

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 995**

51 Int. Cl.:

**C07C 59/42** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07727556 .8**

96 Fecha de presentación: **30.03.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2024316**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.02.2009**

54 Título: **Leucotrieno B4 cristalino**

30 Prioridad:

**30.03.2006 EP 06112011**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

**17.12.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

**17.12.2012**

73 Titular/es:

**LTB4 SWEDEN AB (100.0%)  
BOX 2077  
10312 STOCKHOLM, SE**

72 Inventor/es:

**HORVATH, KAROL**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 392 995 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

Leucotrieno B<sub>4</sub> cristalino

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere al leucotrieno B<sub>4</sub> y a formas cristalinas de éste. Además, la presente invención se refiere a formulaciones farmacéuticas de dicho leucotrieno B<sub>4</sub> cristalino.

## 10 Antecedentes de la invención

El leucotrieno B<sub>4</sub>, ácido 5S,12R-dihidroxi-6,8,10,14(Z,E,E,Z)-eicosatetraenoico, es un ácido graso tetrainsaturado de veinte carbonos y es una molécula relativamente inestable. Las soluciones acuosas isotónicas del leucotrieno B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) a pH 7.0-7.6, que son adecuadas para la administración a seres humanos y animales son estables sólo durante períodos cortos (semanas a meses) cuando se almacenan a temperaturas entre 2 °C y 25 °C (y superiores a 25 °C). De hecho, los agentes LTB<sub>4</sub> están sujetos a oxidación, isomerización de dobles enlaces (LTB<sub>4</sub> contiene dos dobles enlaces *cis* y dos *trans*), epimerización (LTB<sub>4</sub> contiene dos centros quirales), esterificación (LTB<sub>4</sub> contiene un grupo carboxílico) y lactonización, entre varias posibles alteraciones estructurales.

20 Los agentes LTB<sub>4</sub> tienen gran utilidad farmacéutica, pero su uso como fármacos en animales o humanos es problemático, debido a sus insuficientes estabilidad y vida útil en solución, a temperaturas entre 2 °C y 25 °C.

No se ha informado de ninguna formulación de LTB<sub>4</sub> sólido. De hecho, se sabe en el área que el LTB<sub>4</sub> libre es una sustancia oleosa a temperatura ambiente (Kerdesky et al., J. Org. Chem., Vol. 58, 1993, 3516-3520 y patente de los Estados Unidos 4,873,024). Kobayashi et al., J. Org. Chem., Vol. 55, 1990, 5324-5335, informan un punto de fusión de 25 a 28 °C para el leucotrieno B<sub>4</sub> sólido. No existen informes en el área de LTB<sub>4</sub> cristalino ni se ha hecho ninguna sugerencia de una forma sólida de LTB<sub>4</sub> adecuada para formulaciones sólidas.

30 Dado el potencial de los agentes LTB<sub>4</sub> como fármacos para la profilaxis y el tratamiento de las infecciones y el cáncer, en humanos y animales, sería altamente deseable proporcionar una forma nueva de LTB<sub>4</sub> adecuada para formulaciones farmacéuticas sólidas.

**Resumen de la invención**

35 Los inventores de la presente invención encontraron sorprendentemente una nueva forma cristalina de LTB<sub>4</sub> que tiene un punto de fusión tan alto como 79 °C. En consecuencia, un aspecto de la invención se refiere al leucotrieno B<sub>4</sub> en una forma cristalina, o a un hidrato de éste. El alto punto de fusión de la nueva forma cristalina del leucotrieno B<sub>4</sub> proporciona una ventaja particular con respecto al estado anterior de la técnica para la formulación de composiciones farmacéuticas de leucotrieno B<sub>4</sub>. Otro aspecto de la invención se refiere a una composición que contiene leucotrieno B<sub>4</sub> cristalino, o un hidrato de éste, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Un tercer aspecto de la invención se refiere a dichas formas cristalinas del leucotrieno B<sub>4</sub> o a composiciones de éste, para usar como un medicamento.

## 45 Breve descripción de las figuras

La figura 1 es un difractograma de la forma cristalina A del leucotrieno B<sub>4</sub>, obtenido usando cobre como fuente de rayos X.

50 La figura 2 es un difractograma de la forma cristalina A del leucotrieno B<sub>4</sub>, obtenido usando cromo como fuente de rayos X.

La figura 3 es un termograma de DSC (calorimetría diferencial de barrido) de la forma cristalina A del leucotrieno B<sub>4</sub>, donde el análisis se realizó entre 30 y 350 °C.

## Descripción detallada de la invención

55 Los inventores de la presente invención encontraron sorprendentemente que el leucotrieno B<sub>4</sub> se puede cristalizar de varios solventes alternativos. Por consiguiente, en un aspecto, la presente invención se refiere al leucotrieno B<sub>4</sub> cristalino, ácido 5S,12R-dihidroxi-6,8,10,14(Z,E,E,Z)-eicosatetraenoico o a un hidrato de éste.

60 El difractograma de rayos X en polvo de una forma de leucotrieno B<sub>4</sub> cristalina, a la que se hace referencia en el contexto de la presente invención como forma A, se muestra en la figura 1. Los datos se obtuvieron con cobre como fuente de rayos X y los picos más significativos se encuentran a ángulos dos-theta (2θ) de 18,6 ± 0,2, 21,0 ± 0,2, 21,5 ± 0,2, 22,2 ± 0,2 y 23,5 ± 0,2 grados. En consecuencia, una realización se refiere a la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub>, que se caracteriza por picos de difracción de rayos X en polvo a ángulos dos-theta de 18,6 ± 0,2, 21,0 ± 0,2, 21,5

± 0,2, 22,2 ± 0,2 y 23,5 ± 0,2 grados con cobre como fuente de rayos X, o a un hidrato de éste. En una realización preferida, la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub> se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo como el representado sustancialmente en la figura 1. La intensidad de los picos puede variar según el método de medición y la relación señal/ruido también puede variar, pero el ángulo de los picos sólo variará dentro de los límites establecidos por las incertidumbres de la medición del equipo utilizado para las medidas.

Dependiendo de la longitud de onda de los rayos X, es decir, dependiendo de la fuente de los rayos X, el ángulo de dispersión puede variar. Por lo tanto, la forma A también se puede caracterizar por los picos de un difractograma obtenido con cromo como fuente de rayos X. Concordantemente, una realización alternativa de la invención se refiere a la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub>, que se caracteriza por picos de difracción de rayos X en polvo a ángulos dos-theta de 8,8 ± 0,2, 10,7 ± 0,2, 31,4 ± 0,2, 32,2 ± 0,2 y 33,2 ± 0,2 grados con cromo como fuente de rayos X, o a un hidrato de éste. En una realización preferida, la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub> se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo como el representado sustancialmente en la figura 2. La intensidad de los picos puede variar según el método de medición y la relación señal/ruido también puede variar, pero el ángulo de los picos sólo variará dentro de los límites establecidos por las incertidumbres de la medición del equipo utilizado para las medidas.

Las dimensiones de la celda unitaria de la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub> se pueden calcular basándose en los datos de rayos X. Los inventores encontraron las dimensiones de la celda unitaria siguientes:

a = 16,14 ± 0,01 Angstrom

b = 5,15 ± 0,01 Angstrom

c = 13,79 ± 0,01 Angstrom

En una realización la presente invención se refiere a la forma cristalina A del leucotrieno B<sub>4</sub> que tiene las dimensiones de celda unitaria a = 16,14 ± 0,01 Angstrom, b = 5,15 ± 0,01 Angstrom y c = 13,79 ± 0,01 Angstrom.

Otra característica de las nuevas formas cristalinas es su elevada temperatura de fusión. Más específicamente un cristal de leucotrieno B<sub>4</sub> se puede caracterizar por calorimetría diferencial de barrido (DSC). La figura 3 muestra un termograma de DSC de la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub>. Los picos endotérmicos de transición de fase a aproximadamente 79 °C. Por lo tanto, en una realización, la presente invención se refiere a la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub> que tiene un pico en el rango de 75 a 85 °C en un termograma de DSC, preferentemente en el rango de 77 a 81 °C, más preferentemente alrededor de 79 °C, o a un hidrato de éste. El pico de la figura 3 es bastante ancho. El ancho del pico, sin adherir a una teoría particular, podría ser debido a la descomposición térmica del LTB<sub>4</sub> relativamente inestable. En este ejemplo particular, la aparición de dicho pico es a aproximadamente 74 °C.

Como se mencionó antes, las nuevas formas cristalinas del leucotrieno B<sub>4</sub> ofrecen ventajas en la formulación de composiciones farmacéuticas, en particular composiciones sólidas. En consecuencia, uno de los aspectos de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene el leucotrieno B<sub>4</sub> en forma cristalina, o un hidrato de éste, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una realización preferida, la composición de acuerdo con la presente invención contiene la forma A de leucotrieno B<sub>4</sub> como se describió antes, o un hidrato de éste, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", en el contexto de la presente invención, pretende incluir cualquier vehículo conveniente para el uso fisiológico y farmacéutico. Dicho vehículo se selecciona del grupo que consiste en agua, soluciones salinas amortiguadas, como solución salina amortiguada con fosfato (PBS), o soluciones de cloruro de sodio amortiguadas con agentes como Tris, glicina u otros aminoácidos, en particular aminoácidos básicos, solución acuosa que contenga alcohol, como etanol, propilenglicol, propanodiol, glicerol o manitol, así como soluciones de azúcares, como soluciones de glucosa o lactosa, o una mezcla de los diferentes solventes mencionados. Además, la expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" puede incluir diluyentes o rellenos inertes, como sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio, sulfato de calcio o fosfato de sodio; granulantes y desintegrantes, por ejemplo, derivados de celulosa incluidos celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, croscarmelosa sódica, alginatos o ácido algínico; aglutinantes, por ejemplo, sacarosa, glucosa, sorbitol, acacia, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de magnesio y aluminio, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etilcelulosa, polivinilpirrolidona o polietilenglicol; y lubricantes, que incluyen deslizantes y antiadhesivos, por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de cinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados o talco.

Se encontró además que el leucotrieno B<sub>4</sub> es más estable a pH alcalino que a pH neutro o ácido. En consecuencia, en una realización preferida, la composición de acuerdo con la presente invención contiene un vehículo de reacción alcalina. La expresión "vehículo de reacción alcalina", en el contexto de la presente invención, pretende incluir una sustancia (o sustancias) farmacéuticamente aceptable, de lo contrario inerte, que crea un "micro pH" alcalino entre 8,2 y 14, especialmente entre 8,5 y 12,5, tal como entre 8,5 y 11,5, muy preferentemente entre 9,5 y 11,5, como aproximadamente 9,5, 9,6, 9,7, 9,8, 9,9, 10,0, 10,1, 10,2, 10,3, 10,4, 10,5, 10,6, 10,7, 10,8, 10,9, 11,0, 11,1, 11,2, 11,3, 11,4 o 11,5, alrededor de cada partícula de LTB<sub>4</sub> cuando el agua se adsorbe a las partículas de la mezcla o

- cuando se añade agua en pequeñas cantidades a la mezcla. En otra realización preferida, el "micro pH" alcalino varía entre 8,0 y 9,0, entre 8,5 y 9,5, entre 9,0 y 10,0, o entre 10,0 y 11,5. Tales sustancias que crean dicho "micro pH" se pueden elegir entre, pero no restringido a ellas, sustancias como sales de sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio de ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido cítrico u otros ácidos inorgánicos u orgánicos débiles adecuados; sustancias normalmente utilizadas en las preparaciones antiácidas como hidróxidos de aluminio, calcio y magnesio; óxido de magnesio o sustancias compuestas, como  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{MgO} \cdot \text{CO}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{MgO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  o compuestos similares; sustancias orgánicas amortiguadoras del pH como trishidroximetilaminometano u otras sustancias amortiguadoras del pH, farmacéuticamente aceptables, similares.
- 5
- 10 Se puede emplear cualquier tipo o modo de administración adecuado para proporcionar a un mamífero, especialmente un humano, una dosis eficaz de  $\text{LTB}_4$ . Por ejemplo se pueden emplear vía oral, parenteral, intraduodenal, intrayeyunal y tópica. Las formas farmacéuticas incluyen comprimidos, cápsulas, polvos, soluciones, dispersiones, suspensiones, cremas, ungüentos y aerosoles.
- 15 En una realización preferida, las composiciones de la presente invención se pueden usar en una forma farmacéutica oral con un recubrimiento entérico. De la afirmación precedente acerca de las propiedades de estabilidad del  $\text{LTB}_4$ , resulta obvio que es ventajoso que una forma farmacéutica oral de dicho  $\text{LTB}_4$  cristalino se proteja del contacto con el jugo gástrico ácido para que alcance el intestino delgado sin degradarse.
- 20 Las preparaciones con recubrimiento entérico son resistentes a la disolución en medios ácidos y se disuelven rápidamente en medios neutros a alcalinos. La forma farmacéutica con recubrimiento entérico se caracteriza preferentemente de la manera siguiente. Los núcleos que contienen el  $\text{LTB}_4$  cristalino, mezclados con los compuestos de reacción alcalina, se recubren con dos o más capas, donde la(s) primera(s) capa(s) es/son soluble(s) en agua o se desintegra(n) rápidamente en agua y consiste(n) en sustancias farmacéuticamente aceptables no ácidas, de lo contrario inertes. Esa(s) primera(s) capa(s) separa(n) el material del núcleo de reacción alcalina de la capa externa, que es un recubrimiento entérico. La forma farmacéutica final con recubrimiento entérico se trata de manera adecuada para reducir el contenido de agua hasta un nivel muy bajo para obtener una buena estabilidad de la forma farmacéutica durante el almacenamiento a largo plazo.
- 25
- 30 El  $\text{LTB}_4$  cristalino se mezcla con constituyentes farmacéuticos convencionales inertes, preferentemente solubles en agua, para obtener la concentración preferida del principio activo en la mezcla final y con una sustancia (o sustancias) farmacéuticamente aceptable de reacción alcalina, de lo contrario inerte, que crea un "micro pH" según se definió antes, cuando el agua se adsorbe a las partículas de la mezcla o cuando se añade agua en pequeñas cantidades a la mezcla. Dichas sustancias se pueden elegir entre sustancias como sales de sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio de ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido cítrico u otros ácidos inorgánicos u orgánicos débiles adecuados; sustancias normalmente utilizadas en preparaciones antiácidas como hidróxidos de aluminio, calcio y magnesio; óxido de magnesio o sustancias compuestas como  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{MgO} \cdot \text{CO}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{MgO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , donde n no es un número entero y es menor de 2, o compuestos similares; sustancias orgánicas amortiguadoras del pH como trishidroximetilaminometano u otras sustancias amortiguadoras del pH, farmacéuticamente aceptables, similares.
- 35
- 40 La mezcla en polvo se formula después en forma de pequeñas perlas, es decir gránulos o comprimidos, mediante procedimientos farmacéuticos convencionales. Los gránulos o comprimidos se usan como núcleos para el procesamiento posterior.
- 45
- 50 Los núcleos de reacción alcalina que contienen el  $\text{LTB}_4$  cristalino se deben separar del polímero o polímeros de recubrimiento entérico que contienen grupos carboxilo libres, los cuales de lo contrario causan la degradación del  $\text{LTB}_4$  cristalino durante el proceso de recubrimiento o durante el almacenamiento. La capa sub-recubrimiento, (la capa separadora), también sirve como una zona amortiguadora del pH en la cual iones hidrógeno que difunden desde el exterior hacia el núcleo alcalino pueden reaccionar con iones hidroxilo que difunden desde el núcleo alcalino hacia la superficie de las partículas recubiertas. Las propiedades amortiguadoras del pH de la capa separadora se pueden potenciar aún más introduciendo en la capa sustancias elegidas de un grupo de compuestos utilizados habitualmente en formulaciones antiácidas como, por ejemplo, óxido, hidróxido o carbonato de magnesio, hidróxido, carbonato o silicato de aluminio o de calcio; compuestos combinados de aluminio/magnesio como, por ejemplo  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{MgO} \cdot \text{CO}_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,  $(\text{Mg}_6\text{Al}_2(\text{OH})_{16}\text{CO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O})$ ,  $\text{MgO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , donde n no es un número entero y es menor de 2, o compuestos similares; u otras sustancias amortiguadoras del pH farmacéuticamente aceptables como, por ejemplo, sales de sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio de ácido fosfórico, cítrico u otros ácidos inorgánicos u orgánicos débiles adecuados.
- 55
- 60 La capa separadora consiste en una o más capas inertes solubles en agua, que contienen opcionalmente sustancias amortiguadoras del pH.

La capa o capas separadoras se pueden aplicar a los núcleos (gránulos o comprimidos) mediante procedimientos de recubrimiento convencionales en un tambor de recubrimiento adecuado o en un aparato de lecho fluidizado, usando

agua y/o solventes orgánicos convencionales para la solución de recubrimiento. El material para la capa separadora se elige entre los compuestos o polímeros inertes, solubles en agua, farmacéuticamente aceptables, utilizados en aplicaciones de recubrimiento con película como, por ejemplo, azúcar, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, alcohol polivinílico, hidroxipropilcelulosa, hidroximetilcelulosa o hidroxipropilmetilcelulosa. El espesor de la capa separadora no es menor de 2  $\mu\text{m}$ , para gránulos esféricos pequeños preferentemente no es menor de 4  $\mu\text{m}$ , para comprimidos preferentemente no es menor de 10  $\mu\text{m}$ .

En el caso de comprimidos otro método para aplicar el recubrimiento se puede realizar mediante la técnica de recubrimiento en seco. En primer lugar, un comprimido que contiene el compuesto lábil frente a ácidos se comprime como se describió antes. Alrededor de este comprimido se comprime otra capa usando una máquina compresora adecuada. La capa separadora externa, consiste en excipientes para comprimidos farmacéuticamente aceptables, solubles en agua o que se desintegran rápidamente en agua. La capa separadora tiene un espesor de no menos de 1 mm. También se pueden incluir en la capa separadora plastificantes, pigmentos, dióxido de titanio, talco, y otros aditivos corrientes.

La capa de recubrimiento entérico se aplica sobre los núcleos sub-recubiertos mediante técnicas de recubrimiento convencionales como, por ejemplo, recubrimiento en tambor o recubrimiento en lecho fluidizado utilizando soluciones de polímeros en agua y/o solventes orgánicos adecuados, o utilizando suspensiones de látex de dichos polímeros. Como polímeros de recubrimiento entérico se pueden usar, por ejemplo, acetato ftalato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato ftalato de polivinilo, ácido metacrílico copolimerizado/ésteres metílicos del ácido metacrílico, como por ejemplo, compuestos conocidos con el nombre comercial Eudragit<sup>®</sup> L 12,5 o Eudragit<sup>®</sup> L 100, (Röhm Pharma) o compuestos similares utilizados para obtener recubrimientos entéricos.

El recubrimiento entérico también se puede aplicar usando dispersiones de polímeros a base de agua, por ej. Aquateric (FMC Corporation), Eudragit<sup>®</sup> L 100-55 (Röhm Pharma), Coating CE 5142 (BASF). La capa de recubrimiento entérico puede contener adicionalmente un plastificante farmacéuticamente aceptable como, por ejemplo, cetanol, triacetina, ésteres de ácido cítrico como, por ejemplo, los conocidos con el nombre comercial Citroflex<sup>®</sup> (Pfizer) ésteres de ácido ftálico, succinato de dibutilo o plastificantes similares.

La cantidad de plastificante generalmente se optimiza para cada polímero de recubrimiento entérico y está generalmente en el rango de 1 a 20% del polímero de recubrimiento entérico. También se pueden incluir en la capa de recubrimiento entérico dispersantes como talco, colorantes y pigmentos.

Por lo tanto, la preparación con recubrimiento entérico de acuerdo con la invención consiste en núcleos que contienen el LTB<sub>4</sub> cristalino mezclados con el compuesto de reacción alcalina. Los núcleos se recubren con un recubrimiento soluble en agua o que se desintegra rápidamente en agua, que contiene opcionalmente una sustancia amortiguadora del pH, que separa los núcleos alcalinos del recubrimiento entérico. La forma farmacéutica sub-recubierta se recubre finalmente con un recubrimiento entérico que torna a la forma farmacéutica insoluble en medios ácidos, pero que se desintegra/disuelve rápidamente en medios neutros a alcalinos como, por ejemplo los líquidos presentes en la parte proximal del intestino delgado, el sitio donde se desea la disolución.

El LTB<sub>4</sub> tiene un gran potencial como fármaco para la profilaxis y el tratamiento de infecciones y cáncer en humanos y animales. Consecuentemente, en otro aspecto, la invención se refiere al leucotrieno B<sub>4</sub> de acuerdo con la presente invención o a la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención para usar como un medicamento.

## Ejemplos

La presente invención se ilustrará el mayor profundidad en los ejemplos no limitantes siguientes.

### Métodos

Condiciones para obtener patrones de difracción de rayos X en polvo (XRPD):

Registro:	Registro fotográfico usando una cámara Guinier Hägg, de radio corregido 50,1247 mm para Cu y radio corregido 50,0330 mm para Cr.
Fuente de rayos X:	Radiación CuK $\alpha_1$ estrictamente monocromática ( $\lambda = 1,5405 \text{ \AA}$ ) y radiación CrK $\alpha_1$ ( $\lambda = 2,28975 \text{ \AA}$ ), Instrumenttjänst AB, Suecia.
Evaluación:	Escáner láser automático, University of Stockholm

Condiciones para obtener termograma de calorimetría diferencial de barrido (DSC):

Instrumento:	DSC/822 <sup>e</sup> Mettler Toledo
Software:	Mettler Toledo Star <sup>e</sup> System
Rango de temperatura:	30,0 a 350,0 °C
Velocidad:	10,00 °C/min
Flujo de N <sub>2</sub> :	80,0 mL/min

Ejemplo 1

5

Síntesis de cristales de la forma A

Se concentró hasta sequedad leucotrieno B<sub>4</sub> en solución de etanol (1,5% p/p) de Cascade Biochem Ltd. (Stock N°: 31350, Lote. N°:3468.B.05.1) obteniéndose un residuo oleoso, que se volvió a disolver en t-butil-metil éter. Se le agregó heptano a -70 °C para producir una emulsión incolora que contenía una pequeña cantidad de precipitado. La emulsión se aisló y después de aproximadamente 10 minutos a temperatura ambiente se observó en el microscopio óptico una suspensión espesa con un precipitado cristalino blanco. La suspensión se enfrió hasta 0 °C y se tornó más espesa. Los cristales se separaron por filtración y se secaron a temperatura ambiente. Los cristales se asemejaban a fibras con un espesor de menos de 5 µm y una longitud de 40 a 80 µm.

15

Variación de los solventes

Se encontró que se podía usar una variedad de diferentes solventes para obtener los cristales. En general se encontró que la adición de un anti solvente (solvente en el cual LTB<sub>4</sub> es sólo ligeramente soluble o insoluble) a una solución de LTB<sub>4</sub> proporcionaría un precipitado cristalino. La tabla 1 siguiente resume la solubilidad de LTB<sub>4</sub> en diversos solventes.

20

Tabla 1

Muy soluble	Ligeramente soluble o insoluble
Metanol	Tolueno
Etanol	Agua
Alcohol isopropílico	Heptano
Acetona	
Metil isobutil cetona	
Acetato de etilo	
Acetato de isopropilo	
Acetonitrilo	
t-butil-metil éter	
Diclorometano	
Tetrahidrofurano	

Se concibe que cualquier combinación de un solvente de la columna de la izquierda con un solvente de la columna de la derecha dará lugar a un precipitado cristalino. En particular las combinaciones de solventes seleccionadas del grupo que consiste en etanol/agua, t-butil-metil éter/heptano, t-butil-metil éter/tolueno, acetona/tolueno, etanol/tolueno, alcohol isopropílico/tolueno y tetrahidrofurano/tolueno, que todas han demostrado proporcionar cristales de LTB<sub>4</sub> de manera similar al proceso descrito antes para t-butil-metil éter/heptano, se consideran como parte de la presente invención.

30

Caracterización de los cristales

Un difractograma con Cu como fuente de rayos X realizado en cristales obtenidos de etanol/agua se muestra en la figura 1. Los valores de ángulos dos-theta correspondientes a la figura 1 se resumen en la tabla 2:

35

Tabla 2

Radiación de Cu	Radiación de Cr
10,703	8,774
13,895	10,277
14,408	10,669
16,474	15,923
17,078	20,683
17,859	21,478
17,951	24,574
18,210	25,493

## ES 2 392 995 T3

Radiación de Cu	Radiación de Cr
18,585	26,619
20,317	26,790
20,582	27,216
20,949	27,768
21,513	30,403
22,161	30,825
22,539	31,367
23,497	31,967
23,915	32,208
24,306	33,223
24,861	33,782
26,043	35,254
26,241	35,833
26,596	36,498
27,197	37,358
27,695	38,068
27,825	38,861
28,446	39,158
29,552	39,465
31,216	39,987
32,071	
33,312	
33,997	
34,100	
34,740	

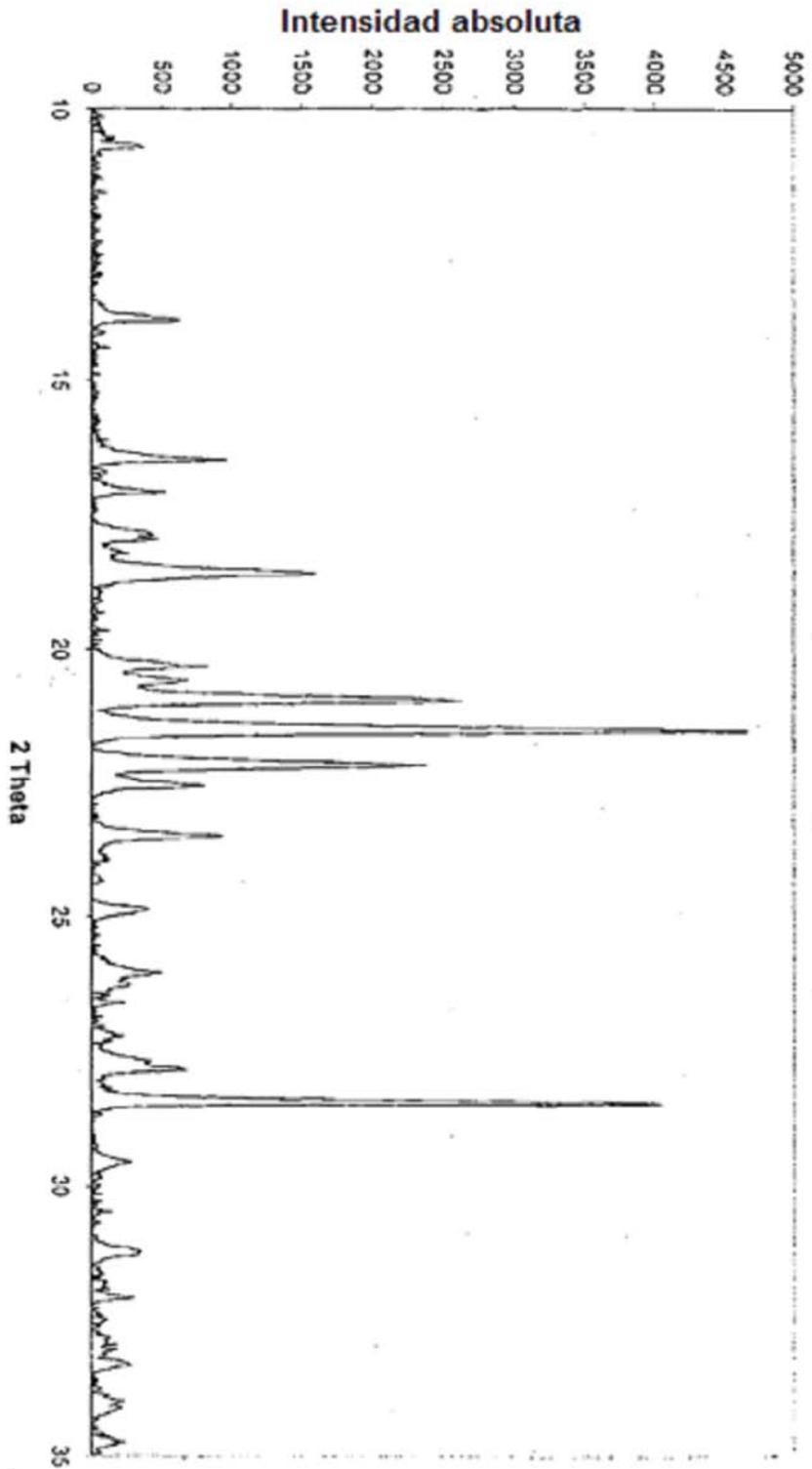
Un difractograma con Cr como fuente de rayos X se muestra para los mismos cristales en la figura 2. Los valores de ángulos dos-theta correspondientes a la figura 2 también se resumen en la tabla 2.

- 5 Un termograma de DSC para los cristales obtenidos de etanol/agua se muestra en la figura 3.

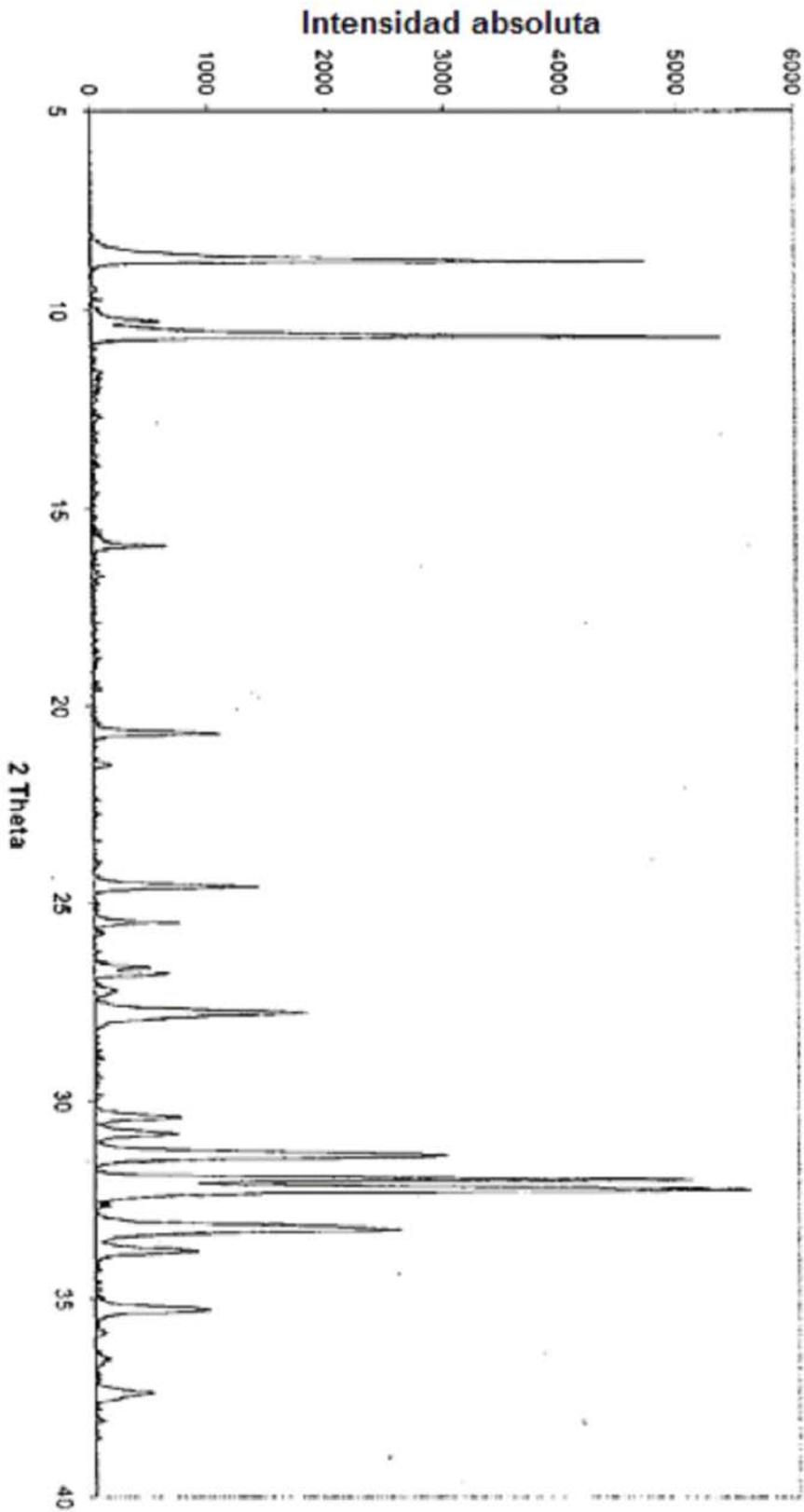
**REIVINDICACIONES**

- 5 1. La forma A del leucotrieno B<sub>4</sub>, que se caracteriza por picos de difracción de rayos X en polvo a ángulos dos-theta de  $18,6 \pm 0,2$ ,  $21,0 \pm 0,2$ ,  $21,5 \pm 0,2$ ,  $22,2 \pm 0,2$  y  $23,5 \pm 0,2$  grados con cobre como fuente de rayos X, con un pico en el rango de 75 °C a 85 °C en un termograma de DSC.
2. Una composición farmacéutica sólida que contiene la forma A del leucotrieno B<sub>4</sub> de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 3. La forma A del leucotrieno B<sub>4</sub> de acuerdo con la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para usar como un medicamento.

FIGURA 1



**Difracción de rayos X de LTB4 cristalino  
(fuente de rayos X cromo)**



3

FIGURA 2

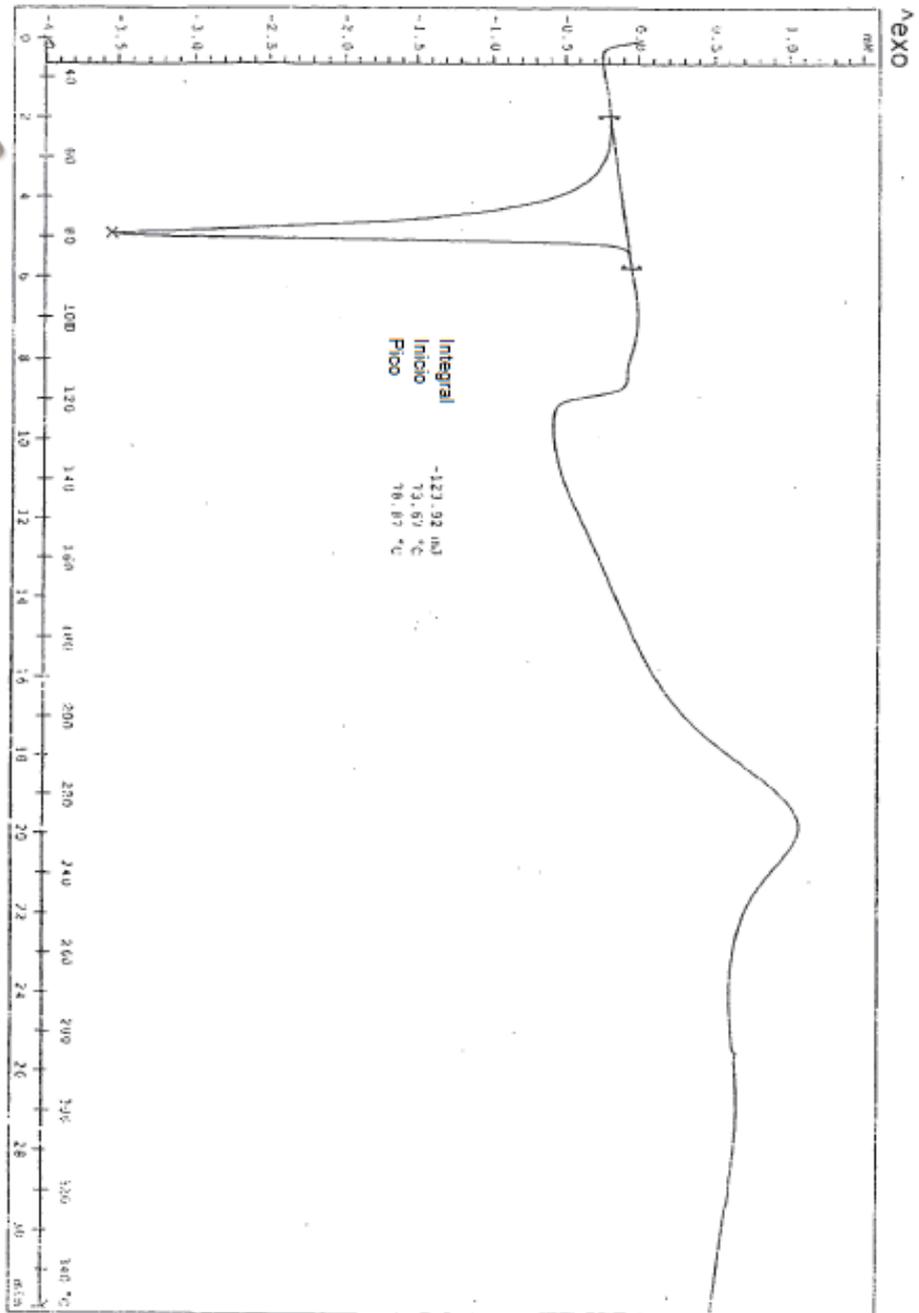


FIGURA 3