

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 518 119**

51 Int. Cl.:

C07D 233/94 (2006.01)

A61K 31/4164 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.06.2011 E 11729972 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.08.2014 EP 2588462**

54 Título: **Ésteres de metronidazol para el tratamiento de la rosácea**

30 Prioridad:

29.06.2010 FR 1055241

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

04.11.2014

73 Titular/es:

**GALDERMA RESEARCH & DEVELOPMENT
(100.0%)
2400 Route des Colles Les Templiers
06410 Biot, FR**

72 Inventor/es:

**BOITEAU, JEAN-GUY y
LINGET, JEAN-MICHEL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 518 119 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

Ésteres de metronidazol para el tratamiento de la rosácea

La presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula (I), y a su uso como medicamento, especialmente en el tratamiento y/o prevención de la rosácea y en el tratamiento y/o prevención de patologías inflamatorias.

5 La rosácea es una dermatosis inflamatoria común crónica progresiva asociada con relajación vascular. Afecta principalmente a la parte central de la cara y se caracteriza por el enrojecimiento de la cara o sofocos, eritema facial, pápulas, pústulas, telangiectasia y ocasionalmente lesiones oculares conocidas como rosácea ocular. En casos graves, especialmente en hombres, el tejido blando de la nariz se puede hinchar y producir un hinchamiento bulboso conocido como rinofima. La rosácea se desarrolla a lo largo de varios años a través de episodios que empeoran por
10 diversos estímulos tales como variaciones de temperatura, alcohol, especias, exposición a la luz solar, o emociones.

La rosácea se clasifica en cuatro subtipos en función de diversas características clínicas (Wilkin J. *et al.*, JAAD, 2002, 46: 584-587).

15 Las características primarias (rubefacción inducida por histamina, eritema persistente, pápulas y pústulas, y telangiectasia) y las características secundarias (sensación de ardor o escozor, placas, aspecto seco de la piel, edema, manifestaciones oculares, cambios fimatosos) de la rosácea, se observan a menudo en combinación. Los modos de exteriorización o combinaciones de signos más comunes se reagrupan temporalmente en subtipos específicos, que se describen a continuación. Cada categoría comprende el número mínimo de signos que son suficientes para hacer un diagnóstico del correspondiente subtipo (aunque los modos de exteriorización no se limitan necesariamente a estos signos), y es posible que los pacientes presenten simultáneamente características que
20 sugieren más de un subtipo de rosácea.

Subtipo 1: Rosácea eritematotelangiectásica

25 La rosácea eritematotelangiectásica se caracteriza principalmente por rubefacción inducida por histamina y eritema facial central persistente. La presencia de telangiectasias es común, pero no es esencial para el diagnóstico de este subtipo. Se observan también ocasionalmente edema facial central, sensaciones de ardor y escozor, y rubefacción o descamación. Antecedentes sólo de rubefacción inducida por histamina son comunes en el caso de pacientes que sufren rosácea eritematotelangiectásica.

Subtipo 2: Rosácea papulopustular

30 La rosácea papulopustular se caracteriza por eritema facial central persistente y por pápulas y/o pústulas transitorias distribuidas en el centro de la cara. Sin embargo, las pápulas y pústulas pueden afectar también a las regiones periorificiales (esto es las áreas periorales, perinasales o perioculares). El subtipo papulopustular se parece al acné común, pero los comedones están ausentes. La rosácea y el acné pueden coexistir, y además de las pápulas y pústulas que se parecen a la rosácea, los pacientes afectados pueden tener también comedones. Los pacientes que sufren de rosácea papulopustular ocasionalmente se quejan de sensaciones de ardor y escozor.

35 Este subtipo se observa a menudo antes que o al mismo tiempo que el subtipo 1 (incluyendo la presencia de telangiectasias). El riesgo de telangiectasias puede ser enmascarado por el eritema persistente y las pápulas o pústulas.

Subtipo 3: Rosácea fimatosa

40 La rosácea fimatosa se manifiesta por engrosamiento de la piel, nódulos con una superficie irregular y tumefacción. La rinofima es la presentación más común, pero la rosácea fimatosa puede afectar a otras regiones, incluyendo la barbilla, la frente, las mejillas y las orejas. En el caso de pacientes que sufren este subtipo, se describe ocasionalmente la presencia de aperturas foliculares alargadas y prominentes en la región afectada, como son las telangiectasias.

45 Este subtipo se observa a menudo antes que o al mismo tiempo que el subtipo 1 o 2 (incluyendo la presencia de eritema persistente, telangiectasias, pápulas y pústulas). En el caso de rinofima, estos riesgos de estigmas adicionales son particularmente pronunciados en la región nasal.

Subtipo 4: Rosácea ocular (o rosácea oftálmica)

50 El diagnóstico de rosácea ocular se debe plantear cuando un paciente tiene uno o más de los siguientes signos y síntomas oculares: aparición de lagrimeo o enrojecimiento (hiperemia conjuntival interpalpebral), sensación de presencia de un cuerpo extraño, de ardor o escozor, sequedad, picor, fotosensibilidad, visión borrosa, telangiectasias de la conjuntiva y del borde del párpado, o eritema del párpado y eritema periorcular. Otros signos que se pueden detectar son blefaritis, conjuntivitis e irregularidad de los bordes del párpado. Es un signo frecuente de afección ocular relacionada con la rosácea, un chalazión o una infección estafilocócica puesta de manifiesto por un orzuelo y cuya causa es una disfunción de las glándulas meibomianas. Algunos pacientes se quejan de una reducción en la agudeza visual, que es debida a complicaciones de la córnea (queratitis puntiforme, infiltrados

corneales/úlceras corneales o queratitis marginal). Por sí mismo, el tratamiento de la rosácea cutánea puede no tener ningún efecto sobre el riesgo de reducción de la agudeza visual asociado con la rosácea ocular, y es posible que se necesite un enfoque oftalmológico.

Finalmente, existen otras formas más raras de rosácea (variantes), en particular la rosácea granulomatosa.

- 5 El diagnóstico de la rosácea ocular se hace muy frecuentemente cuando se detectan también signos y síntomas cutáneos. Sin embargo, no es necesario que estén presentes los signos y síntomas cutáneos para hacer el diagnóstico, y estudios a pequeña escala dan a entender que hasta el 20 % de los pacientes que sufren rosácea ocular pueden desarrollar signos y síntomas oculares antes de que aparezcan las manifestaciones cutáneas. Las lesiones cutáneas son las primeras que aparecen en el caso de aproximadamente la mitad de estos pacientes, y manifestaciones de los dos tipos aparecen simultáneamente en una minoría de ellos.

La rosácea generalmente aparece entre los 25 y 70 años, y es mucho más común en personas de tez blanca. Afecta más particularmente a las mujeres, aunque esta afección es generalmente más severa en el caso de los hombres.

- 15 La patogénesis de la rosácea no se conoce bien, y puede incluir varios factores. Esto son, por ejemplo, factores vasculares (reactividad vascular anormal), factores inmunes, o alternativamente factores exógenos tales como la presencia de microorganismos foliculares tales como bacterias y ácaros *Demodex folliculorum* (Diamantis S. & Waldorf H.A., J. Drug Dermatol., 2006, 5: 8-12; Wilkin J.K., Arch. Dermatol., 1994, 130: 359-362; Buechner S.A., Dermatology, 2005, 210: 100-108).

Además, estudios, especialmente estudios clínicos, tienden a indicar que la rosácea es una patología inflamatoria (McKeage *et al.*, Am. J. Clin. Dermatol. 2010; 11(3): 217-22).

- 20 Convencionalmente, la rosácea se trata oral o tópicamente. Entre los agentes que tienen una autorización de comercialización para la indicación de la "rosácea" están el metronidazol tópico y la doxiciclina oral (Cribier B., La rosacée, Masson-Eticom, Paris, 2002).

- 25 Los tratamientos orales a largo plazo con derivados de tetraciclina son problemáticos por muchas razones, en particular debido a sus importantes efectos secundarios. La administración oral de tetraciclinas, especialmente doxiciclina, puede inducir fotosensibilidad, o incluso fototoxicidad a dosis de 100 mg/día y superiores (Layton A.M., Cunliffe W.J. Phototoxic eruptions due to doxycycline—a dose-related phenomenon. Clin. Exp. Dermatol. 1993; 18:425-427), o alternativamente trastornos gastrointestinales (Maibach H. Second-generation tetracyclines, a dermatologic overview: clinical uses and pharmacology. Cutis. 1991; 48:411-417).

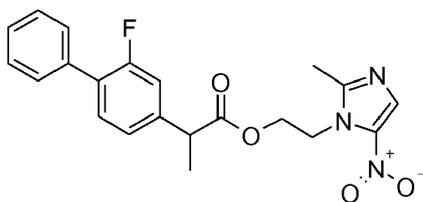
- 30 En adición, estos tratamientos no permiten que se puedan tratar y/o prevenir eficazmente todos los síntomas asociados con la rosácea. Considerando la naturaleza crónica de la rosácea, con un perfil típico de remisión y exacerbación, un tratamiento ideal requiere un uso que puede ser prolongado, de una manera segura y eficaz.

- 35 La solicitud de patente WO 02/74290 describe el uso de al menos un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) para el tratamiento de la rosácea. Este compuesto puede ser especialmente piroxicam, aspirina, ibufenaco o naproxeno. Este compuesto se puede usar opcionalmente en combinación con un nitroimidazol. El uso simultáneo de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) y de un nitroimidazol tiene, sin embargo, apreciables efectos secundarios, especialmente efectos gastrointestinales y renales asociados con el uso de un metronidazol tal como nitroimidazol (D.I. Edwards, Br. J. Vener. Dis. 1980; 56: 285-290), o úlceras asociadas con el uso de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) (C.J. Hawkey, J. Rheumatology, 2002; 29: 4; 650-652).

- 40 Existe por tanto la necesidad de agentes activos que sean eficaces para el tratamiento de la rosácea, que se puedan usar durante largos períodos de tiempo, y que tengan los menos efectos secundarios posibles.

El objetivo de la presente invención es por lo tanto proponer un tratamiento eficaz para la rosácea, que especialmente reduce los efectos secundarios para el paciente. Preferiblemente, este tratamiento se realiza tópicamente, lo que reduce considerablemente cualquier efecto secundario sistémico.

- 45 Un objeto de la presente invención es por lo tanto un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I) que sigue:



(I)

sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables.

El compuesto de la fórmula (I) tiene el nombre químico de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato.

5 Este compuesto contiene una función éster, que se escinde específicamente en los queratinocitos, como se demuestra en el Ejemplo 2. Con fines comparativos, se prepararon otros ésteres de metronidazol con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), por ejemplo ésteres de indometacina, ácido niflúmico, diflunisal o ketorolaco, y se ensayaron en cultivos de queratinocitos. Todos estos compuestos son estables en presencia de queratinocitos, a diferencia del compuesto de la fórmula (I) según la invención. Esta particular inestabilidad del compuesto de la fórmula (I), de sus enantiómeros y de sus sales farmacéuticamente aceptables es por lo tanto sorprendente e inesperada. Sin querer limitarse a ninguna teoría, es bastante probable que esta particular inestabilidad sorprendente del compuesto de la fórmula (I), de sus enantiómeros y de sus sales farmacéuticamente aceptables permita obtener la actividad anti-inflamatoria y la actividad anti-rosácea una vez que el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables han penetrado en la piel y se han hidrolizado en contacto con los queratinocitos.

15 Efectivamente, la hidrólisis en contacto con los queratinocitos del compuesto de la fórmula (I), de sus enantiómeros o de sus sales farmacéuticamente aceptables libera metronidazol y flurbiprofeno como se indica en el Ejemplo 2.

Sin embargo, sorprendentemente, la cantidad de metronidazol y flurbiprofeno detectada en el plasma, después de aplicación tópica, es más pequeña cuando se aplica una cantidad del compuesto de la fórmula (I), de uno de sus enantiómeros o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables en comparación con la detectada cuando se aplica la misma cantidad de una mezcla equimolar de metronidazol y flurbiprofeno.

20 A modo de ejemplo, la aplicación a la piel de la rata de una composición que contiene 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato al 1,4 % permite detectar aproximadamente 2,3 veces menos metronidazol y aproximadamente 6,7 veces menos flurbiprofeno en el plasma en comparación con la aplicación en las mismas condiciones de una mezcla equimolar de metronidazol y flurbiprofeno. Las áreas bajo la curva que representa la concentración plasmática en función del tiempo se utilizan como una indicación de la exposición plasmática.

25 Esta particular e inesperada propiedad del compuesto de la fórmula (I), de sus enantiómeros o de sus sales farmacéuticamente aceptables hace posible por tanto minimizar las cantidades plasmáticas de metronidazol y flurbiprofeno, y minimizar de este modo los efectos secundarios adversos asociados con estos productos, mientras que al mismo tiempo se mantiene una actividad anti-inflamatoria útil en el tratamiento de la rosácea.

30 A modo de ejemplo, los enantiómeros (S) y (R) correspondientes a la fórmula general (I), esto es, respectivamente, 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato y 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (R)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, evaluados a una concentración del 1 % en el ensayo de TPA en ratones como se indica en el Ejemplo 3, presentan una inhibición, respectivamente, del 95 % y 85 % para la inflamación inducida por TPA. A fines comparativos, el (S)-flurbiprofeno y el (R)-flurbiprofeno presentan una inhibición, respectivamente, del 70 % y 35 80 % cuando se evalúan a la misma concentración de 1 %.

Por lo tanto, el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros o sus sales farmacéuticamente aceptables tienen actividad anti-inflamatoria que es útil en el tratamiento de la rosácea mientras que al mismo tiempo son capaces de reducir la concentración plasmática de metronidazol y flurbiprofeno en comparación con la aplicación tópica de una concentración equivalente de una mezcla equimolar de metronidazol y flurbiprofeno.

40 La presente invención se refiere también a un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso como un medicamento.

Un objeto de la presente invención es también un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento y/o prevención de la rosácea.

45 Un objeto de la presente invención es también un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en la prevención y/o tratamiento de patologías inflamatorias.

Un objeto de la presente invención es también el uso de al menos un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables, para preparar un medicamento para tratar y/o prevenir la rosácea.

50 Un objeto de la presente invención es también el uso de al menos un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables, para preparar un medicamento para tratar y/o prevenir patologías inflamatorias.

El término "sales del compuesto de la fórmula (I) según la invención o sales de sus enantiómeros" significa sales de este compuesto o de sus enantiómeros con un ácido farmacéuticamente aceptable.

El ácido farmacéuticamente aceptable es especialmente:

- un ácido inorgánico farmacéuticamente aceptable, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico o ácido bromhídrico;
- o un ácido orgánico farmacéuticamente aceptable, por ejemplo ácido acético, ácido tartárico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido múxico, ácido glucónico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido salicílico, ácido aspártico, ácido glutámico y ácido ascórbico.

Preferiblemente, las sales del compuesto de la fórmula (I) se seleccionan entre el hidrocloreto, el citrato, el salicilato y el benzoato del compuesto de la fórmula (I).

- 10 El átomo de carbono localizado entre el anillo de benceno y el grupo -COO- es asimétrico; la molécula es por lo tanto quiral. Por lo tanto, el término "enantiómeros del compuesto de la fórmula (I)" significa los enantiómeros R y S de este compuesto. El enantiómero S es la forma preferida.

Así pues, el compuesto según la invención es preferiblemente 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato.

- 15 Preferiblemente, las sales del enantiómero S del compuesto de la fórmula (I) se seleccionan entre el hidrocloreto, el citrato, el salicilato y el benzoato de dicho enantiómero S (esto es hidrocloreto de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, citrato de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil-(S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, salicilato de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil-(S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato y benzoato de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil-(S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato.

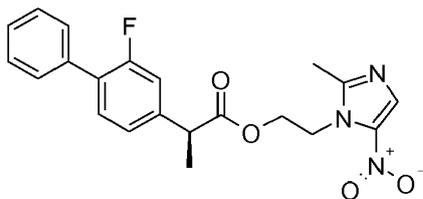
- 20 El término "tratamiento" o "tratar" la rosácea (o patologías inflamatorias) significa reducir y/o inhibir el desarrollo de la rosácea (o de las patologías inflamatorias) y/o de sus síntomas.

El término "prevención" o "prevenir" la rosácea (o patologías inflamatorias) significa reducir y/o evitar la aparición de los síntomas de la rosácea (o de las patologías inflamatorias).

- 25 El término "patologías inflamatorias" significa especialmente patologías inflamatorias cutáneas, tales como psoriasis, dermatitis atópica, acné o eczema.

El término "compuesto según la invención" significa, indiscriminadamente, el compuesto de la fórmula (I), uno de sus enantiómeros y/o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Más preferiblemente, el compuesto según la invención es el enantiómero S del compuesto de la fórmula (I) o 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato de estructura correspondiente a la fórmula (Ia)



(Ia)

- 30 El compuesto según la invención se puede preparar según el procedimiento dado en el Ejemplo 1.

- 35 El compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables se puede formular por tanto en composiciones farmacéuticas para uso humano. Dichas composiciones comprenden, en un medio farmacéuticamente aceptable, al menos un compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables.

El término "medio farmacéuticamente aceptable" significa un medio que es compatible con la piel, las membranas mucosas y los tegumentos.

La composición farmacéutica que se puede usar según la invención se puede administrar tópicamente, parenteralmente u oralmente.

- 40 Preferiblemente, el compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I), sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables se presenta en una composición farmacéutica para aplicación tópica.

El término "aplicación tópica" significa aplicación a la piel, a las membranas mucosas y/o a los tegumentos.

La composición según la invención comprende de 0,001 % a 10 % en peso de compuesto o compuestos según la invención con respecto al peso total de la composición. Preferiblemente, la composición según la invención contiene de 0,1 % a 5 % en peso de compuesto o compuestos según la invención con respecto al peso total de la composición.

- 5 La composición farmacéutica tópica puede estar en forma líquida, pastosa o sólida, y más particularmente en la forma de un ungüento, una crema, una leche, una pomada, un polvo, una almohadilla impregnada, un *syndet*, una toallita, una solución, un gel, una pulverización, una espuma, una suspensión, una loción, un bastoncillo, un champú o una base de lavado. Puede estar también en la forma de una suspensión de microesferas o nanoesferas o vesículas lipídicas o poliméricas o un parche polimérico y un hidrogel que permiten la liberación controlada.
- 10 Esta composición farmacéutica para aplicación tópica puede estar en forma anhidra, en forma acuosa o en la forma de emulsión.

En una variante preferida de la invención, la composición farmacéutica para aplicación tópica está en la forma de una solución, un gel o una emulsión.

- 15 Dichas composiciones farmacéuticas se pueden fabricar según procedimientos que son bien conocidos por los expertos en la técnica.

Varios ejemplos de preparación y uso de los compuestos según la invención serán dados ahora, con fines ilustrativos y con ninguna naturaleza limitante.

Ejemplos

Ejemplo 1: Síntesis de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato

- 20 A una solución de (S)-flurbiprofeno (2 g, 8,17 mmol) y metronidazol (1,4 g, 8,17 mmol) en 30 mL de diclorometano se añaden sucesivamente 50 mg de DMAP (4-dimetilaminopiridina) y después 1,6 g (8,17 mmol) de EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida). Se agita la mezcla de reacción durante 4 horas a temperatura ambiente y después se sofoca con 50 mL de agua y se extrae con 50 mL de diclorometano. Se lava la fase orgánica con 2×50 mL de solución de ácido cítrico al 5 % y después con 50 mL de agua. Se seca la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y
- 25 después se evapora a presión reducida. Se disuelve el residuo en 10 mL de isopropanol y después se lleva a reflujo. Después de enfriar a temperatura ambiente, el producto cristaliza en la forma de cristales blancos.

Se obtienen 2,1 g de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato.

Rendimiento = 64 %.

- 30 ¹H NMR (CDCl₃): 7,95 (s, 1 H); 7,55 (dd, 2H, J= 1 Hz, J= 7 Hz); 7,48 (t, 2H, J= 5 Hz); 7,41 (m, 2H); 7,05 (m, 2H); 4,60-4,44 (m, 4H); 3,69 (q, 1 H, J= 7 Hz); 2,31 (s, 3H); 1,51 (d, 3H, J= 7 Hz).

¹³C NMR (CDCl₃): 173,4; 161,0; 158,5; 150,6; 140,9; 140,8; 135,2; 132,2; 131,2; 131,2; 129,0; 128,5; 127,8; 123,4; 115,2; 115,0; 62,9; 45,1; 44,9; 18,3; 13,9.

Nota: Para obtener el compuesto de la fórmula (I) según la invención en la forma racémica, se utiliza el procedimiento descrito antes reemplazando el S-flurbiprofeno con flurbiprofeno racémico.

- 35 Cada enantiómero del compuesto de la fórmula (I) se identifica por HPLC quiral en las siguientes condiciones:

Columna IC 250×4,6 mm 5 μm

Fase móvil A Heptano 75 %

Fase móvil B Isopropanol 25 %

Caudal = 1,4 ml/min

- 40 (S): 12,4 minutos / (R): 14,2 minutos

Ejemplo 2: Estabilidades evaluadas en cultivos de queratinocitos

- La estabilidad en cultivos de queratinocitos se evalúa utilizando queratinocitos neonatales humanos (Cell'N Tech) cultivados en un matraz de 75 cm² y separados en el 90-100 % de confluencia con tripsina vegetal (trypLE GIBCO). El compuesto de la fórmula (I) se ensayó a concentración 2 μM en el medio CNT-057 (Cell'N Tech) suplementado
- 45 con ácido plurónico al 0,1 % en placas de 24 pocillos. La concentración final de DMSO es 0,1 %. La cinética de degradación se realizó con un robot Tecan EVO a lo largo de 24 horas. Las muestras tomadas se analizan entonces por LC/MS/MS (Micromass) en comparación con un intervalo de calibración del producto de ensayo, preparado en las mismas condiciones que las muestras (1/3 de medio de cultivo y 2/3 de metanol). Las condiciones

cromatográficas se optimizan para cada producto. Se realiza también un ensayo de la aparición de metronidazol utilizando las mismas muestras.

El tiempo de semivida ($t_{1/2}$) de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil 2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato es de 6 horas.

5 El de su enantiómero S, esto es 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, es de 18 horas.

A fines comparativos, los ésteres de metronidazol con indometacina, ácido niflúmico, diflunisal o ketorolaco no se hidrolizaron en los cultivos de queratinocitos.

Ejemplo 3: Actividad anti-inflamatoria

a) Modelo de inflamación aguda en la oreja de ratón: edema inducido por ácido araquidónico

10 Se midieron las actividades anti-inflamatorias del compuesto de la fórmula (I) en forma racémica, del enantiómero S del compuesto de la fórmula (I), de metronidazol y de flurbiprofeno en un ensayo *in vivo* realizado en un modelo de ratón. Este modelo consiste en inducir la inflamación de la oreja del ratón con una única aplicación de ácido araquidónico (AA). Se utilizaron ratones hembras Balb/c ByJlco. Se induce el edema aplicando a la oreja del ratón 20 μ L de AA disuelto al 4 % en una mezcla de THF/metanol 1/1. Se evaluaron las actividades anti-inflamatorias del
15 enantiómero S del compuesto de la fórmula (I), del compuesto de la fórmula (I) en forma racémica, del metronidazol y del flurbiprofeno, después de aplicación tópica sobre la cara interna de la oreja del ratón de 20 μ L de una solución del compuesto en una mezcla de THF/metanol 1/1 que contenía AA al 4 %.

Se preparan así soluciones que contienen 0,01 %; 0,03 %; 0,1 %; 0,3 %; 1 % y 2 % del compuesto de ensayo. Los porcentajes corresponden al peso del compuesto de ensayo por volumen de solución. Se evalúa el edema, 1 hora
20 después de la aplicación, midiendo el espesor de la oreja utilizando un micrómetro Oditest®. Se evalúa el edema inducido por AA solo, 1 hora después de la aplicación, midiendo el espesor de la oreja utilizando un micrómetro Oditest®. Se evalúa con respecto a un grupo que comprende solamente el vehículo (THF/metanol 1/1).

La inhibición del edema se expresa como porcentaje de reducción, por la molécula de ensayo y a la concentración de ensayo, del edema inducido por el AA solo.

25 La IC_{50} corresponde a la concentración (o dosis) a la que se observa el 50 % de inhibición del edema inducido por el AA solo.

Los resultados son como sigue:

- el metronidazol no tiene actividad anti-inflamatoria en este modelo;
- el flurbiprofeno (racémico) tiene una IC_{50} de 0,037 %. A una dosis de 0,1 %, inhibe el 60 % del edema
30 inducido por el AA solo.
- el compuesto racémico de la fórmula (I), esto es 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil 2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, tiene a una dosis del 1 %, una actividad anti-inflamatoria equivalente a la del flurbiprofeno (racémico) a la dosis del 0,1 % presentada antes.
- el enantiómero S del compuesto de la fórmula (I), esto es 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-
35 fluorobifenil-4-il)propionato, tiene una IC_{50} de 1 %.

A una dosis de 1 %, inhibe el 50 % del edema inducido por el AA solo.

Estos resultados demuestran que a una dosis de 1 %, el compuesto racémico de la fórmula (I), esto es 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil 2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, o su enantiómero S, esto es 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil
40 (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, inhibe al menos el 50 % del edema inducido por el AA en este modelo de actividad anti-inflamatoria.

b) Modelo de inflamación aguda en la oreja de ratón: edema inducido por TPA (12-miristato-13-acetato de forbol)

Se midieron las actividades anti-inflamatorias del compuesto de la fórmula (I) en forma racémica, del metronidazol y del flurbiprofeno (racémico) en un ensayo *in vivo* realizado en un modelo de ratón.

45 El modelo usado es el modelo de inflamación de la oreja del ratón inducida por una única aplicación de TPA (12-miristato-13-acetato de forbol). Se utilizan ratones hembras Balb/c ByJlco.

Se induce el edema aplicando a la oreja 20 μ L de TPA al 0,01 % disuelto en etanol.

El compuesto racémico de la fórmula (I) se disuelve, a la concentración deseada, en la solución de TPA al 0,01 % y se aplica de este modo a un grupo de ratones al mismo tiempo que el TPA.

Similarmente, se disuelve el flurbiprofeno (racémico), a la concentración deseada, en la solución de TPA al 0,01 % y se aplica de este modo a otro grupo de ratones al mismo tiempo que el TPA.

Finalmente, se disuelve el metronidazol, a la concentración deseada, en la solución de TPA al 0,01 % y se aplica de este modo a otro grupo de ratones al mismo tiempo que el TPA.

- 5 Se evalúa el edema, 6 horas después de la aplicación, midiendo el espesor de la oreja utilizando un micrómetro Oditest®.

10 El edema inducido por TPA se evalúa con respecto al grupo del vehículo etanol. La inhibición, con el compuesto racémico de la fórmula (I), con el flurbiprofeno (racémico) o con el metronidazol, del edema inducido por el TPA solo se expresa por la IC₅₀. La IC₅₀ corresponde a la concentración (o dosis) a la que se observa el 50 % de inhibición del edema inducido por el TPA solo.

Los resultados son como sigue:

- el metronidazol no tiene actividad anti-inflamatoria en este modelo;
- el flurbiprofeno (racémico) tiene una IC₅₀ de 0,22 %.
- 15 - el compuesto de la fórmula (I) en forma racémica, esto es 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil 2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato, por sí mismo tiene la misma IC₅₀ que el flurbiprofeno (racémico), es decir igual a 0,22 %.

Este compuesto tiene por tanto una actividad anti-inflamatoria notable.

Ejemplo 4: Penetración en las ratas

El compuesto de la fórmula (I), uno de sus enantiómeros o una de sus sales farmacéuticamente aceptables se aplica a la piel de ratas Wistar SD.

- 20 En paralelo, se aplica, con fines comparativos una mezcla equimolar de metronidazol y flurbiprofeno correspondiente a la misma dosis.

El pelo lateral y dorsal de cada uno de los animales se corta muy corto, aproximadamente 24 horas antes de la única aplicación. El volumen aplicado es de 10 microlitros/cm² sobre un área de 41 cm² (5,5 × 7,5 cm²).

25 El vehículo utilizado está compuesto de propilenglicol/etanol/agua/Tween 80 en proporciones respectivas en peso de 30/44/25/1. Se recogen muestras de piel y sangre a los 45 minutos, 1 hora 30 minutos, 2 horas 30 minutos, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 16 horas y 24 horas, de tres animales por grupo. Se preparan los plasmas por precipitación en una mezcla de acetonitrilo/metanol 2/1 y se trituran las biopsias utilizando un sistema de criomolienda y después se analizan por LC/MS/MS.

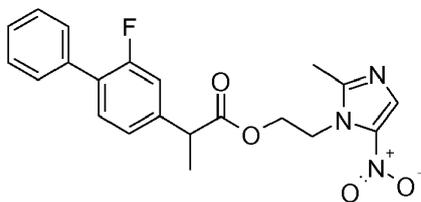
30 A modo de ejemplo, se aplica una solución de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil-(S) 2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato al 1,4 %.

En paralelo, se aplica una solución que contiene metronidazol al 0,6 % y flurbiprofeno al 0,9 %.

35 La cantidad de metronidazol detectada en el plasma es aproximadamente 2,3 veces más pequeña cuando se aplica la solución de 2-(2-metil-5-nitroimidazol-1-il)etil (S)-2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato al 1,4 %, y la de flurbiprofeno es aproximadamente 6,7 veces más pequeña en comparación con la aplicación de una solución que contiene metronidazol al 0,6 % y flurbiprofeno al 0,9 %.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto seleccionado entre el compuesto de la fórmula (I) que sigue:



(I)

sus enantiómeros y sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 5 2. Compuesto según la reivindicación 1, para su uso como un medicamento.
3. Compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la rosácea.
4. Compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de patologías inflamatorias.
- 10 5. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que la sal del compuesto de la fórmula (I) o de uno de sus enantiómeros se selecciona entre las sales de este compuesto o de uno de sus enantiómeros con un ácido farmacéuticamente aceptable.
6. Compuesto según la reivindicación 5, caracterizado por que el ácido farmacéuticamente aceptable se selecciona entre:
- 15 - ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico o ácido bromhídrico;
- y ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo ácido acético, ácido tartárico, ácido maleico, ácido hidroximaleico, ácido fumárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido múxico, ácido glucónico, ácido benzoico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido salicílico, ácido sulfanílico, ácido aspártico, ácido glutámico y ácido ascórbico.
- 20 7. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que se selecciona entre el compuesto de la fórmula (I), el hidrocloreuro del compuesto de la fórmula (I), el citrato del compuesto de la fórmula (I), el salicilato del compuesto de la fórmula (I), el benzoato del compuesto de la fórmula (I), y los enantiómeros S de estos compuestos.
- 25 8. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que es 2-(2-(2-fluorobifenil-4-il)propionato.
9. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado por que está en una composición farmacéutica para aplicación tópica.
10. Compuesto según la reivindicación 9, caracterizado por que la composición farmacéutica está en la forma de una solución, un gel o una emulsión.
- 30 11. Compuesto según una de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que está presente en una cantidad entre 0,001 % y 10 % en peso con respecto al peso total de la composición.