

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 476 615**

51 Int. Cl.:

C07D 311/22 (2006.01)

C07D 311/32 (2006.01)

A61K 31/353 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.11.2008 E 08878072 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.04.2014 EP 2360152**

54 Título: **Dos tipos de forma cristalina de pinocembrina: a y b, su preparación y su uso para la fabricación de composiciones farmacéuticas**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.07.2014

73 Titular/es:

**CSPC ZHONGQI PHARMACEUTICAL
TECHNOLOGY (SHIJIAZHUANG) CO., LTD.
(50.0%)
No. 226, Huanghe Street, Shijiazhuang
Hebei 050035, CN y
INSTITUTE OF MATERIA MEDICA, CHINESE
ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**DU, GUANHUA;
LV, YANG;
WU, SONG;
WANG, KE;
CHANG, YING;
YANG, ZHIHONG;
TONG, YUANFENG y
GAO, MEI**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 476 615 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

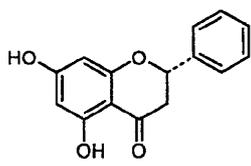
Dos tipos de forma cristalina de pinocembrina: a y b, su preparación y su uso para la fabricación de composiciones farmacéuticas

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a dos formas cristalinas del compuesto pinocembrina, e ingredientes farmacéuticos activos, composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que contienen las dos formas cristalinas de pinocembrina, y al uso de las mismas para la fabricación de composiciones farmacéuticas y el tratamiento de enfermedades, y al procedimiento para preparar las dos formas cristalinas de pinocembrina.

Antecedentes de la invención

- 10 La pinocembrina (nombre químico: 5,7-dihidroxi-2-fenil-4-cromanona) es un compuesto de flavona, que se encuentra ampliamente en la naturaleza. Su estructura química es como sigue:



que existe en isómero l, isómero d, mezcla enriquecida de isómero l o isómero d, y racemato.

- 15 Los experimentos farmacológicos previos mostraron que la pinocembrina tenía fuertes actividades bacteriostáticas, antivíricas y antifúngicas. Por ejemplo, la miel, un alimento para el cuidado de la salud tradicional chino, es rica en pinocembrina. Por lo tanto, el consumo con frecuencia del azúcar de la miel no sólo no es perjudicial para los dientes, sino que también puede esterilizar la cavidad oral, por ejemplo, aliviando una úlcera bucal y acelerando la curación de heridas. La patente china CN1695608A, titulada "Uso de pinocembrina para la fabricación de composiciones farmacéuticas para prevenir y tratar enfermedades relacionadas con la lesión de neuronas" ("Use of pinocembrin for
20 manufacture of pharmaceutical compositions for preventing and treating diseases related to nerve cell injury" ^[1]), divulgó el uso de pinocembrina para la fabricación de composiciones farmacéuticas para prevenir o tratar enfermedades relacionadas con isquemia cerebral, secuelas de isquemia cerebral, lesión de neuronas y alteración funcional.

Descripción de la invención

- 25 Sorprendentemente, se descubrió por los inventores que la pinocembrina tenía dos formas cristalinas diferentes α y β , y los inventores desarrollaron las preparaciones de las mismas. Los inventores también descubrieron que existía una diferencia significativa entre las dos formas cristalinas en la captación por el organismo, en el que la tasa de captación de la forma cristalina β era mayor que la de la forma cristalina α , por ejemplo, la tasa de captación de la forma cristalina β puede ser 2 veces o más mayor que la de la forma cristalina α . Las actividades biológicas de las mismas en el
30 tratamiento con medicamentos son diferentes debido a las diferencias en las concentraciones en sangre de los fármacos.

Un modo de realización de la presente invención proporciona la forma cristalina β , o la mezcla la de forma cristalina α y la forma cristalina β en diferentes proporciones, con respecto a pinocembrina. Preferentemente, estas formas cristalinas o la mezcla de las mismas no contienen agua de cristalización ni otros disolventes orgánicos.

- 35 Un modo de realización de la presente invención proporciona el procedimiento para preparar a partir de la forma cristalina α la forma cristalina β , o la mezcla de la forma cristalina α y la forma cristalina β de pinocembrina en diferentes proporciones.

- Un modo de realización de la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende la forma cristalina β pura, o la mezcla de la forma cristalina α y la forma cristalina β de pinocembrina en diferentes proporciones.
40 La composición farmacéutica también puede comprender uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. No existe limitación sobre los vehículos farmacéuticamente aceptables, siempre que sean adecuados para la formulación y no afecten sustancialmente al efecto de la forma cristalina de pinocembrina de la presente invención.

- Un modo de realización de la presente invención se refiere a formas de dosificación que comprenden la forma cristalina β de pinocembrina sólida. No existen limitaciones sobre las formas de dosificación. Por ejemplo, pueden ser
45 comprimidos, cápsulas, pastillas, inyecciones, preparaciones de liberación sostenida, preparaciones de liberación controlada y similares.

Un modo de realización de la presente invención proporciona el uso de las formas cristalinas sólidas de pinocembrina, incluyendo la forma cristalina α , la forma cristalina β o la mezcla de la forma cristalina α y la forma cristalina β en diferentes proporciones, para lograr una diferencia en la captación del fármaco en el tratamiento.

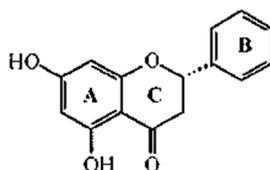
5 Un modo de realización de la presente invención se refiere al uso de la forma cristalina β , o la mezcla de forma cristalina α y la forma cristalina β de pinocembrina en diferentes proporciones en la fabricación de un medicamento para tratar enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral o un medicamento para prevenir enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral protegiendo la función de unidad neurovascular.

10 Un modo de realización de la presente invención proporciona el uso de pinocembrina para proteger la función de unidad neurovascular en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral, y para mejorar la concentración en sangre en un organismo debido al efecto de la forma cristalina.

Características morfológicas de una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina de acuerdo con un modo de realización:

15 Para una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina obtenida de acuerdo con un modo de realización de la presente invención, al analizarla por difracción de rayos X de cristal individual, mostró una simetría del sistema cristalino monoclinico, el grupo espacial fue $P2_1/c$, y los valores de los parámetros de celda cristalina fueron los siguientes: $a=5,189\text{\AA}$, $b=24,149\text{\AA}$, $c=10,472\text{\AA}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=102,31^\circ$ y $\gamma=90^\circ$.

20 La Fig. 1 es una ilustración que muestra la configuración relativa de la molécula, la Fig. 2 es una ilustración que muestra la proyección estereoestructural de la molécula, la Fig. 3 es una ilustración que muestra el apilamiento de celda unitaria de la molécula a lo largo del eje a. La tabla 1 muestra los parámetros de coordenadas atómicas y los factores de temperatura equivalentes. La tabla 2 muestra los valores de la longitud de enlace de los átomos enlazados. La tabla 3 muestra los valores del ángulo de enlace de los átomos enlazados. Puesto que algunos átomos de carbono del anillo B adoptan un estado de orientación desordenado, los cuatro átomos de C_2 , C_3 , C_5 y C_6 ocupan dos posiciones, con una tasa de ocupación de 0,5, respectivamente.



25 Fórmula 1. Configuración de molécula relativa de la forma cristalina α de pinocembrina

Tabla 1. Parámetros de coordenadas atómicas (coordenada relativa) de una muestra de forma cristalina α de pinocembrina

	x	y	z	factores de temperatura	ocupación
O 1	-0,2023(8)	-0,6574(2)	-0,7376(4)	3,4(2)	1,0
O 2	-0,4261(9)	-0,8310(2)	-0,5601(4)	4,3(2)	1,0
O 3	-0,8660(9)	-0,6732(2)	-0,3557(4)	4,2(2)	1,0
O 4	-0,6128(8)	-0,7370(2)	-0,4969(4)	3,6(2)	1,0
C 2	-0,4094(24)	-0,6318(3)	-0,6954(12)	3,5(8)	1,0
C 3	-0,5019(13)	-0,6513(3)	-0,5885(6)	3,6(3)	1,0
C 4	-0,4859(12)	-0,7131(3)	-0,5720(6)	3,0(3)	1,0
C10	-0,3269(12)	-0,7427(2)	-0,6435(6)	2,8(3)	1,0
C 5	-0,2968(12)	-0,8009(2)	-0,6366(6)	3,1(3)	1,0
C 6	-0,1407(13)	-0,8289(2)	-0,7054(6)	3,3(3)	1,0
C 7	-0,0117(12)	-0,7979(2)	-0,7862(6)	3,1(3)	1,0
C 8	-0,0336(12)	-0,7405(2)	-0,7966(6)	2,8(3)	1,0
C 9	-0,1894(12)	-0,7138(2)	-0,7262(6)	2,9(3)	1,0
C 1'	-0,4049(18)	-0,5701(3)	-0,7176(9)	6,7(5)	1,0

(Continuación)

	x	y	z	factores de temperatura	ocupación
C 2'	-0,316(5)	-0,5292(7)	-0,6099(19)	7,4(2)	0,5
C 3'	-0,326 (5)	-0,4730(7)	-0,6436(21)	7,4(1)	0,5
C 4'	-0,3988(18)	-0,4566(3)	-0,7567(10)	7,5(1)	1,0
C 5'	-0,456 (5)	-0,4929(8)	-0,8580(22)	7,9(2)	0,5
C 6'	-0,435 (6)	-0,5510(7)	-0,8288(23)	7,8(2)	0,5
C 2''	-0,194(4)	-0,5453(7)	-0,6870(25)	7,1(1)	0,5
C 3''	-0,178(4)	-0,4859(7)	-0,700 (3)	7,3(2)	0,5
C 5''	-0,630 (4)	-0,4859(7)	-0,7856(22)	7,4(1)	0,5
C 6''	-0,640 (4)	-0,5432(6)	-0,7752(22)	8,8(1)	0,5
H 2	-0,591	-0,644	-0,779	7,6	1,0
H 3A	-0,701	-0,637	-0,587	5,0	1,0
H 3B	-0,369	-0,632	-0,502	5,0	1,0
H 6	-0,116	-0,874	-0,697	4,3	1,0
H 8	0,070	-0,717	-0,861	3,6	1,0
HO 2	-0,525	-0,802	-0,507	3,2	1,0
HO 3	-0,775	-0,699	-0,420	3,2	1,0
H 2'	-0,177	-0,548	-0,528	3,2	0,5
H 3'	-0,160	-0,447	-0,578	3,2	0,5
H 4'	-0,430	-0,413	-0,771	3,2	1,0
H 5'	-0,591	-0,477	-0,952	3,2	0,5
H 6'	-0,533	-0,577	-0,908	3,2	0,5
H 2''	-0,095	-0,557	-0,569	3,2	0,5
H 3''	-0,072	-0,456	-0,601	3,2	0,5
H 5''	-0,723	-0,469	-0,896	3,2	0,5
H 6''	-0,742	-0,570	-0,857	3,2	0,5

Tabla 2. Valores de la longitud de enlace de los átomos enlazados de una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina (Å)

Átomos enlazados	Longitud de enlace	Átomos enlazados	Longitud de enlace
O(1)-C(2)	1,391 (9)	C(6)-C(7)	1,402(8)
O(1)-C(9)	1,369(7)	C(6)-H(6)	1,098(16)
O(2)-C(5)	1,360(7)	C(7)-O(3)	1,351(7)
O(2)-Ho(2)	1,090(20)	C(7)-C(8)	1,393(8)
O(3)-C(7)	1,351(7)	C(8)-C(9)	1,366(8)
O(3)-Ho(3)	1,100(21)	C(8)-H(8)	1,099(23)
O(4)-C(4)	1,268(7)	C(1')-C(2')	1,497(22)
C(2)-C(3)	1,391(11)	C(1')-C(6')	1,230(30)
C(2)-C(1')	1,509(10)	C(2')-C(3')	1,399(25)
C(2)-H(2)	1,183(24)	C(2')-H(2')	1,090(30)

(Continuación)

Átomos enlazados	Longitud de enlace	Átomos enlazados	Longitud de enlace
C(3)-C(4)	1,503(8)	C(3')-C(4')	1,229(24)
C(3)-H(3A)	1,087(21)	C(3')-H(3')	1,160(30)
C(3)-H(3B)	1,109(21)	C(4')-C(5')	1,360(30)
C(4)-C(10)	1,420(8)	C(4')-H(4')	1,072(17)
C(10)-C(5)	1,416(8)	C(5')-C(6')	1,430(3)
C(10)-C(9)	1,417(8)	C(5')-H(5')	1,150(3)
C(5)-C(6)	1,371(8)	C(6')-H(6')	1,080(3)

Tabla 3. Valores del ángulo de enlace de los átomos enlazados de una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina ($^{\circ}$)

Átomos enlazados	Valor del ángulo de	Átomos enlazados	Valor del ángulo de enlace
C(2)-O(1)-C(9)	116,2(5)	C(5)-C(6)-H(6)	121,2(13)
C(5)-O(2)-Ho(2)	107,8(11)	C(7)-C(6)-H(6)	121,1(13)
C(7)-O(3)-Ho(3)	113,3(11)	O(3)-C(7)-C(6)	116,2(5)
C(4)-O(4)-Ho(2)	102,1(9)	O(3)-C(7)-C(8)	121,3(5)
C(4)-O(4)-Ho(3)	117,2(8)	C(6)-C(7)-C(8)	122,5(5)
O(1)-C(2)-C(3)	121,9(7)	C(7)-C(8)-C(9)	118,3(5)
O(1)-C(2)-C(1')	110,5(6)	C(7)-C(8)-H(8)	120,8(10)
O(1)-C(2)-H(2)	101,5(12)	C(9)-C(8)-H(8)	120,9(10)
C(3)-C(2)-C(1')	118,5(7)	O(1)-C(9)-C(10)	121,4(5)
C(3)-C(2)-H(2)	99,1(13)	O(1)-C(9)-C(8)	116,5(5)
C(1')-C(2)-H(2)	99,8(11)	C(10)-C(9)-C(8)	122,1(5)
C(2)-C(3)-C(4)	114,0(6)	C(2)-C(1')-C(2')	123,3(10)
C(2)-C(3)-H(3A)	113,3(13)	C(2)-C(1')-C(6')	120,9(11)
C(2)-C(3)-H(3B)	104,8(14)	C(1)-C(2')-C(3')	117,4(16)
C(4)-C(3)-H(3A)	109,6(10)	C(1')-C(2')-H(2')	111,2(16)
C(4)-C(3)-H(3B)	107,7(10)	C(2')-C(3')-C(4')	122,9(16)
H(3A)-C(3)-H(3B)	106,9(15)	C(2')-C(3')-H(3')	113,0(20)
O(4)-C(4)-C(3)	120,1(5)	C(4')-C(3')-H(3')	115,5(20)
O(4)-C(4)-C(10)	122,2(5)	C(3')-C(4')-C(5')	121,0(13)
C(3)-C(4)-C(10)	117,6(5)	C(3')-C(4')-H(4')	117,3(16)
C(4)-C(10)-C(5)	123,0(5)	C(5')-C(4')-H(4')	121,5(16)
C(4)-C(10)-C(9)	120,0(5)	C(4')-C(5')-C(6')	118,0(18)
C(5)-C(10)-C(9)	117,0(5)	C(4')-C(5')-H(5')	116,5(18)
O(2)-C(5)-C(10)	119,8(5)	C(6')-C(5')-H(5')	120,9(24)
O(2)-C(5)-C(6)	117,9(5)	C(1')-C(6')-C(5')	123,9(17)
C(10)-C(5)-C(6)	122,3(5)	C(1')-C(6')-H(6')	117,0(19)
C(5)-C(6)-C(7)	117,8(5)	C(5')-C(6')-H(6')	113,9(25)

Nota: en la tabla 2 y 3, para los átomos C_{2'}, C_{3'}, C_{5'} y C_{6'} del anillo B, sólo se dan los valores de la longitud de enlace y del ángulo de enlace en la tabla 2 y 3.

5

Se realizó la difracción de rayos X en polvo (policristalino) (radiación CuK α) en la forma cristalina α sólida de pinocembrina y las localizaciones de los picos de difracción: valor 2-Theta ($^{\circ}$) o valor d (Å), y la resistencia relativa del

pico de difracción: valor de la altura del pico (% altura) o valor del área de pico (% área) muestran las siguientes características (véase la tabla 4, Fig. 4).

Tabla 4 Valores de picos característicos de la difracción en polvo de rayos X para una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina

Pico	2-Theta	d(Å)	% altura	% área	Pico	2-Theta	d(Å)	% altura	% área
1	7,32	12,07	100,0	100,0	17	27,30	3,26	7,2	9,6
2	9,37	9,44	2,3	2,5	18	27,51	3,24	7,1	14,1
3	11,30	7,82	2,1	2,2	19	28,29	3,15	5,7	6,4
4	13,93	6,35	1,5	2,5	20	29,53	3,02	1,7	1,9
5	14,65	6,04	27,3	27,1	21	30,88	2,89	0,8	1,0
6	17,04	5,20	5,5	8,7	22	34,51	2,60	1,2	1,2
7	17,31	5,12	11,8	18,2	23	35,37	2,54	0,5	0,6
8	17,80	4,98	5,6	26,6	24	37,21	2,41	2,4	2,4
9	18,16	4,88	2,2	1,8	25	38,27	2,35	0,8	1,4
10	18,83	4,71	1,6	2,1	26	40,53	2,22	0,5	0,8
11	21,47	4,13	0,9	0,5	27	41,40	2,18	0,3	0,3
12	22,06	4,03	12,5	13,8	28	42,09	2,15	1,1	1,1
13	22,40	3,97	2,2	2,4	29	45,96	1,97	2,8	3,2
14	23,09	3,85	2,6	2,0	30	46,67	1,94	0,5	0,7
15	23,74	3,74	1,8	1,6	31	56,49	1,63	0,3	0,5
16	25,83	3,45	1,5	1,8					

- 5 En un modo de realización de la presente invención, cuando se analiza por DSC, la forma cristalina α sólida de pinocembrina muestra una temperatura de transición de decaescencia de aproximadamente 206 °C (véase la Fig. 5).

- 10 Se realizó el análisis IR con pastillas de KBr en la forma cristalina α sólida de pinocembrina (véase la Fig. 6). Los picos característicos fueron los siguientes: 3090,6, 3011,6, 2889,1, 2747,4, 2636,2, 1631,5, 1602,5, 1584,3, 1487,7, 1466,2, 1454,5, 1435,6, 1354,9, 1302,4, 1257,0, 1217,0, 1168,2, 1088,6, 1064,9, 1028,0, 1014,6, 1001,3, 975,8, 918,0, 887,7, 861,8, 825,9, 789,9, 766,4, 715,2, 698,1, 663,7, 646,7, 620,3, 587,3, 574,9, 560,5, 526,9 y 487,9 cm⁻¹, en el que los picos de 2891,1, 2747,4, 2636,2, 1631,5 y 1354,9 cm⁻¹ fueron los picos característicos principales de la forma cristalina α sólida de pinocembrina.

Características morfológicas de una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina de acuerdo con un modo de realización:

- 15 Para la forma cristalina β de pinocembrina obtenida de acuerdo con un modo de realización de la presente invención, al analizarla por difracción de rayos X en polvo (policristalino) (radiación CuK α), mostró la localización de pico de difracción: valor 2-Theta (°) o valor d (Å) y la resistencia relativa del pico de difracción: valor de la altura de pico (% altura) o valor del área de pico (% área), mostrados como los valores de pico característicos (véase la tabla 5, Fig. 7)

20 Tabla 5 Valores de picos característicos de la difracción en polvo de rayos X para una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina

Pico	2-Theta	d(Å)	% altura	% área	Pico	2-Theta	d(Å)	% altura	% área
1	7,33	12,06	100,0	66,5	14	29,51	3,02	1,6	0,3
2	9,41	9,40	6,2	4,9	15	31,03	2,88	0,7	0,4
3	11,33	7,81	6,1	4,5	16	34,47	2,60	1,0	1,5
4	14,07	6,29	2,9	2,2	17	35,45	2,53	0,4	0,2
5	14,69	6,03	27,2	17,6	18	37,24	2,41	1,5	0,7
6	17,49	5,07	63,9	100,0	19	38,15	2,36	1,2	0,9
7	19,01	4,67	2,8	1,5	20	40,61	2,22	3,1	2,8
8	21,49	4,13	0,1	0	21	42,83	2,11	1,5	1,4
9	22,11	4,02	12,9	11,2	22	44,89	2,02	1,6	1,3
10	23,17	3,84	19,4	9,5	23	46,01	1,97	2,4	1,8
11	25,91	3,44	3,3	2,5	24	50,36	1,81	0,7	0,8
12	27,41	3,25	31,7	27,4	25	56,63	1,62	1,0	0,9
13	28,31	3,15	19,0	15,1					

En un modo de realización de la presente invención, cuando se analiza por DSC, la forma cristalina β sólida de pinocembrina muestra una temperatura de transición de decaescencia de aproximadamente 204 °C (véase la Fig. 8).

5 Se realizó el análisis IR con pastillas de KBr en la forma cristalina β sólida de pinocembrina de acuerdo con un modo de realización de la presente invención (véase la Fig. 9). Los picos característicos fueron los siguientes: 3090,8, 2890,0, 2748,9, 2638,3, 1633,5, 1602,9, 1585,0, 1487,9, 1466,1, 1454,3, 1344,4, 1302,7, 1216,7, 1168,2, 1088,4, 1065,5, 1028,8, 1014,3, 1001,5, 975,8, 917,8, 888,2, 861,8, 826,6, 789,1, 766,6, 741,1, 715,4, 698,0, 663,7, 646,0, 620,5, 587,9, 574,8, 560,9, 527,2 y 488,4 cm^{-1} , en el que los picos de 2890,0, 2748,9, 2638,3, 1633,5 y 1344,4 cm^{-1} fueron los picos característicos principales de la forma cristalina β sólida de pinocembrina.

10 Procedimiento para preparar una muestra de forma cristalina α de pinocembrina de acuerdo con un modo de realización de la presente invención

(1) disolver una muestra completamente en un disolvente seleccionado del grupo que consiste en metanol, etanol, cloroformo, acetona, acetato de etilo, n-butanol, isopropanol, acetonitrilo, THF, dioxano, etanol al 95 %, ácido acético glacial, ácido fórmico, éter, diclorometano, tolueno, benceno, n-hexano, ciclohexano, dioxano, DMF, éter de petróleo, amoníaco, n-propanol, o una mezcla de los mismos, a continuación,

15 (a) colocar la mezcla en una condición de temperatura de 4-50 °C y humedad relativa del 10%-75% para permitir la recristalización durante de 1 a 60 días, o

(b) añadir agua para permitir el precipitado, a continuación obtener la forma cristalina α de pinocembrina por medio de filtración a presión reducida, secado por congelación o pulverización en frío.

20 Procedimiento para preparar una muestra de forma cristalina β de pinocembrina de acuerdo con un modo de realización de la presente invención

usar una muestra de forma cristalina α como material, a continuación obtener una muestra de forma cristalina β de pinocembrina por medio de

(a) transición cristalina por molienda, o

25 (b) disolver el material completamente en un disolvente de piridina o DMSO, añadir agua para permitir el precipitado, y realizar la filtración a presión reducida, secado por congelación o pulverización en frío.

Características farmacodinámicas de la muestra de pinocembrina:

30 La forma cristalina α pura, la forma cristalina β pura o la mezcla de las formas cristalinas α y β de pinocembrina en cualquier proporción de acuerdo con la presente invención tienen un efecto sobre el tratamiento de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral o la prevención de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral protegiendo la función de la unidad neurovascular.

Existe una diferencia en la biodisponibilidad entre la forma cristalina α pura y la forma cristalina β pura de la presente invención. Para administración oral, la biodisponibilidad de la forma cristalina β es más de 2 veces mayor que la de la forma cristalina α . Para una mezcla de las dos formas cristalinas en cualquier proporción, la biodisponibilidad de las mismas puede variar, dependiendo del diferente contenido de la forma cristalina β .

35 Características de dosificación y preparación:

Para una composición farmacéutica o una preparación que comprende la forma cristalina α pura, la forma cristalina β pura o una mezcla de las mismas en cualquier proporción de pinocembrina de acuerdo con un modo de realización de la presente invención, la dosificación diaria es de 5-250 mg, basada en las formas cristalinas sólidas de pinocembrina. Las preparaciones incluyen comprimidos, cápsulas, pastillas, inyecciones, preparaciones de liberación sostenida, preparaciones de liberación controlada y similares.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una ilustración que muestra la configuración relativa de la molécula.

La Fig. 2 es una ilustración que muestra la proyección estereoestructural de la molécula.

La Fig. 3 es una ilustración que muestra el apilamiento de celda unitaria de la molécula (a lo largo del eje a).

45 La Fig. 4 es un patrón de difracción en polvo de rayos X para una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina.

La Fig. 5 es una traza de DSC para una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina.

La Fig. 6 es un espectro de absorción infrarrojo para una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina.

La Fig. 7 es un patrón de difracción en polvo de rayos X para una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina.

La Fig. 8 es una traza de DSC para una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina.

La Fig. 9 es un espectro de absorción infrarrojo para una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina.

Descripción detallada de la invención

5 Las siguientes ejemplos ejemplares se proporcionan con el propósito de una mejor descripción de la presente invención, sin embargo, se debe apreciar que la presente invención no está limitada a los ejemplos dados.

Instrumentos y condiciones de prueba para los siguientes ejemplos:

1. Análisis de rayos X monocristalino

Instrumento: Detector de área MAC DIP-2030K

10 Condición de prueba: voltaje de tubo: 50 KV, flujo de tubo: 80 mA. barrido ω , MoK_α $2\theta < 50,0^\circ$, intervalo de barrido: $0-180^\circ$, ángulo de giro: 6° , etapa: 6° , velocidad de barrido: $1,8^\circ/\text{min}$.

2. Análisis de rayos X en polvo

Instrumento: Difractómetro de rayos X en polvo Rigaku D/max 2550

Condiciones de prueba: voltaje: 40 KV, corriente: 150 mA, velocidad de barrido: $8^\circ/\text{min}$.

3. Análisis de DSC

15 Tipo de instrumento: Seiko Instruments Inc. Condiciones de prueba del calorímetro de barrido diferencial: gas de purga: N_2 , velocidad de calentamiento: $10^\circ\text{C}/\text{min}$. Intervalo de temperatura: $25-250^\circ\text{C}$

4. Espectros de absorbancia IR

Instrumento: Espectrómetro Nicolet FT-IR: IMPACT 400

Condiciones de prueba: Pastilla de KBr

20 5. Análisis de HPLC

Instrumento: Cromatografía líquida de alta resolución SHIMADZU LC-10Avp. Detector de matriz de diodo SPD-M10Avp, sistema de datos de cromatografía CLASS-VP; columna: Alltch C_{18} ($5\ \mu$, $150 \times 4,6\ \text{mm}$); condiciones de prueba: temperatura de columna: temperatura ambiente; longitud de onda: 290 nm; fase móvil: metanol/solución salina con fosfato pH 3,0 (64/36); caudal: 1,0 ml/min; volumen de inyección: 20 μl ; concentración de inyección: 500,0 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

25 Preparación 1: Síntesis de la muestra de pinocembrina

30 A un hervidor de reacción de hidrogenación de 1000 ml se le añadieron 5 g (19,7mmol) de 5,7-dihydroxiflavona, 650 ml de etanol anhidro, y 1,5 g de paladio al 10 % sobre carbono. Bajo una presión de hidrógeno de 0,13 MPa, se llevó a cabo la reacción durante 4 h a 40°C . Cuando terminó la reacción, se filtró el paladio sobre carbono. Se concentró el filtrado, a continuación se separó y se purificó por cromatografía en columna (eluida por metanol: éter acético : éter de petróleo = 2:10:100 (V:V:V)) a vacío. Se evaporó el disolvente hasta sequedad, y se obtuvieron 3,9 g de polvo sólido amorfo blanco (pureza: 98,6 %, detectado por HPLC) con un rendimiento de un 52 %^[2].

Preparación de una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina

Ejemplo 1: Procedimiento 1 para preparar una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina

35 Se añadieron 5 g de pinocembrina a 20 ml de etanol al 95 %, y se calentó hasta que se disolvió completamente, a continuación se enfrió hasta temperatura ambiente y se dejó en reposo durante 24 h. Se precipitó un sólido blanco, y se filtró y se secó. Se obtuvieron 4,5 g de forma cristalina blanca (pureza: 98,8 %, detectado por HPLC) en una recuperación de un 90 %.

40 Se analizó la forma cristalina obtenida por difracción de cristal individual de rayos X. Mostró simetría monoclinica, el grupo espacial fue $\text{P}2_1/\text{c}$, y los valores de los parámetros de celda cristalina fueron $a=5,189\text{\AA}$, $b=24,149\text{\AA}$, $c=10,472\text{\AA}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=102,31^\circ$ y $\gamma=90^\circ$.

Se realizó la difracción de rayos X en polvo (policristalino) (radiación CuK_α) en la forma cristalina obtenida. Los valores de picos característicos de la localización de picos de difracción: valor 2-Theta ($^\circ$) o valor d (\AA) y la resistencia relativa del pico de difracción: valor de la altura de pico (% altura) o valor del área de pico (% área) se mostraron en la tabla 4 y la traza obtenida se mostró en la Fig. 4.

Se realizó el análisis DSC en la forma cristalina obtenida y la temperatura de transición de decaescencia fue de 206 °C.

Se realizó el análisis IR con pastilla de KBr en la forma cristalina obtenida y los picos característicos fueron los siguientes: 3090,6, 3011,6, 2889,1, 2747,4, 2636,2, 1631,5, 1602,5, 1584,3, 1487,7, 1466,2, 1454,5, 1435,6, 1354,9, 1302,4, 1257,0, 1217,0, 1168,2, 1088,6, 1064,9, 1028,0, 1014,6, 1001,3, 975,8, 918,0, 887,7, 861,8, 825,9, 789,9, 766,4, 715,2, 698,1, 663,7, 646,7, 620,3, 587,3, 574,9, 560,5, 526,9 y 487,9 cm^{-1} .

Los datos de espectros anteriores mostraron que la forma cristalina obtenida en el presente ejemplo fue la forma cristalina α .

Ejemplos 2 a 10: Procedimientos 2 a 10 para preparar una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina

En referencia al procedimiento de preparación del ejemplo 1, usando acetato de etilo, cloroformo, acetona, acetonitrilo, THF, éter, benceno, ciclohexano o DMF como disolvente, se obtuvo una forma cristalina blanca de pinocembrina. Los resultados de los experimentos se mostraron en la tabla 6. Se realizaron la difracción de rayos X en polvo, análisis de DSC e IR en la forma cristalina obtenida, y los resultados mostraron que la forma cristalina fue la forma cristalina α de pinocembrina.

Tabla 6 Resultados de la preparación de muestras de la forma cristalina α de pinocembrina

Ejemplo	Disolvente de reacción	Peso de producto (g)	Pureza HPLC (%)	Recuperación (%)
2	acetato de etilo	4,40	99,0	88
3	cloroformo	4,30	98,7	86
4	acetona	4,30	99,1	86
5	acetonitrilo	4,20	98,9	84
6	THF	4,25	98,8	85
7	éter	4,35	98,6	87
8	benceno	4,20	98,9	84
9	ciclohexano	4,20	98,6	84
10	DMF	4,20	98,7	84

Ejemplo 11: Procedimiento 11 para preparar la muestra de la forma cristalina α de pinocembrina

Se disolvieron 5 g de la muestra de pinocembrina en 100 ml de mezcla de etanol al 95 % y acetona (etanol al 95 % : acetona = 1:1) completamente a temperatura ambiente, a continuación se añadieron 100 ml de agua bajo agitación, y apareció un precipitado blanco. Se filtró el precipitado bajo presión reducida y se secó para obtener 4,00 g de forma cristalina blanca (pureza: 98,7 %) en una recuperación de un 80,0 %. Se realizaron la difracción de rayos X en polvo, análisis de DSC e IR en la forma cristalina obtenida, y los resultados mostraron que la forma cristalina fue la forma cristalina α de pinocembrina.

Ejemplos 12 a 16

Procedimientos 12 a 16 para preparar una muestra de la forma cristalina α de pinocembrina

En referencia al procedimiento de preparación del ejemplo 1, usando la mezcla de isopropanol y THF (isopropanol : THF = 2:1), la mezcla de acetonitrilo y DM (acetonitrilo : DMF = 4:1), la mezcla de metanol y acetona (metanol acetona = 3:2), la mezcla de etanol y acetonitrilo (etanol : acetonitrilo = 1:1), y la mezcla de etanol, acetona y ácido acético glacial (etanol:acetona:ácido acético glacial = 2:1:0,1) como disolventes, se obtuvo una forma cristalina de pinocembrina. Los resultados de los experimentos se mostraron en la tabla 7. Se realizaron la difracción de rayos X en polvo, análisis de DSC e IR en la forma cristalina obtenida, y los resultados mostraron que la forma cristalina obtenida era la forma cristalina α de pinocembrina.

Tabla 7 Resultados de las muestras de la forma cristalina α de pinocembrina

Ejemplo	Disolvente de reacción	Peso de producto (g)	HPLC Pureza (%)	Recuperación (%)
12	2 : 1 isopropanol-THF	4,00	98,8	80
13	4 : 1 acetonitrilo-DMF	3,80	98,7	76
14	3 : 2 metanol-acetona	3,90	98,9	78
15	1 : 1 etanol-acetonitrilo	4,05	99,0	81
16	2:1: 0,1 etanol-acetona-ácido acético glacial	4,10	98,9	82

Preparación de una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina

Ejemplo 17: Procedimiento 1 para preparar una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina

5 Se colocaron 10 g de la muestra de forma cristalina α de pinocembrina en un mortero, se molió uniformemente en el mismo sentido durante 1 hora a temperatura ambiente, y se obtuvo una forma cristalina blanca, que es diferente de la forma cristalina α .

Se realizó la difracción de rayos X en polvo (policristalino) (radiación $\text{CuK}\alpha$) en la forma cristalina obtenida. Los valores de los picos característicos de la localización del pico de difracción: valor 2-Theta ($^\circ$) o valor d (Å) y la resistencia relativa del pico de difracción: valor de la altura de pico (% altura) o valor del área de pico (% área) se mostraron en la tabla 5, y la traza obtenida se mostró en la Fig. 7.

10 Se realizó el análisis DSC en la forma cristalina obtenida y la temperatura de transición de decalescencia fue de 204 $^\circ\text{C}$, como se mostró en la traza de DSC.

15 Se realizó el análisis IR con pastilla de KBr en la forma cristalina obtenida y los picos característicos fueron los siguientes: 3090,8, 2890,0, 2748,9, 2638,3, 1633,5, 1602,9, 1585,0, 1487,9, 1466,1, 1454,3, 1344,4, 1302,7, 1216,7, 1168,2, 1088,4, 1065,5, 1028,8, 1014,3, 1001,5, 975,8, 917,8, 888,2, 861,8, 826,6, 789,1, 766,6, 741,1, 715,4, 698,0, 663,7, 646,0, 620,5, 587,9, 574,8, 560,9, 527,2 y 488,4 cm^{-1} .

Los datos de espectros anteriores mostraron que la forma cristalina obtenida en el presente ejemplo fue la forma cristalina β .

Ejemplo 18: Procedimiento 2 para preparar la forma cristalina β de pinocembrina

20 A temperatura ambiente, se disolvieron 5 g de la muestra de pinocembrina en 75 ml de DMSO, a continuación se añadieron a 150 ml de agua bajo agitación, y apareció un precipitado blanco. Se filtró el precipitado y se secó para obtener 4,2 g de forma cristalina blanca (pureza: 98,8 %, detectado por HPLC) en una recuperación de un 84,0 %. Se realizaron la difracción de rayos X en polvo, análisis de DSC e IR en la forma cristalina obtenida, y los resultados mostraron que la forma cristalina fue la forma cristalina β de pinocembrina.

Ejemplo 19: Procedimiento 3 para preparar una muestra de la forma cristalina β de pinocembrina

25 Se usó el mismo procedimiento de preparación que en el ejemplo 18, excepto porque se usó piridina como disolvente, y se obtuvieron 8,8 g de forma cristalina blanca (pureza: 98,6 %, detectado por HPLC) en una recuperación de un 88,0 %. Se realizaron la difracción de rayos X en polvo, análisis de DSC e IR en la forma cristalina obtenida, y los resultados mostraron que la forma cristalina fue la forma cristalina β de pinocembrina.

Ejemplo 20

30 Procedimiento para preparar una muestra de mezcla de forma cristalina α y forma cristalina β de pinocembrina en una proporción de 1:1

Se pesaron respectivamente 10 g de forma cristalina α y β de la muestra de pinocembrina y se colocaron en un recipiente sellable. Se selló el recipiente y se sacudió para mezclar el sólido uniformemente. Se obtuvo la muestra de mezcla de la forma cristalina α y β en una proporción de 1:1.

35 Ejemplo de formulación 21

Procedimiento 1 para preparar una preparación farmacéutica combinada (comprimido)

40 Las muestras de la forma cristalina α pura, la forma cristalina β pura, o la mezcla sólida de la forma cristalina ($\alpha + \beta$) ($\alpha : \beta = 1:1$) de pinocembrina se mezclaron con excipientes en diferentes proporciones para obtener un sólido de los ingredientes activos farmacéuticos combinados. Se prepararon comprimidos que contenían 5~60 mg de ingredientes activos. Las fórmulas de los comprimidos se dan en la tabla 8.

Tabla 8 Fórmula de preparación para comprimidos de pinocembrina combinados

Componentes	cantidad (g/1000 comprimidos)						
	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4	Fórmula 5	Fórmula 6	Fórmula 7
Pinocembrina (g)	5,0	10,0	20,0	30,0	40,0	50,0	60,0
Lactosa (g)	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Almidón (g)	35	30	20	10	—	—	—
Hidroxietilcelulosa poco sustituida (g)	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
MCC (g)	—	—	—	—	3,0	3,0	3,0
Polvo de talco (g)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0
Estearato de magnesio (g)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Hidroximetilcelulosa de sodio al 1 %	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.

El procedimiento de preparación detallado fue como sigue: mezclar los excipientes con pinocembrina uniformemente, a continuación añadir la cantidad apropiada de solución de hidroximetilcelulosa de sodio al 1 % para preparar una masa. Se cribó la masa para obtener gránulos. Los gránulos húmedos se secaron y se tamizaron. A continuación, se añadieron estearato de magnesio y polvo de talco y se mezclaron uniformemente, y se obtuvo el producto formando comprimidos.

Ejemplo 22

Procedimiento 2 para preparar una formulación farmacéutica combinada (cápsula)

Las muestras de la forma cristalina α pura, la forma cristalina β pura, o la mezcla sólida de la forma cristalina ($\alpha + \beta$) ($\alpha : \beta = 1:1$ o $1:3$) de pinocembrina se mezclaron con excipientes en diferentes proporciones para obtener un sólido de los ingredientes activos farmacéuticos combinados. Se prepararon las cápsulas que contenían 5-60 mg de ingredientes activos. Las fórmulas de las cápsulas se dan en la tabla 9.

Tabla 9 Fórmulas de preparación para cápsulas de pinocembrina combinadas

Componentes	Cantidad (g/1000 cápsulas)						
	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4	Fórmula 5	Fórmula 6	Fórmula 7
Pinocembrina (g)	5,0	10,0	20,0	30,0	40,0	50,0	60,0
Lactosa (g)	—	—	—	—	—	—	—
Almidón (g)	100,0	100,0	100,0	100,0	—	—	—
MCC(g)	-	-	-	-	70,0	60,0	50,0
Estearato de magnesio (g)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Hidroximetilcelulosa de sodio al 1%	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.	c.s.

El procedimiento de preparación detallado fue como sigue: mezclar los excipientes con pinocembrina uniformemente, a continuación se añadió la cantidad apropiada de solución de hidroximetilcelulosa de sodio al 1 % para preparar gránulos húmedos, los gránulos húmedos se secaron y se tamizaron. Se añadió el estearato de magnesio y se mezcló uniformemente, y se obtuvo el producto llenando la mezcla anterior en cápsulas vacías. De forma alternativa, sin granulación, se obtuvo el producto llenando los excipientes y la pinocembrina en cápsulas vacías directamente, después de que se mezclaran uniformemente y se tamizaran.

Ejemplo 23

Procedimiento 3 para preparar una formulación farmacéutica combinada (solución de inyección y polvo secado por congelación para inyección)

5 La forma cristalina α pura, la forma cristalina β pura, o la mezcla sólida de la forma cristalina ($\alpha + \beta$) ($\alpha : \beta = 1:1$) de pinocebrina se mezclaron con excipientes en diferentes proporciones para obtener un sólido de los ingredientes activos farmacéuticos combinados. A continuación, se obtuvieron las inyecciones que contenían 5~60 mg de ingredientes activos por ampolla. Las fórmulas de inyección se dan en la tabla 10.

Tabla 10 Fórmula de preparación para inyecciones de pinocebrina combinados

Componentes	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3	Fórmula 4
Pinocebrina (g)	1	1	1	1
Hidroxipropil- β -ciclodextrina (g)	40	40	20	20
Agua destilada (ml)	400	100	10000	10000
Etanol (ml)	20	20	20	20
Cloruro de sodio (g)			90	
Dextrosa (g)				500

Fórmula 1: Preparación de la solución de inyección de pinocebrina

- 10 (1) A 400 ml de agua destilada, se le añadieron 40 g de hidroxipropil- β -ciclodextrina y se disolvió con agitación;
- (2) A 20 ml de etanol, se le añadió 1 g de pinocebrina y se disolvió, a continuación se añadió la solución obtenida en la solución de hidroxipropil- β -ciclodextrina mencionada anteriormente;
- 15 (3) Se agitó magnéticamente la solución mezclada durante 20 min a 40~50 °C. Cuando la solución se volvió clara y transparente, se añadieron 0,5 g de carbón activado para inyección. A continuación, se calentó la mezcla hasta 80 °C con agitación y se mantuvo a esta temperatura durante 15 min, a continuación se filtró el carbón. El filtrado se subenvasó en ampollas de 4 ml cada una. Se obtuvo una solución de inyección de pinocebrina después de esterilizar a 121 °C durante 15 min.

Fórmula 2: Preparación del polvo secado por congelación de pinocebrina para inyección

- 20 (1) En la zona estéril, se pesaron 40 g de hidroxipropil- β -ciclodextrina y se disolvieron en agua para preparar una solución de 150 ml. Se añadieron 0,1 g de carbón activado y se calentó la mezcla a ebullición suave durante 15 min, y a continuación se separó por filtración el carbón;
- (2) Se disolvió 1 g de pinocebrina en 20 ml de etanol anhidro, a continuación se añadió la solución obtenida en la solución de hidroxipropil- β -ciclodextrina mencionada anteriormente;
- 25 (3) Se agitó magnéticamente la mezcla durante 20 min a 40~50 °C. Cuando la solución se volvió clara y transparente, se obtuvo la solución del complejo de inclusión de pinocebrina en hidroxipropil- β -ciclodextrina;
- (4) Se añadió agua a la solución de complejo de inclusión hasta 200 ml. Se filtró la mezcla a través de una membrana de filtro de 0,22 μ m. Se subenvasó el filtrado en viales de 10 ml (2ml/vial), y se colocó en un secador por congelación para un secado por congelación. Se obtuvo el polvo estéril para inyección después de sellar los tapones de los viales.

Fórmula 3: Preparación de infusión de cloruro de sodio con pinocebrina

- 30 (1) A 200 ml de agua destilada, se le añadieron 20 g de hidroxipropil- β -ciclodextrina y se disolvió con agitación. Se añadieron 0,5 g de carbón activado para infusión. Se calentó la mezcla hasta 80 °C con agitación y se mantuvo a esta temperatura durante 15 min, a continuación se filtró el carbón.
- (2) Se pesó y disolvió 1 g de pinocebrina en 20 ml de etanol anhidro, a continuación se vertió la solución obtenida en la solución de hidroxipropil- β -ciclodextrina mencionada anteriormente;
- 35 (3) Se agitó magnéticamente la mezcla durante 20 min a 40~50 °C. Cuando la solución se volvió clara y transparente, se obtuvo la solución del complejo de inclusión de pinocebrina en hidroxipropil- β -ciclodextrina;
- (4) Se añadió agua a la solución de complejo de inclusión hasta 800 ml. Después de añadir 90 g de cloruro de sodio para inyección, se ajustó la solución hasta un pH de 8-9 y se diluyó hasta 10000 ml con agua. A continuación, se añadieron 10 g de carbón activado para inyección, y se agitó durante 20 min;

(5) Después de retirar el carbón, se subenvasó la solución en 100 ml por frasco. Se obtuvo el producto después de esterilizar a 121 °C durante 30 min.

Fórmula 4: Preparación de infusión de dextrosa con pinocembrina

5 (1) Se añadieron 20 g de hidroxipropil-β-ciclodextrina a 200 ml de agua destilada y se disolvió con agitación. Se añadieron 0,5 g de carbón activado para infusión. Se calentó la mezcla hasta 80 °C con agitación y se mantuvo a esta temperatura durante 15 min, a continuación se filtró el carbón.

(2) Se disolvió 1 g de pinocembrina en 20 ml de etanol anhidro, a continuación se vertió la solución obtenida en la solución de hidroxipropil-β-ciclodextrina mencionada anteriormente;

10 (3) Se agitó magnéticamente la mezcla durante 20 min a 40~50 °C. Cuando la solución se volvió clara y transparente, se obtuvo la solución del complejo de inclusión de pinocembrina en hidroxipropil-β-ciclodextrina;

(4) Se añadió agua a la solución de complejo de inclusión hasta 800ml. Después de añadir 500g de glucosa para inyección, se ajustó la solución hasta un pH de 8~9 y se diluyó hasta 10000 ml con agua. A continuación, se añadieron 10 g de carbón activado para inyección, y se agitó durante 20 min;

15 (5) Después de retirar el carbón, se subenvasó la solución en 100 ml por frasco. Se obtuvo el producto después de esterilizar a 121 °C durante 30 min.

Ejemplo 24

Características de absorción y concentración en sangre *in vivo* para el ingrediente activo sólido de pinocembrina de las formas cristalinas α y β:

20 Se aleatorizaron 18 de ratas SD, hembras y machos cada mitad, con un peso corporal de 230~250g, en 3 grupos, con 6 ratas cada grupo y hembras la mitad. Después de 10 horas de ayuno pero con ingesta libre de agua, se le administró a las ratas con polvo de ingrediente activo sólido de pinocembrina de las formas cristalinas α, β o 1:1 (α + β) mezcladas, a una dosis de 50 mg/kg al estómago. A continuación, se tomaron muestras de sangre arterial a diferentes tiempos y se determinó el contenido en pinocembrina. El resultado mostró que para pinocembrina de diferentes formas cristalinas, a la misma dosificación por administración oral, las concentraciones en sangre y el tiempo para alcanzar la

25 concentración máxima fueron diferentes, donde la concentración en sangre de la forma cristalina α fue obviamente inferior al de la forma cristalina β.

Tabla 11 Concentraciones en sangre a diferentes tiempos para ratas a las que se les había administrado por vía oral muestras de pinocembrina de diferentes formas cristalinas (detectado por HPLC, valor del área de pico)

Tiempo	10 min	20 min	30 min	40 min
Formas cristalinas				
Forma cristalina β	13,2	48,6	14,6	14,2
1 : 1 formas cristalinas (α + β)	8,5	15,6	7,9	7,1
Forma cristalina α	3,8	9,7	4,4	3,5

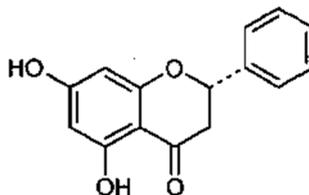
Nota: las concentraciones en sangre enumeradas en la tabla eran el promedio para las ratas en cada grupo.

30 Referencias

1. Patente china: número de publicación CN1695608A
2. Cheng Yonghao, etc. synthesis of 5,7-dihydroflavanone. chemical reagents, 2006, 28(7): 437

REIVINDICACIONES

1. Forma cristalina β de pinocembrina racémica de fórmula (I):



(I)

5 caracterizada porque, cuando se analiza por difracción en polvo (policristalino) de rayos X (radiación $\text{CuK}\alpha$), las localizaciones de picos de difracción: valor 2-Theta ($^\circ$) o valor d (Å), y la resistencia relativa del pico de difracción: valor de la altura del pico (% altura) o valor del área de pico (% área) muestran las siguientes características:

Pico	2-Theta	d(Å)	% altura	% área	Pico	2-Theta	d(Å)	% altura	% área
1	7,33	12,06	100,0	66,5	14	29,51	3,02	1,6	0,3
2	9,41	9,40	6,2	4,9	15	31,03	2,88	0,7	0,4
3	11,33	7,81	6,1	4,5	16	34,47	2,60	1,0	1,5
4	14,07	6,29	2,9	2,2	17	35,45	2,53	0,4	0,2
5	14,69	6,03	27,2	17,6	18	37,24	2,41	1,5	0,7
6	17,49	5,07	63,9	100,0	19	38,15	2,36	1,2	0,9
7	19,01	4,67	2,8	1,5	20	40,61	2,22	3,1	2,8
8	21,49	4,13	0,1	0	21	42,83	2,11	1,5	1,4
9	22,11	4,02	12,9	11,2	22	44,89	2,02	1,6	1,3
10	23,17	3,84	19,4	9,5	23	46,01	1,97	2,4	1,8
11	25,91	3,44	3,3	2,5	24	50,36	1,81	0,7	0,8
12	27,41	3,25	31,7	27,4	25	56,63	1,62	1,0	0,9
13	28,31	3,15	19,0	15,1					

2. La forma cristalina β de pinocembrina de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado porque la temperatura de transición de decaescencia de traza DSC es de 204 $^\circ\text{C}$, medida con una velocidad de calentamiento de 10 $^\circ\text{C}/\text{min}$.

10 3. La forma cristalina β de pinocembrina de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque el espectro de absorción infrarrojo de la misma muestra los siguientes picos: 3090,8, 2890,0, 2748,9, 2638,3, 1633,5, 1602,9, 1585,0, 1487,9, 1466,1, 1454,3, 1344,4, 1302,7, 1216,7, 1168,2, 1088,3, 1065,5, 1028,8, 1014,3, 1001,5, 975,8, 917,8, 888,2, 861,8, 826,6, 789,1, 766,6, 741,1, 715,4, 698,0, 663,7, 646,0, 620,5, 587,9, 574,8, 560,9, 527,2 y 488,4 cm^{-1} en el que los picos 2890,0, 2748,9, 2638,3, 1633,5 y 1344,4 cm^{-1} son los picos característicos principales de la forma cristalina β de pinocembrina.

15 4. Una forma cristalina mezclada de pinocembrina que consiste en la forma cristalina β de pinocembrina en cualquier proporción de acuerdo con la reivindicación 1 y la forma cristalina α de pinocembrina, cuando se analiza por difracción de rayos X de cristal individual, la forma cristalina α muestra simetría del sistema cristalino monoclinico, el grupo espacial es $\text{P2}_1/\text{c}$, y los valores de los parámetros de celda cristalina son los siguientes: $a=5,189\text{Å}$, $b=24,149\text{Å}$, $c=10,472\text{Å}$, $\alpha=90^\circ$, $\beta=102,31^\circ$ y $\gamma=90^\circ$.

20 5. La forma cristalina de pinocembrina de acuerdo con cuna cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque dicha forma cristalina no contiene agua de cristalización ni otro disolvente cristalino.

25 6. Un ingrediente farmacéutico activo, que comprende la forma cristalina de pinocembrina de acuerdo con la reivindicación 1 o 4 como ingrediente activo para su uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral o para la prevención de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral protegiendo la función de unidad neurovascular.

7. El ingrediente farmacéutico activo para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la dosificación diaria varía de 5 a 250 mg, basada en la forma sólida cristalina de pinocebrina.
- 5 8. Una composición farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la forma cristalina de pinocebrina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 4, en combinación con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables.
9. Una forma de dosificación, que comprende el ingrediente farmacéutico activo de acuerdo con la reivindicación 6 o 7, o la composición de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizada porque la forma de dosificación es un comprimido, cápsula, pastilla, inyección, preparación de liberación sostenida o preparación de liberación controlada.
- 10 10. La forma cristalina de pinocebrina de acuerdo con la reivindicación 1 o 4, o el ingrediente farmacéutico activo de acuerdo con la reivindicación 6, o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral o en la prevención de enfermedades relacionadas con la isquemia cerebral protegiendo la función de unidad neurovascular.
- 15 11. La forma cristalina de pinocebrina de acuerdo con la reivindicación 1 o 4, o el ingrediente farmacéutico activo de acuerdo con la reivindicación 6, o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 8, para su uso en el tratamiento para mejorar la concentración en sangre de pinocebrina en un organismo debido al efecto de la forma cristalina.
12. Un procedimiento para preparar la forma cristalina β de pinocebrina, que comprende las etapas de:
- usar una forma cristalina de pinocebrina como material, a continuación
- 20 obtener la forma cristalina β de pinocebrina de acuerdo con la reivindicación 1 por medio de transición cristalina por molienda.
13. Un procedimiento para preparar la forma cristalina β de pinocebrina, que comprende las etapas de:
- usar una muestra de pinocebrina como material, a continuación obtener la forma cristalina β de pinocebrina de acuerdo con la reivindicación 1 por medio de la disolución del material completamente en un disolvente de piridina o DMSO, añadir agua para permitir el precipitado, y realizar la filtración bajo presión reducida, secado por congelación o
- 25 pulverización en frío.

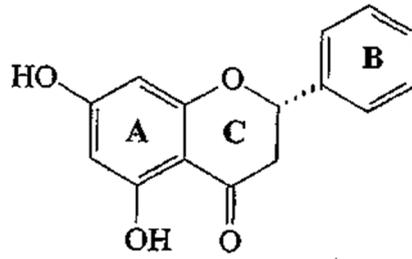


Fig. 1

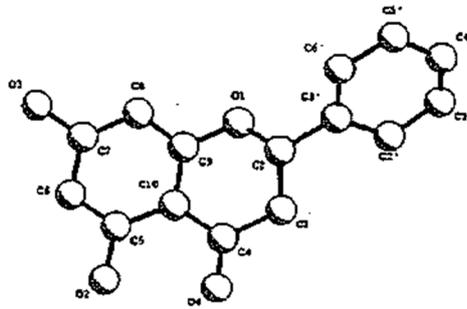


Fig. 2

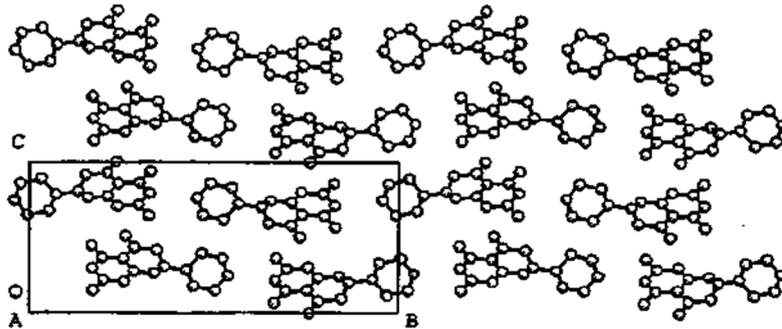


Fig. 3

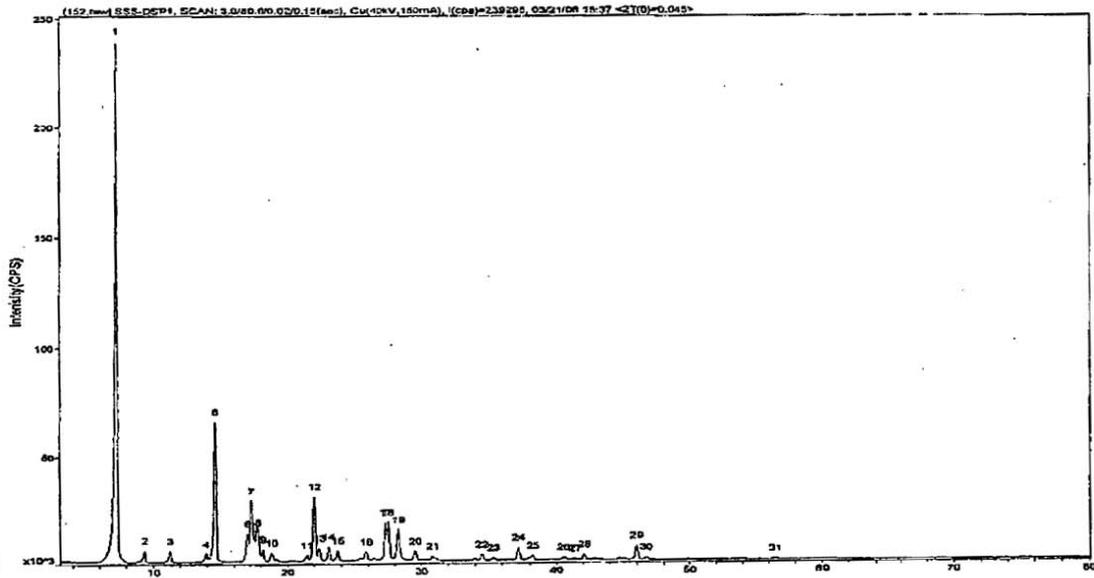


Fig. 4

<< DSC >>
 Nombre datos: SSS-DSP
 Fecha: 7/3/22 16:03
 Muestra: SSS-DSP
 Referencia: a

6,6	mg
0	mg

Programa de temperatura:
 [C] [Cm] [min] [s]
 1* 15 - 280 10 0 0,5

Comentarios:
 Operario Wang
 N2=60ml/min

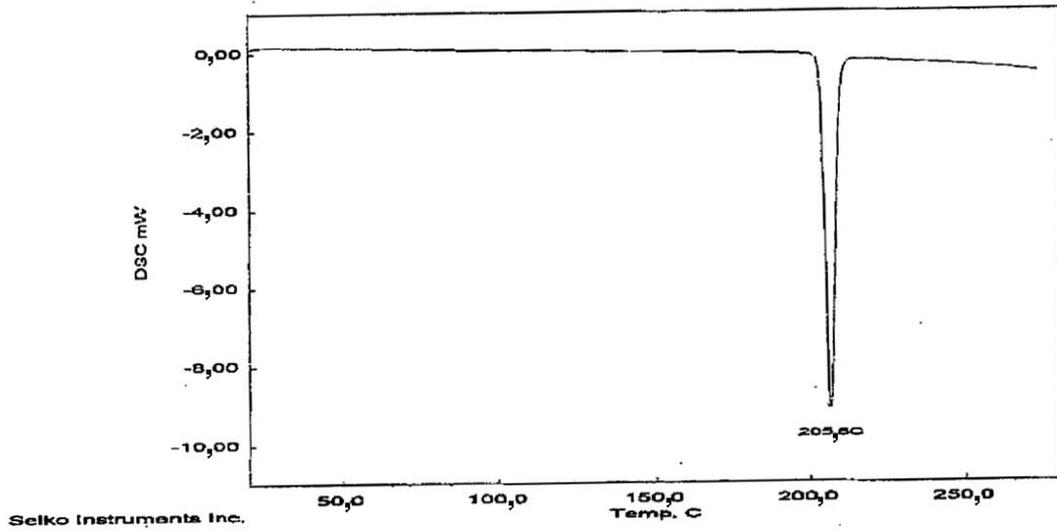


Fig. 5

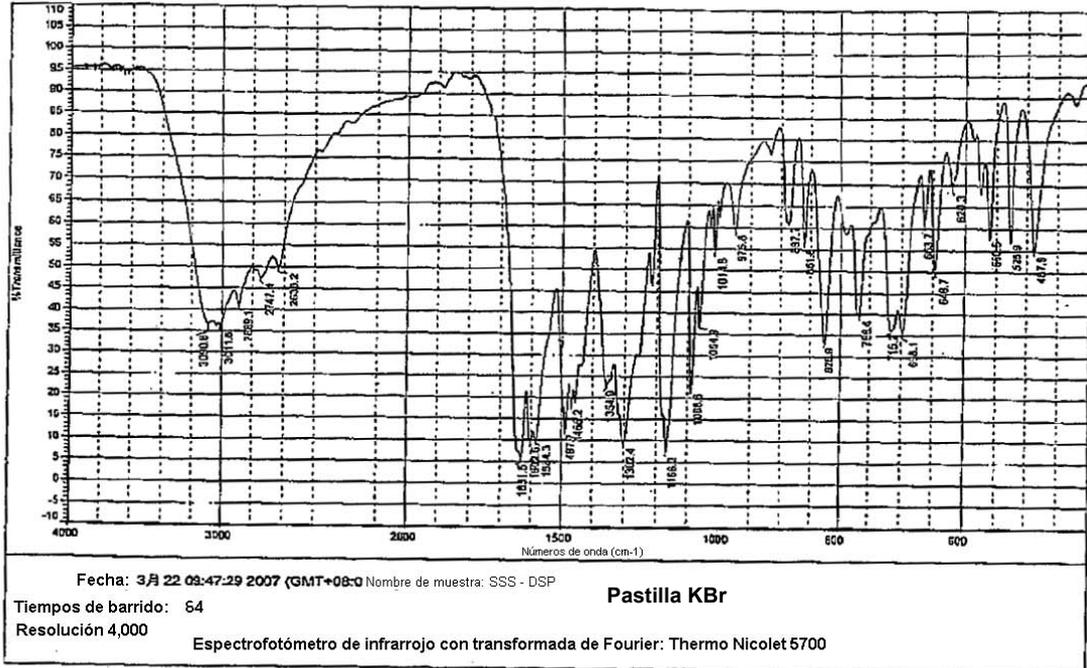


Fig. 6

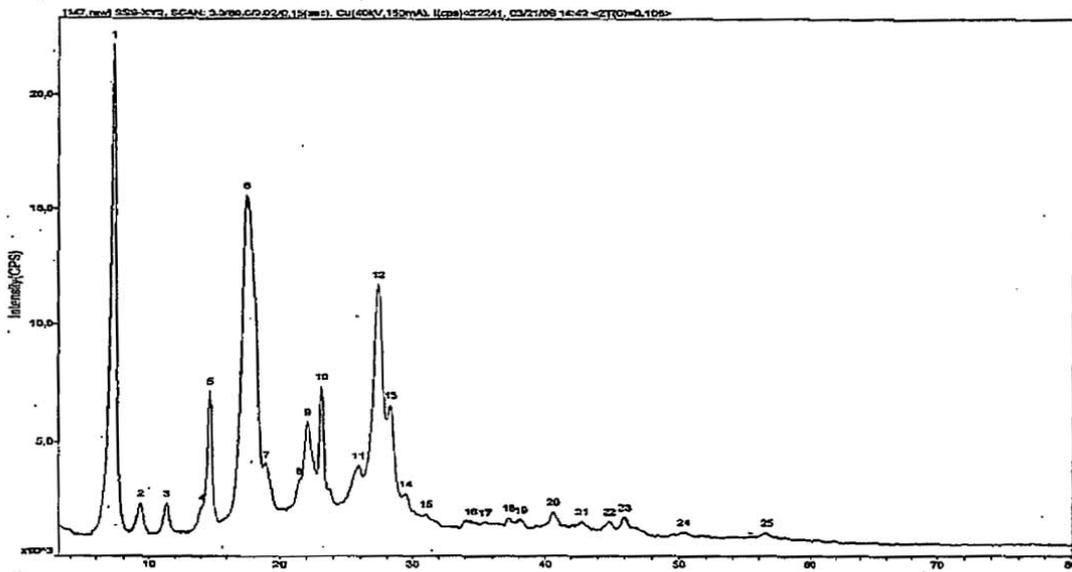


Fig. 7

<< DSC >>
 Nombre datos: SSS-DY
 Fecha: 7/ 3/22 15:19
 Muestra: SSS-DY
 Referencia: 0 3 mg
 0 mg

Programa de temperatura:
 [C] [Cm] [min] [s]
 1* 15 - 280 10 0 0,5

Comentarios: Nombre datos
 Operario Wan Fecha:
 N2=60ml/l Muestra:

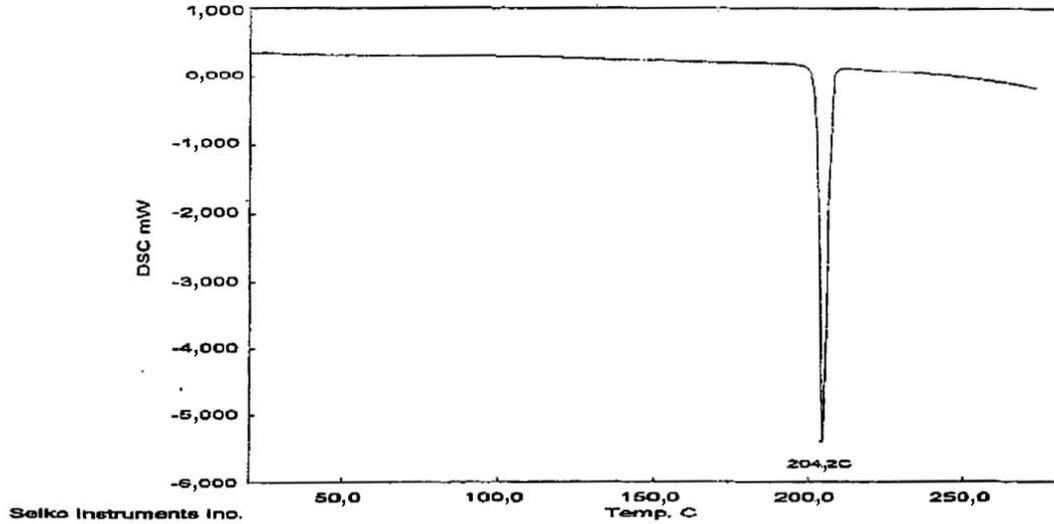


Fig. 8

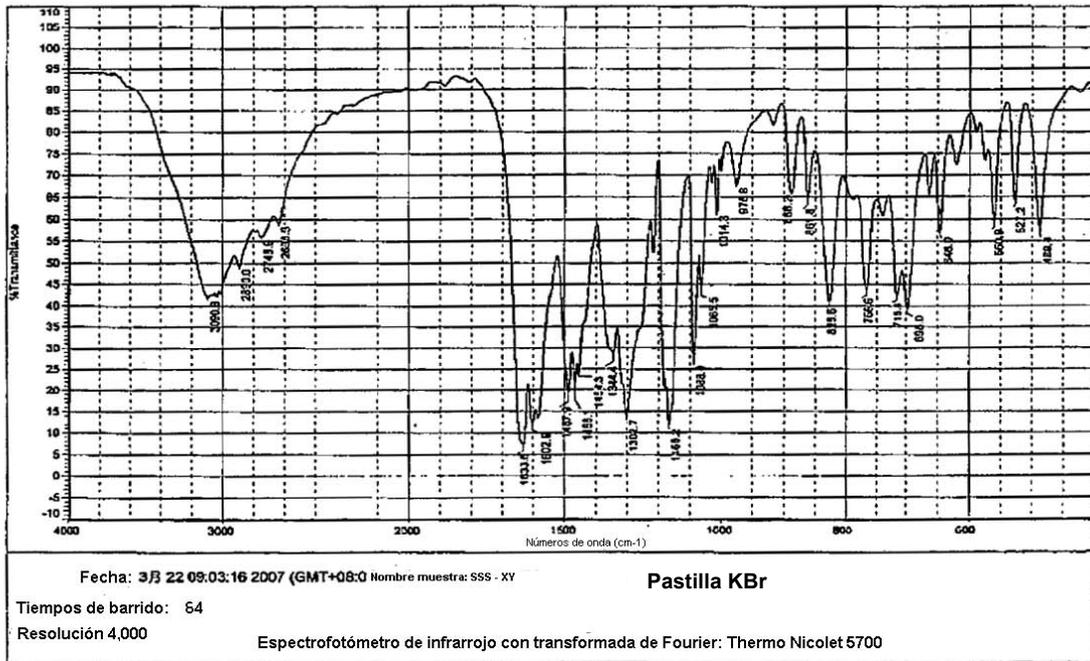


Fig. 9