refiere a 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno.
- La figura 2 muestra los efectos dependientes de la dosis del compuesto 1 sobre los niveles de proteína IL-17A de células T de sangre periférica polarizadas en Th17.
- La capacidad del compuesto 1 para suprimir IL-17A en células T CD4+ de piel y sangre periférica expuestas ex vivo apoya la afirmación de que el compuesto 1 sería eficaz en el tratamiento de afecciones inflamatorias de la piel que requieren la secreción de IL-17A tales como el acné.
- Ejemplo 2: Efecto del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno en células polarizadas Th17 y en la diferenciación de células Th17
- El tratamiento de células polarizadas Th17 preexistentes con el compuesto 1 durante 24 horas mostró una secreción reducida de IL-17 de una manera dependiente de la concentración. Aunque las perlas de activador produjeron mayores aumentos en la liberación de IL-17 en comparación con el anti-CD3 inmovilizado, el efecto inhibitorio del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno fue comparable para cualquier estímulo de TCR (Figura 3).
- A 30 µM, el compuesto redujo los niveles de IL-17 en un 80 - 95 % en relación con el estímulo solo. El resveratrol ejerció un efecto bifásico sobre la IL-17 con inhibición parcial solo a 30 µM y mejora a concentraciones más bajas.

A 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno 30 μ M, se inhibió completamente la secreción de IL-17 y a IL-17 10 μ M se redujo en aproximadamente un 80 %. A 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno 100 nM, la secreción de IL-17 se suprimió en más del 60 % (Figura 3 (A-B)). El compuesto inhibió la expresión de ARNm de IL-17A en paralelo y con la misma potencia que la secreción de la proteína IL-17 (Figura 3 (C)).

5 Se adquirieron células T CD4+ de AllCells LLC como viales congelados.

Como se indica, la figura 3 muestra que el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno suprime la secreción de citocinas por las células Th17 diferenciadas e inhibe de forma potente la polarización Th17 de las células T CD4+. En la figura 3 (A): Se trataron células Th17 diferenciadas con compuesto 1 o resveratrol (0.01 - 30 μ M) y se estimularon con perlas anti-CD3/CD28. Después de 24 horas, se determinó la concentración de IL-17 secretada en medio acondicionado. En la figura 3 (B - C): las células T CD4+ se polarizaron a células Th17 durante un cultivo de 5 días en presencia de cóctel de polarización Th17, anticuerpos anti-CD3 y CD28, con o sin compuesto 1 o resveratrol (0.01 - 30 μ M). En la figura 3 (B): curvas de concentración-respuesta para el compuesto 1 expresadas como proteína IL-17A secretada total en pg/ml. En la figura 3 (C): expresión de ARNm de IL-17A normalizada a PPIB. Los resultados que se muestran en la figura 3 (A) son de un solo experimento. Los datos de la figura 3 (B y C) son de un experimento representativo repetido al menos una vez con resultados similares.

Las células T CD4+ se diferenciaron al subtipo Th17 cultivando durante 5 días en recipientes recubiertos con anticuerpo anti-CD3 (2 μ g/mL) en medio de Dulbecco modificado de Iscove (IMDM) que contenía HI-FBS al 10 %, β -ME 55 μ M, anti-CD28 soluble (3 μ g/mL) y un cóctel de anticuerpos de citocina/anticitocina Th17 de IL-1 β (10 ng/mL), IL-6 (30 ng/mL), TGF β (0.5 ng/mL), IL-21 (10 ng/mL), IL-23 (10 ng/mL), anti-IFN γ (10 mg/mL) y anti-IL-4 (10 μ g/mL), esencialmente como lo describen Yang et al. Nature, 454(7202):350-352, 2008. Para examinar los efectos de los compuestos en células polarizadas Th17 preexistentes, polarizaciones con un periodo de cultivo de 5 días, las células se recolectaron, lavaron y dejaron reposar durante 2 días en IMDM + HI-FBS al 10%. A continuación, las células se sembraron a 75,000 células/pocillo en placas de 96 pocillos de fondo redondo ya sea sin recubrir o recubiertas con anti-CD3 y que ya contenían compuestos diluidos en serie. Las células dispensadas en pocillos no recubiertos recibieron luego perlas de activador T CD3/CD28 (proporción 1:1 de perlas:células). Todas las placas se cultivaron durante 24 horas. Para examinar los efectos de los compuestos sobre la polarización Th17, se sembraron células CD4+ recién preparadas en IMDM suplementadas con todos los componentes del cóctel de polarización Th17 (anterior) a baja densidad celular (20,000 células/pocillo) directamente en placas de 96 pocillos de fondo redondo recubiertas con anti-CD3 que ya contenían compuestos diluidos en serie y cultivados sin perturbar durante 5 días.

30 Ejemplo 3: El efecto del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre la lipogénesis en sebocitos.

Se evaluó el efecto del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre la modulación de la lipogénesis en sebocitos usando un ensayo *in vitro*. En resumen, se sembraron sebocitos humanos inmortalizados (tsSV40 y hTERT) y se dejaron crecer hasta la confluencia en medio de crecimiento de sebocitos. Tras la confluencia, las células se transfirieron a 37 °C para iniciar la degradación del antígeno Large T. Dos días después, las células se estimularon con medio de marcado de sebocitos que contenía T0901317 1 μ M y vehículo (DMSO) o compuesto 1. El compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno se probó a concentraciones de 10, 3, 1, 0.3 y 0.1 μ M. Al día siguiente, el medio se reemplazó por medio de marcado de sebocitos que contenía T0901317 1 μ M y los tratamientos originales o vehículo más insulina 1 μ M. Se agregaron 2 μ l de acetato de 14C por pocillo y la placa se incubó durante 4 horas. Después de 2 horas de incubación, se agregaron 10 μ l de reactivo CTB por pocillo para la normalización. Se continuó la incubación durante las 2 horas restantes y se leyeron las placas al ej. 560 Em.590 para la señal CTB. A continuación, las células se lavaron, se tripsinizaron y se transfirieron a viales de vidrio para la extracción de lípidos. Los resultados se expresan como % de producción de lípidos en relación con el control (grupo LXR + insulina).

Como se muestra en

la figura 4, los datos representan el % de inhibición en relación con el control (grupo LXR + insulina). Los datos se representan como la media \pm SEM. Los datos son de 3 réplicas.

Se encontró que el compuesto 1 no era activo en el ensayo de lipogénesis de sebocitos. Hubo tendencias hacia un aumento del compuesto 1 de lipogénesis en el modelo de sebocitos en relación con el grupo de control (LXR + insulina).

Ejemplo 4 El efecto del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre la viabilidad de los queratinocitos

50 Se evaluó *in vitro* el efecto del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre la viabilidad de los queratinocitos. La hiperproliferación de queratinocitos aumenta el bloqueo y puede promover la formación de comedomas en el acné. Se encontró que el compuesto 1 era abiertamente citotóxico a 10 y 30 μ M. La capacidad del compuesto 1 para inducir la apoptosis en queratinocitos primarios puede contribuir a la eficacia en pacientes con acné. Los datos se muestran en la figura 5.

55 Se cultivaron queratinocitos humanos primarios en medio EpiLife que contenía suplemento de crecimiento de HKGS y se sembraron en placas de cultivo de tejidos a razón de 250,000 células por placa. Al día siguiente, se retiró el medio

de cultivo y luego se trataron los queratinocitos con medio de cultivo que contenía vehículo de control (DMSO) o concentraciones crecientes del compuesto 1 (1, 10, 30 μM). Después de 48 horas de cultivo, se retiraron los queratinocitos de las placas de cultivo de tejidos y se evaluó la viabilidad celular mediante tinción para marcadores apoptóticos (anexina V y yoduro de propidio) usando citometría de flujo. El porcentaje de queratinocitos viables se cuantificó como células que no se tiñeron para ambos marcadores apoptóticos.

Ejemplo 5: Efectos del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno sobre *P. Acnes*.

Las cepas bacterianas usadas para evaluar este concepto de sinergia antibacteriana fueron los aislados clínicos de *P. acnes* 6601, 6602, AN24, 100372 y la cepa de referencia ATCC6919. Estos fueron recibidos de la colección GSK de cultivo interno en poder de Infectious Disease CEDD en el sitio de Upper Providence. Se prepararon inóculos de bacterias y se llevó a cabo la determinación de la concentración inhibitoria mínima (MIC) en agar sangre Brucella suplementado como se describe para el método de la guía CLSI (Bhate, K. et al. Brit. J. Derm. 168:474-485, 2013). En resumen, se agregaron antibacterianos diluidos a agar fundido templado y se vertieron asépticamente en placas de Petri y se dejaron solidificar. Después de 24 horas de incubación en un ambiente anaeróbico, las colonias bacterianas se suspendieron y se ajustaron para una turbidez equivalente a un estándar de 0.5 MacFarland. Se colocaron uno o dos microlitros de inóculo en cada placa de agar que contenía antibiótico y se dejó absorber durante 30 min. A continuación, las placas se invirtieron y se incubaron anaeróbicamente durante 48-72 horas antes de la observación del crecimiento. La concentración de fármaco más baja que inhibió el crecimiento bacteriano se denominó MIC.

Se observó una MIC de 128 $\mu\text{g/ml}$ frente a todas las cepas de *P. acnes* ensayadas para 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno (Tabla 1).

Tabla 1. MIC ($\mu\text{g/ml}$) del compuesto 1 contra *P. acnes*.

	Compuesto 1
6601	128
6602	128
AN24	128
100372	128
ATCC6919	128

En base a estos resultados, el compuesto 1 no se consideraría activo como agente antibacteriano contra *P. acnes* en contraste con los antibióticos verdaderos como la clindamicina con MIC < 0.5 $\mu\text{g/ml}$ contra esta especie bacteriana.

Ejemplo 6: El perfil biológico del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno difiere del de los corticosteroides, los inhibidores de la calcineurina, los análogos de la vitamina D y un antagonista del receptor del ácido retinoico.

El efecto del compuesto 1 y otros agentes activos que se han usado en afecciones dermatológicas, tales como dexametasona (corticosteroide de baja potencia), propionato de fluticasona (corticosteroide de potencia media), propionato de clobetasol (corticosteroide de alta potencia), calcitriol (forma activa de vitamina D), tacrolimus (fármaco inmunosupresor) y un antagonista del receptor del ácido retinoico (LE 135) se investigaron comparativamente *in vitro* en los tipos de células humanas primarias que se usan en el sistema BioMAP de Diversity Panel (Berg et al. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 53(1):67-74, 2006).

El sistema BioMAP™ Diversity Plus empleado incluyó 12 sistemas de ensayo que usan combinaciones específicas de células humanas (células endoteliales, células mononucleares de sangre periférica, células B, células epiteliales, células T, macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y células de músculo liso) estimuladas con agentes seleccionados para imitar diferentes estados de enfermedad que activan múltiples vías de señalización relevantes para la enfermedad. Durante este estudio, se midieron un total de 148 lecturas fenotípicas (ensayos). El compuesto 1 demostró su capacidad para modular más de 25 biomarcadores responsables de la función inflamatoria, inmunitaria, remodelación tisular y actividades antiproliferativas, a una o más concentraciones de prueba empleadas en este estudio. Los valores de medición para cada parámetro en una muestra tratada se dividieron por el valor medio de ocho muestras de control de DMSO (de la misma placa) para generar una proporción. A continuación, todas las proporciones se transformaron en \log^{10} . Se calcularon las envolventes de predicción de significancia para los controles históricos (99 % y 95 %). Se compararon los perfiles BioMAP™ de 7 compuestos de referencia dexametasona, propionato de clobetasol, propionato de fluticasona, calcitriol, tacrolimo (FK-506), SR-2111 (agonista inverso de ROR γ) y LE-135 (antagonista de RAR) con el compuesto 1, y se identificaron perfiles similares como aquellos que tienen correlaciones

- 5 de Pearson por encima de un umbral seleccionado > 0.7 . Se encontró que el perfil de 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno que era estadísticamente significativamente diferente, puntuaciones de Pearson menores o iguales a 0.7, del de dexametasona, propionato de clobetasol, propionato de fluticasona, calcitriol, tacrolimus (FK -506), SR-2111 (agonista inverso de ROR γ) y LE-135 (antagonista de RAR) (Tabla 2). Estos resultados indican que el 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, está funcionando a través de un mecanismo de acción distinto del de los compuestos comparadores.

Tabla 2.

Compuesto comparador	Puntuación de correlación de Pearson con el compuesto 1
Dexametasona	0.03
Propionato de clobetasol	0.11
Propionato de fluticasona	0.20
Calcitriol	-0.03
FK-506	0.10
SR2211	0.13
LE135	0.25
Resveratrol	0.19

- 10 Dada la similitud estructural del farmacóforo de estilbeno en resveratrol, un derivado de estilbeno hidroxilado producido por plantas, el compuesto 1 se cribó junto con el resveratrol para evaluar sus perfiles de actividad relativa. El perfil de actividad del 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno difiere significativamente del del resveratrol como se muestra por la puntuación de correlación de Pearson baja entre el resveratrol y el compuesto 1 (Tabla 2). Para confirmar aún más esto, los dos compuestos se compararon en un panel de 149 ensayos bioquímicos. Hay poca superposición en la actividad y los dos compuestos presentan un perfil de actividad diferente (Figura 5). Por lo tanto, la función y la actividad del compuesto 1 no se puede predecir en base a la literatura publicada con respecto a la actividad del resveratrol.

- 20 La descripción anterior describe completamente la invención, incluidas las realizaciones preferidas de la misma. Las modificaciones y mejoras de las realizaciones descritas específicamente en este documento están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones. Sin más elaboración, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción anterior, usar la presente invención en su máxima extensión. Por lo tanto, los ejemplos en este documento se deben interpretar como meramente ilustrativos y no como una limitación del alcance de la presente invención de ninguna manera. Las realizaciones de la invención en las que se reivindica una propiedad o privilegio exclusivo se definen como sigue.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento tópico del acné.
2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el acné es acné troncal.
- 5 3. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que las lesiones por acné afectan las áreas de la cara y el cuero cabelludo del paciente.
4. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto se administra una vez al día, cada dos días, dos veces a la semana, tres veces a la semana o una vez a la semana en las áreas afectadas de dicho paciente.
- 10 5. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto se administra dos veces al día en las áreas afectadas de dicho paciente.
6. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto es 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno.
- 15 7. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se aplica por vía tópica en una concentración que varía desde 0.5 % a 5 % p/p.
8. El compuesto para su uso según la reivindicación 7, en el que dicho compuesto se aplica por vía tópica en una concentración que varía desde 0.5 % a 2 % p/p.
9. El compuesto para su uso según la reivindicación 8, en el que dicho compuesto se aplica por vía tópica al 0.5 %, 1 % o 2 % p/p.
- 20 10. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicho compuesto se coadministra con una cantidad eficaz de un segundo agente terapéutico para el tratamiento del acné.
11. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que la coadministración del segundo agente terapéutico es junto al mismo tiempo, secuencial o contemporáneamente con 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 12. El compuesto para su uso según la reivindicación 11, en el que se administra 3,5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en un momento alternativo al segundo agente terapéutico, tal como uno por la mañana y otro agente por la noche.
13. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad por vía tópica eficaz de 3, 5-dihidroxi-4-isopropil-*trans*-estilbeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable, para su uso como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 al 12.
- 30 14. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que el segundo agente terapéutico se administra por vía oral o tópica.
15. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que el segundo agente terapéutico se selecciona del grupo que consiste en peróxido de benzoilo, ácido azelaico, dapsona, ácido salicílico, tretinoína, adapaleno, fosfato de clindamicina, clinamicina, lincomicina, retapamulina, mupirocina, ácido fusídico, tetraciclina, doxiciclina, minociclina, tetraciclina, penicilina, quinolona, fluoroquinolonas, isotretinoína y cualquier derivado de las mismas.
- 35

Figura 1

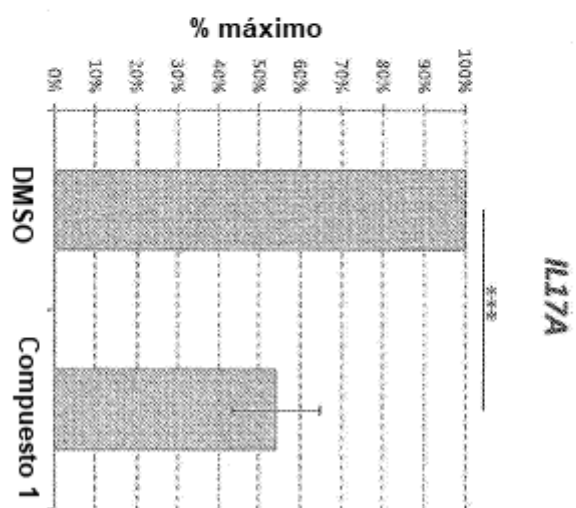


Figura 2

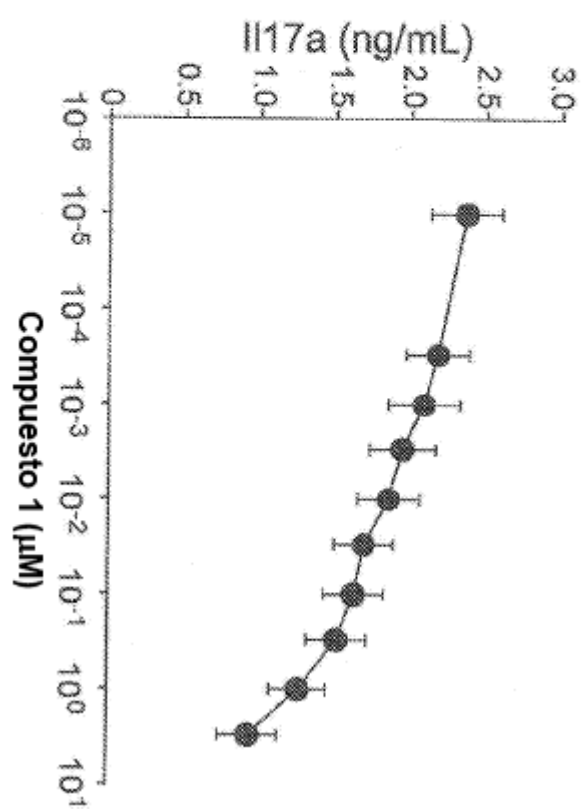


Figura 3

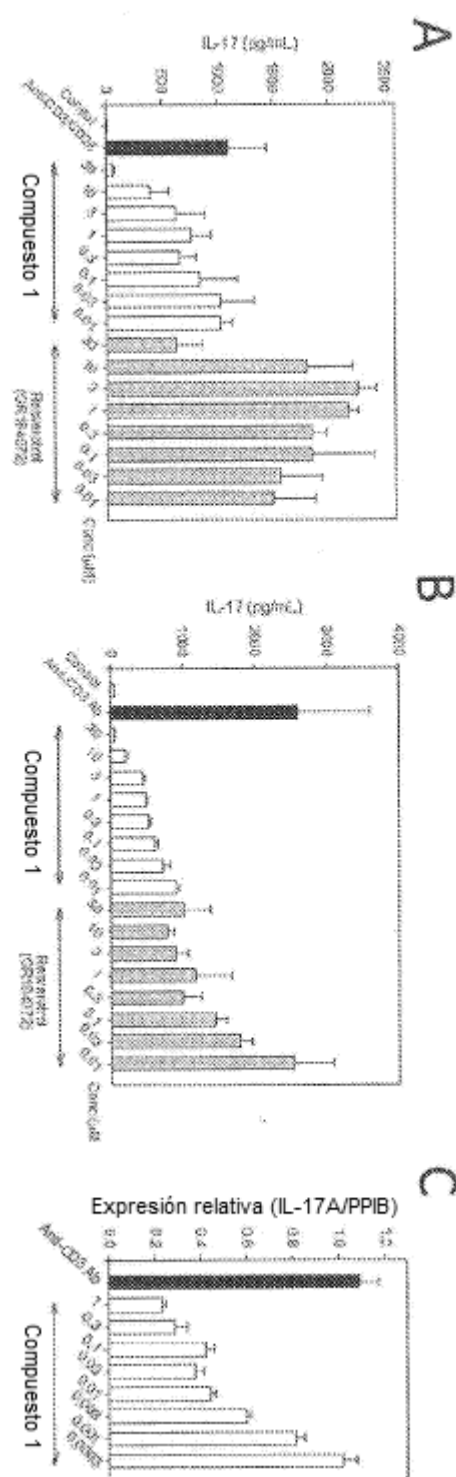


Figura 4

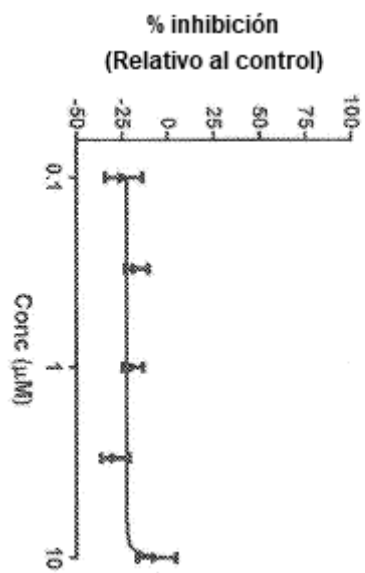


Figura 5

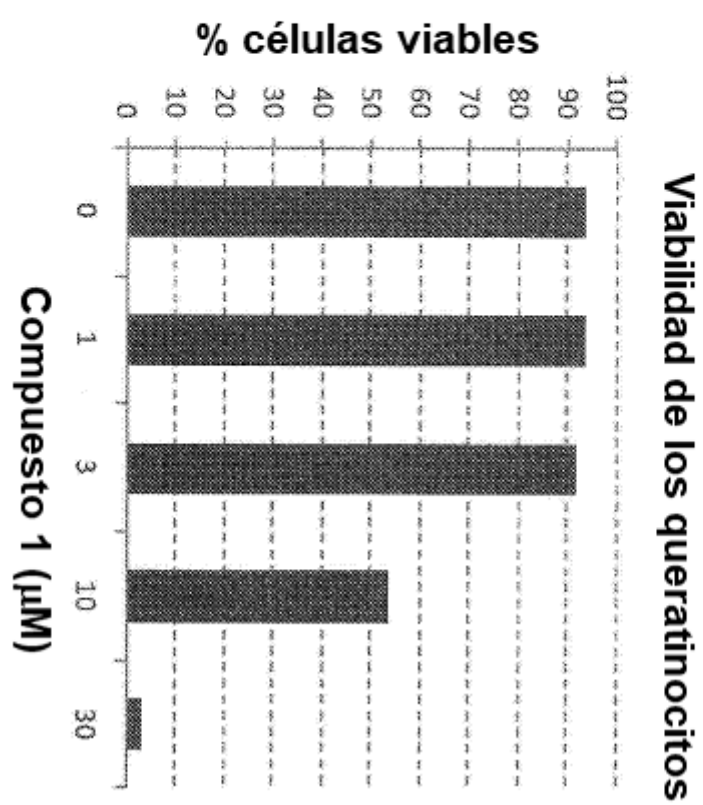


Figura 6

