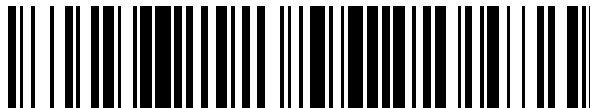


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 478 845**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 9/06** (2006.01)

**A61K 31/706** (2006.01)

**A61K 47/06** (2006.01)

**A61K 47/44** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.10.2009 E 09819218 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.06.2014 EP 2345414**

54 Título: **Preparación de tacrolimus para aplicaciones externas**

30 Prioridad:

**08.10.2008 JP 2008261987**

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

**23.07.2014**

73 Titular/es:

**TAKATA SEIYAKU CO., LTD. (100.0%)  
13-10, Torigoe 2-chome Taito-ku  
Tokyo 111-0054, JP**

72 Inventor/es:

**MASUI, HIRONORI y  
SATO, SHIMPEI**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 478 845 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

Preparación de tacrolimus para aplicaciones externas.

5 **Campo de la invención**

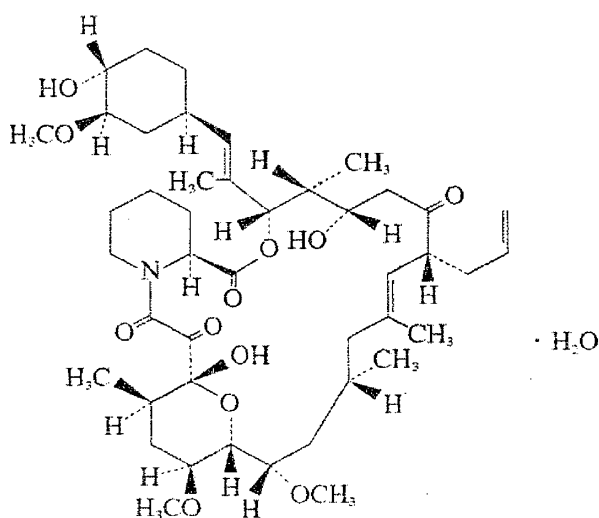
La presente invención se refiere a una preparación externa que comprende tacrolimus como ingrediente activo. En particular, la presente invención se refiere a una preparación externa que contiene tacrolimus que tiene baja irritación dérmica después de su aplicación a un sujeto y una excelente estabilidad.

10

**Antecedentes de la invención**

El tacrolimus, un miembro de los inmunosupresores macrólidos, nombre químico 17-aril-1,14-dihidroxi-12-[2-(4-hidroxi-3-metoxiciclohexil)-1-metilvinil]-23,25-dimetoxi-13,19,21,27-tetrametil-11,28-dioxa-4-azatriciclo [22,3,1,04,9] octacos-18-en-2,3,10,16-tetraona ha sido aislado de cultivo de *Streptomyces tsukubaensis*, y su forma monohidrato representada por la siguiente fórmula:

15



20 se ha utilizado comúnmente como un producto farmacéutico. Se ha sabido que el tacrolimus tiene efectos farmacológicos ventajosos incluido un efecto inmunosupresor y un efecto antimicrobiano, y que es por tanto útil para el tratamiento y la prevención de diversas enfermedades autoinmunitarias tales como el rechazo de trasplante de órganos o tejidos o la enfermedad de injerto contra anfitrión, enfermedades infecciosas y similares (véase la Referencia de Patente 1).

25 También se ha conocido que la aplicación externa de tacrolimus es útil para el tratamiento de enfermedades cutáneas tales como dermatitis atópica (Referencia de Patente 2). Ha habido un aumento significativo del número de pacientes que sufren de dermatitis atópica recientemente. Se ha sabido que la piel de un paciente que sufre de dermatitis atópica tiene un menor contenido de lípidos epidérmicos y humedad queratoide, menor capacidad de formar películas hidrolipídicas, y un umbral de resistencia menor contra irritaciones externas en comparación con el de los sujetos normales. Además, también se ha conocido que la sequedad anormal o prurito de la piel da como resultado la destrucción de la barrera de la piel. Por lo tanto, existe una necesidad de un tacrolimus que comprende la preparación externa.

35 Puesto que el tacrolimus se disuelve mal en agua y disolventes lipídico, una preparación que lo comprende requiere solubilizantes capaces de solubilizar el tacrolimus. Típicamente los tensioactivos se utilizan como solubilizante. Sin embargo, los tensioactivos no son adecuados para una preparación para el tratamiento de enfermedades cutáneas tales como la dermatitis atópica, debido a su irritación dérmica. Los solubilizantes útiles distintos de los tensioactivos son muy limitados. Tales solubilizantes pueden poseer irritación dérmica al igual que los agentes tensioactivos o pueden desestabilizar químicamente un ingrediente activo tal como el tacrolimus, por lo que es desfavorable utilizar solubilizantes que tienen dichas propiedades no deseadas. Además, para el propósito de la disminución de la irritación cutánea causada por la pomada de tacrolimus, se prefieren solubilizantes capaces de formar la dispersión de gotitas estable que no se mezcle con la base de pomada. Por otra parte, en el caso del tratamiento de las enfermedades cutáneas tales como dermatitis atópica, se prefiere la administración tópica de tacrolimus puesto que el fármaco es un inmunosupresor. Si el tacrolimus se administra sistémicamente, se podrían causar efectos secundarios no deseados, tales como la disfunción del riñón y el riesgo de verse afectado por enfermedades que deben ser prevenidas normalmente por un sistema inmunitario. Además, se prefiere que tenga suficiente estabilidad

45

química y física para un producto farmacéutico.

Existen preparaciones externas que contienen tacrolimus, por ejemplo pomada (ver la Referencia de Patente 3), loción (véase la Referencia de Patente 4), crema (véase la Referencia de Patente 5) y gel (véase la Referencia de Patente 6). Sin embargo, en estas preparaciones existen los problemas técnicos de que la preparación comprende agentes que tienen alta irritación dérmica o de que el tacrolimus ingrediente activo se descompone durante el almacenamiento a largo plazo. Por lo tanto, todavía existe una necesidad de una preparación externa que contenga tacrolimus que tenga baja irritación dérmica y una excelente estabilidad. Por ejemplo, se ha comercializado una pomada de tacrolimus bajo el nombre comercial de pomada Protopic (marca registrada), que comprende carbonato de propileno. Sin embargo el carbonato de propileno tiene irritación dérmica, por lo tanto no es adecuado para una pomada.

Referencia de Patente 1: documento JP-A-61-148181

Referencia de Patente 2: documento JP-A-1-157913

Referencia de Patente 3: documento JP-A-5-17481

Referencia de Patente 4: documento WO94/028894

Referencia de Patente 5: documento JP-A-2000-513739

Referencia de Patente 6: documento WO99/055332

## Compendio de la invención

### Problemas técnicos a resolver por la invención

Por consiguiente, el propósito de la presente invención es proporcionar una preparación externa que contiene tacrolimus que tiene baja irritación dérmica y una excelente estabilidad.

### Medios para resolver los problemas

Los autores de la presente invención han encontrado ahora que una preparación externa que comprende triacetina con tacrolimus solubilizado tiene una baja irritación dérmica y una estabilidad excelente. Por lo tanto, la presente invención proporciona una preparación externa en forma de una pomada que comprende tacrolimus como ingrediente activo y triacetina como solubilizante para el mismo.

### Efecto de la invención

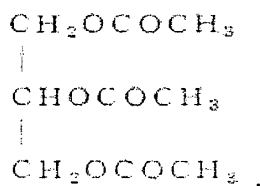
La preparación externa de la presente invención no sólo tiene una baja irritación dérmica y una excelente estabilidad, sino también forma una gotita estable de tacrolimus solubilizado con triacetina puesto que la base no se mezcla con triacetina. Tal preparación externa puede liberar por vía tópica tacrolimus a un sujeto.

### Descripción detallada de las realizaciones preferidas

En la primera realización, la presente invención proporciona una preparación externa que comprende tacrolimus, triacetina y una base en donde la preparación externa es una pomada. Preferiblemente, el porcentaje de la cantidad de tacrolimus con respecto a la triacetina puede ser desde 0,03 a 30% en peso, más preferiblemente de 0,2 a 12,5% en peso, lo más preferiblemente de 0,5 a 3,3% en peso.

El término "Tacrolimus", según se utiliza en la presente memoria, significa lactona del sistema macrólido de 23 miembros como se ha descrito anteriormente, que también se conoce como FK-506 o Fujimicina. El Tacrolimus puede ser una forma libre o una sal farmacéuticamente aceptable, o un solvato tal como un hidrato o análogo del mismo. Puesto que una forma de sal, un solvato o un análogo de tacrolimus, especialmente monohidrato de tacrolimus tiene una actividad farmacológica similar a tacrolimus en una forma libre, el término "tacrolimus", según se utiliza en la presente solicitud y en las reivindicaciones, significa cualquier o todos ellos. El término "tacrolimus" también incluye tacrolimus en fase cristalina, en fase no cristalina o en fase semicristalina. Preferiblemente, la preparación externa de la presente invención comprende tacrolimus de 0,01 a 1,0% en peso, más preferiblemente de 0,02 a 0,5% en peso, lo más preferiblemente de 0,03 a 0,1% en peso de la cantidad total de la preparación.

El término "triacetina", según se utiliza en la presente memoria, significa un compuesto representado por la siguiente fórmula:



(Nombre químico: triacetato de glicerina). Las propiedades de triacetina se describen en Iyakuhi Tenkabutsu Kikaku 2003 e Iyakuhi Tenkabutsu Jiten 2007 (Yakuji Nippo), que se incorporan a la presente memoria como referencia. El tacrolimus en forma libre puede disolverse en triacetina a 25°C a la relación de aproximadamente 12,5 g/100 g. Preferiblemente, la preparación externa de la presente invención comprende triacetina de 0,1 a 30% en peso, más preferiblemente de 1,0 a 20% en peso, aún más preferiblemente de 3,0 a 6,0% en peso, lo más preferiblemente de 4,0 a 5,0% en peso de la cantidad total de la preparación.

El término "preparación externa", según se utiliza en la presente memoria, significa una preparación para la aplicación a la piel o mucosa de un sujeto, por ejemplo piel, ojo, cavidad nasal, oído, ano, vagina, uretra, intraano, tráquea, pulmón, debajo de la lengua, cavidad oral o similar, que típicamente incluye pomada, líquido, loción, linimento, gel, aerosol, emplasto, cataplasma o crema. En una realización preferida de la presente invención, el término "preparación externa" significa pomadas o ungüentos oftálmicos como se define en la Decimoquinta edición de la Farmacopea Japonesa, Reglas Generales para las Preparaciones, que se incorpora aquí como referencia.

Más preferiblemente, la pomada de la presente invención puede ser una pomada oleaginosa. El término "pomada oleaginosa", según se utiliza en la presente memoria, significa cualquier pomada en la que se dispersa y/o disuelve un ingrediente activo en una base oleaginosa, o una solución de un ingrediente activo se dispersa en una base oleaginosa, a excepción de pomadas que comprenden sustancialmente una base de emulsión, una base soluble en agua o una base de loción. En una realización más preferible, la pomada de la presente invención es una pomada en una forma de emulsión de tipo aceite-en-aceite en el que las gotitas de triacetina que solubiliza tacrolimus se dispersan en una base.

El término "emulsión", según se utiliza en la presente memoria, significa una mezcla líquida en la que las gotitas finas se dispersan o suspenden en otro líquido incapaz de mezclarse con las gotitas. Emulsión, según se utiliza en la presente memoria, también contiene microemulsión, en la que se dispersan gotitas más pequeñas. Aunque la gotita y el líquido son típicamente agua o aceite, pueden ser aceite y aceite siempre que no se disuelvan entre sí sustancialmente. Típicamente, el tamaño de partícula promedio en volumen de las gotitas de emulsión oscila preferiblemente aproximadamente de 0,01 µm a 500 µm, más preferiblemente de 0,1 a 50 µm según se mide por medio de difracción de láser de ejemplo.

La preparación externa de la presente invención comprende una base, además de tacrolimus como ingrediente activo y triacetina como solubilizante de tacrolimus. La base puede ser cualquiera de la base o una mezcla de bases adecuadas para una preparación externa. La base normalmente no ejerce ningún efecto medicinal por sí misma. Los ejemplos de la base incluyen, por ejemplo, una base oleosa o una base hidrófoba, una base de emulsión, una base hidrófila o una base soluble en agua, una base de gel, o componentes convencionales tales como ácidos grasos o derivados de los mismos, éster de ácido policarboxílico y alcohol, alcohol superior, materiales inorgánicos en polvo, agente formador de gel, agua, alcohol, poliol, alcanolamina, propelente o similar. La base utilizada realmente en una cierta preparación puede variar dependiendo de la formulación, mientras que la base puede ser seleccionado fácilmente por un experto en la técnica basándose en factores bien conocidos, incluyendo una preparación deseada, el título de un ingrediente activo, la tasa de liberación deseada de un ingrediente activo y similares.

En una realización más concreta, la base incluye, pero no se limita, por ejemplo, a agua, aceite animales y vegetales (por ejemplo, aceite de oliva, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, aceite de ricino o similares), alcohol inferior (por ejemplo, etanol, propanol, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, fenol o similares), ácido graso superior y un éster del mismo, cera, alcohol superior, poliol, vaselina hidrófila, lanolina purificada, pomada de absorción, lanolina hidratada, pomada hidrófila, almidón, pululano, goma arábica, goma de tragacanto, gelatina, dextrano, derivados de celulosa (p. ej., metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa o similares), polímeros sintéticos (por ejemplo, polímero de carboxivinilo, poliácrlato de sodio, poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona o similar), propilenglicol, macrogol (p. ej., macrogol 200 a 600 o similar) y combinaciones de los mismos.

En particular, la base de una pomada incluye un ácido graso superior y un éster del mismo (p. ej., ácido adípico, ácido mirístico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido oleico, éster adipato, éster miristato, éster palmitato, sebacato de dietilo, laurato de hexilo, isoctanoato de cetilo, lanolina y derivados de lanolina), cera (p. ej., cera de ballena, cera de abejas, ceresina), alcohol superior (p. ej., cetanol, alcohol estearílico, alcohol cetostearílico), hidrocarburos (p. ej., vaselina hidrófila, vaselina blanca, lanolina purificada, parafina líquida), aceites animales y vegetales y

combinaciones de los mismos. En particular se prefiere una combinación de cera de abeja y vaselina. Además de la base descrita anteriormente, la pomada de la presente invención puede comprender opcionalmente parafina tal como parafina líquida, lanolina, aceite animal y vegetal, cera natural, fosfolípido de soja hidrogenado (lecitina), alcohol superior. Preferiblemente, la base de pomada de la presente invención es inmisible en triacetina.

5 La base de un emplasto incluye, por ejemplo, polímeros tales como copolímero de éster de ácido acrílico, resina de silicona, resina de poliisobutileno, copolímero en bloque de estireno-isopreno-estireno, copolímero en bloque de estireno-butadieno-estireno. El emplasto comprende adicionalmente por ejemplo agentes taquificantes, tales como colofonia, éster de colofonia o resina de petróleo, plastificantes tales como polibuteno, aceite de oliva, parafina líquida o isopreno líquido, o cargas tales como óxido de titanio, óxido de cinc o sílice.

10 La base de un cataplasma incluye, por ejemplo, glicerina, agua, poliacrilato, poliacrilato de sodio, copolímero de anhídrido maleico-metilviniléter, polímero de carboxivinilo, goma arábica, ácido algínico, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, gelatina. La cataplasma puede comprender adicionalmente, por ejemplo agentes humectantes tales como propilenglicol o sorbitol, cargas tales como caolín, óxido de titanio o talco, o absorbentes tales como crotamitón o adipato de diisopropilo.

15 La base de una crema incluye, por ejemplo un hidrocarburo tal como vaselina blanca, cera, parafina líquida o escualano, un alcohol superior tal como cetanol, alcohol estearílico o alcohol behenílico, ésteres de ácidos grasos tales como triglicéridos de cadena media, miristato de isopropilo o el adipato de diisopropilo, polímeros tal como un polímero de carboxivinilo, hidroxipropilcelulosa, polivinilpirrolidona o hialuronato de sodio, o un poliol tal como glicerina, propilenglicol, 1,3-butilenglicol. La crema puede comprender adicionalmente, por ejemplo, tensioactivos tales como éster de ácido graso de polioxietilenglicol o un alquiléter glicol de éster de ácido graso de polioxietilenglicol, reguladores de pH tales como diisopropanolamina o hidrato de sodio, estabilizantes tales como hidrogenofosfato de sodio, cloruro de sodio o sulfito de sodio, conservantes tales como metilparabeno o propilparabeno o un absorbente como crotamitón o mentol.

20 La cera de abejas es un miembro de la cera natural, incluyendo cera de abejas blanca. Preferiblemente, la cera de abejas es la cera de abejas purificada en columna en la que se excluyen impurezas tales como pigmento, peróxido o similar (por ejemplo, Beeswax-S (Croda Japan K.K.)). Preferiblemente, la pomada de la presente invención puede comprender cera de abejas en 1,0 a 10% en peso, más preferiblemente de 2 a 9% en peso, aún más preferiblemente de 4 a 8% en peso, lo más preferiblemente de 5 a 7% en peso de la cantidad total de la pomada.

25 La vaselina incluye vaselina normal tal como vaselina blanca o vaselina amarilla, preferiblemente vaselina purificada en columna en la que se excluyen impurezas tales como pigmentos, peróxidos o similares (por ejemplo, Crolatum V (Croda Japan KK)). Preferiblemente, la pomada de la presente invención puede comprender vaselina de 60 a 99% en peso, más preferiblemente de 70 a 95% en peso, lo más preferiblemente de 80 a 90% en peso de la cantidad total de la pomada.

30 La preparación externa de la presente invención puede comprender aditivos utilizados comúnmente, tales como un agente emulsionante, un agente humectante, un agente estabilizante, un estabilizador, un dispersante, un plastificante, un regulador de pH, un absorbente, un gelificante, un conservante, una carga, un agente conservante, un antiséptico, un pigmento, un agente aromatizante, un agente refrescante, un espesante, un antioxidante, un agente aclarador de la piel, un absorbente de ultravioleta. También es posible añadir una cantidad traza de, por ejemplo, menos de 1% en peso para la cantidad total de la preparación de agente tensioactivo tal como Tween (marca registrada) 20, 80 o similar. Un experto en la técnica puede entender fácilmente los aditivos reales que se van a añadir a la preparación y su propósito. También se entiende que un determinado compuesto puede ejercer dos o más propiedades.

35 Preferiblemente, el agente humectante incluye, pero no limita a, por ejemplo glicerina, propilenglicol, dipropilenglicol, hialuronato de sodio, el colesterol, pululano o similares.

40 Preferiblemente, el agente estabilizante o el estabilizador incluye, pero no se limita a, por ejemplo, ácido edético (EDTA), ácido cítrico, citrato de sodio, L-arginina, tocoferol, de silicona, éster de ácido graso de polioxietilensorbitán o similares.

45 Preferiblemente, el refrescante incluye, pero no limita a, por ejemplo alcanfor, mentol, aroma de extracto de plantas o similares.

50 Preferiblemente, el espesante incluye, pero no se limita a, por ejemplo, goma arábica, goma guar, carragenano, polímero de carboxivinilo, celulosa, poliacrilato o similares.

En otra realización, la presente invención se refiere a un método para preparar una preparación externa que comprende tacrolimus, cuyo método comprende una etapa de solubilización de tacrolimus en triacetina. En una

realización más concreta, el método para preparar una preparación externa que comprende tacrolimus comprende las siguientes etapas:

(1) solubilizar tacrolimus en triacetina; y

5 (2) mezclar la solución de triacetina de tacrolimus con una base. Cada uno de los aditivos o una mezcla de aditivos cualesquiera se añade de forma independiente a la base, triacetina, la solución de triacetina de tacrolimus o la mezcla de la solución y la base antes de o durante la etapa (1) o antes de, durante o después de la etapa (2).

10 La etapa (1) anterior se lleva a cabo preferiblemente de 60°C a 80°C con cualquier agitador convencional, por ejemplo un agitador magnético (Yazawa Kagaku: KF-800), homogeneizador (IKA Japón: T-25), agitador de emulsificación a vacío ( Mizuho Kogyo: PVQ-1 a 5), emulsificador a vacío (Primix: T.K. AGI HOMO MIXER tipos 2M-03 a 5) o similares. Puede existir el riesgo de que el tacrolimus no se solubilice rápidamente con la triacetina a menos de 60°C. También puede existir el riesgo de que el tacrolimus se descomponga o triacetina se evapore a más de 80°C. Por lo tanto no se prefieren estas condiciones. La etapa (2) anterior se lleva a cabo preferiblemente mediante la dispersión a 60 a 80°C, por ejemplo a aproximadamente 70°C durante un período de tiempo apropiado con cualquiera de dichos agitadores convencionales, enfriando gradualmente con agitación y finalizando de agitación cuando la mezcla alcanza de 20 a 40°C, por ejemplo de de 30 a 40°C, preferiblemente aproximadamente 35°C.

20 La pomada de la presente invención se puede preparar por ejemplo mediante el uso de cualquier método convencional para la preparación de una pomada, por ejemplo de acuerdo con el método descrito en los Ejemplos de más abajo. Por ejemplo, la pomada de la presente invención se puede preparar de la siguiente manera: calentando una base oleaginosa para fundir, mezclar y semienfriar la base; solubilizando tacrolimus en una pequeña cantidad de triacetina; dispersando triacetina con el tacrolimus solubilizado en la base; mezclando hasta que se obtiene una dispersión homogénea (Método de Licuefacción).

25 La preparación externa obtenida de este modo de la presente invención tiene una baja irritación dérmica o de la mucosa y una alta estabilidad. La irritación dérmica o de la mucosa se puede determinar, por ejemplo, mediante cualquier modelo de prueba con animales o ensayo dérmico o de la mucosa conocidos, por ejemplo, por medio del ensayo de irritación dérmica descrito en los Ejemplos de más abajo. La estabilidad se puede determinar mediante, por ejemplo, cualquier prueba de estabilidad conocida, por ejemplo mediante el ensayo de estabilidad descrito en los Ejemplos de más abajo.

35 La preparación externa de la presente invención es útil para el tratamiento de enfermedades cutáneas, por ejemplo, enfermedades cutáneas inflamatorias o autoinmunitarias, especialmente dermatitis de contacto, dermatitis atópica, dermatitis eczematosa, tal como la dermatitis eczematosa relacionados con la medicación, la erupción fotoeczematosa o la dermatitis de irritación primaria, la urticaria, el eritema, la psoriasis, el liquen plano, el pénfigo, el penfigoide o la dermatitis eczematosa, en particular, la dermatitis atópica. El sujeto que se va a tratar por medio de la preparación externa de la presente invención incluye, pero no limita a, animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, por ejemplo perro, gato, bóvidos, cerdo, caballo, oveja, cabra, mono, conejo, rata o ratón.

40 La dosis y la dosificación de la preparación externa de la presente invención se pueden determinar fácilmente sobre la base de las condiciones que vayan a ser tratadas, la formulación, la ruta de administración, la edad y el peso corporal del sujeto, el sexo o la salud general y la base o similar. Preferiblemente, el tacrolimus se administra de 0,1 a 500 mg/día, preferiblemente de 1 a 100 mg/día, más preferiblemente de 5 a 10 mg/día una vez o más al día, por ejemplo de 1 a 6 veces al día.

## 50 Ejemplos

[Ejemplo 1]

Ejemplo de preparación 1

55 En 4,0 g de triacetina, se disolvieron 0,1 g de tacrolimus de 60°C a 80°C calentando (Solución I). Se fundieron y se mezclaron 1,0 g de cera de abejas y 94,9 g de vaselina, añadiendo después dicha Solución I y agitando con un agitador magnético (Yazawa Kagaku: KF-800) y un homogeneizador (IKA Japón: T-25). Se continuó agitando enfriando con agua hasta que la mezcla alcanzó 40°C, para proporcionar la pomada de tacrolimus al 0,1% (Ejemplos).

60 Además, se utilizó carbonato de propileno como sustituto de la triacetina para proporcionar otra pomada (Referencia).

[Tabla 1]

## ES 2 478 845 T3

Formulación (g)	Ejemplo	Referencia
Tacrolimus	0,1	0,1
Triacetina	4,0	-
Carbonato de propileno	-	4,0
Cera de abejas	1	1
Vaselina	cs	cs
Total	100	100

### Prueba de estabilidad

5 Las pomadas del Ejemplo y de Referencia se almacenaron a 3°C o 30°C durante una semana. Después de eso, se añadieron 10 g de cada pomada (10 mg en forma de tacrolimus) a una mezcla de 5 ml de acetonitrilo y 20 ml de hexano y se mezcló agitando. El disolvente se eliminó, a la capa de acetonitrilo se añadieron adicionalmente 20 ml de hexano y se mezcló agitando. La capa de acetonitrilo se recogió y se sometió a cromatografía líquida de alto rendimiento en las siguientes condiciones para determinar la cantidad de tautómeros (producto descompuesto del tacrolimus) y otras sustancias relacionadas.

10

[Tabla 2]

Condiciones de ensayo	
Detector	Absorciómetro ultravioleta (longitud de onda: 210 nm)
Columna	Tubo de acero inoxidable con 4,6 mm de diámetro interno, 15 cm de largo, cargado de gel de sílice octilsilanizado para cromatografía líquida (tamaño de partícula 5 µm)
Temperatura de la columna	Aproximadamente 60°C, constante
Fase móvil A	Acido trifluoroacético (1 -> 10000)
Fase móvil B	Acetonitrilo
Degradado (% vol)	0 a 40 minutos: Fase móvil A 60 -> 44, Fase móvil B 40 -> 56 40 a 41 minutos: Fase móvil A 44 -> 60, Fase móvil B 56 -> 40 41 a 45 minutos: Fase móvil A 60, Fase Móvil B 40
Velocidad de flujo	2,0 ml/minuto

Los resultados del prueba de estabilidad se muestran en la tabla de más abajo.

15

[Tabla 3]

	Condiciones de almacenamiento	Tautómeros (I + II) (%)	Otras sustancias relacionadas (%)	Sustancias relacionadas totales (%)
Ejemplo	30°C	3,30	2,58	5,88
	3°C	2,79	2,57	5,36
Referencia	30°C	4,14	2,88	7,02
	3°C	5,25	3,34	8,59

La pomada de la presente invención que comprende triacetina es estable para el tacrolimus en comparación con la de Referencia que comprende carbonato de propileno.

### 20 Ensayo de Irritación Dérmica

Ensayo de irritación primaria de piel de conejo

25 Se depiló el dorso de conejos (Blancos Japoneses, Macho, Peso corporal 2,0 kg o más) con una maquinilla eléctrica en el día antes de las aplicaciones. Se aplicaron 0,5 g de la preparación del Ejemplo 1 o 0,5 g de la misma

preparación, pero excluyendo el ingrediente activo con un esparadrapo para la prueba del parche para animales (Torii Yakuhin KK) con pelusa (2,5 x 2,5 cm) forrada con parafilm. Con el fin de evitar el desprendimiento del esparadrapo, se coloca un collar durante 24 horas. Un grupo comprende 5 animales.

- 5 Después de 24 horas de la aplicación, el collar y el esparadrapo se retiraron y a continuación los lugares de aplicación se limpiaron con algodón absorbente. Al cabo de 24, 48 y 72 horas de la aplicación, se evaluaron el eritema y la formación de costras o la formación de edema de acuerdo con los criterios de evaluación de las reacciones cutáneas del método de Draize.

10

[Tabla 4]

Criterios de evaluación de las reacciones cutáneas (Draize)	
1) Eritema y formación de costras	
0: No hay eritema	
1: Eritema leve (ligeramente observable)	
2: Eritema evidente	
3: Eritema de moderado a severo	
4: Eritema grave de color rojo intenso con leve formación costra (lesión profunda)	
2) Formación de edema	
0: No hay edema	
1: Edema leve (ligeramente observable)	
2: Edema evidente (claramente distinguible)	
3: Edema Moderado (aproximadamente 1 mm de hinchazón)	
4: Edema grave (más de 1 mm de hinchazón y se expande sobre el sitio de aplicación)	

La suma de las puntuaciones de la formación de eritema/costra y la formación de edema en el sitio de aplicación a las 24 y 72 horas de la aplicación se dividió por 4 para determinar los índices de irritación individuales. Los índices se promediaron para determinar los índices de irritación primaria (I.I.P.). Los grados de irritación se seccionaron entre los I.I.P. de acuerdo a las secciones de irritación de Draize para evaluar la irritación de la piel del conejo.

15

[Tabla 5]

Secciones de irritación (Draize)	
Índices de irritación primaria (I.I.P.)	
0	Sin irritación
2 o menos	Irritación Ligera
más de 2, menos de 6	Irritación moderada
6 o más	Irritación severa

- 20 No se observó formación de eritema/costra ni formación de edema en cada uno de los casos durante todo el período de la observación. En ambos casos los I.I.P. fueron 0, por lo que se seccionaron para "Sin irritación".

Ejemplo de preparación 2

- 25 Se disuelven 1,02 g de hidrato de tacrolimus en 5 g de triacetina calentando, y a esto se añaden macrogol 400 (83,98 g) y macrogol 4000 (10 g). La mezcla se mezcla adicionalmente calentando, después de eso se enfría para proporcionar un gel no acuoso.



[Tabla 6]

Gel no acuoso (gel soluble en agua)		
Definición	Formulación	Contenido (%)
Ingrediente activo	Hidrato de tacrolimus	1,02
Solubilizante	Triacetina	5
Base	Macrogol 4000	10
Base	Macrogol 400	cs
Total		100
(% significa % en peso, aquí y en lo sucesivo)		

## Ejemplo de preparación 3

- 5 Se disuelven 1,02 g de tacrolimus, hidrato en 5 g de triacetina calentando, y se añade tri-2-etilhexanoato de glicerilo. La solución se añade a 83,98 g de parafina líquida y se dispersa con un agitador. Adicionalmente se añaden 5 g de palmitato de dextrina agitando para convertirlo en un gel para proporcionar un liogel en emulsión.

[Tabla 7]

Liogel en emulsión (gel oleoso)		
Definición	Formulación	Contenido (%)
Ingrediente activo	Hidrato de tacrolimus	1,02
Solubilizante	Triacetina	5
Base	Tri-2-etilhexanoato de glicerilo	5
Base	Parafina líquida	cs
Gelificante	Palmitato de dextrina	5
Total		100

- 10 Ejemplo de preparación 4
- 15 Se disuelven 0,15 g de metilparabeno y 0,1 g de propilparabeno en agua purificada calentando, y después de enfriar a 40°C, o menos, se disuelven 10 g de glicerina concentrada, 0,5 g de ácido cítrico y Carbopol 980 (0,5 g). Se disuelven 1,02 g de hidrato de tacrolimus en 20 g de triacetina calentando, y se añade a la solución y se dispersa con un agitador. Se añade gota a gota una solución acuosa de hidrato de sodio agitando para ajustar el pH a un pH de 4 a 7 para formar un gel. Se añade agua purificada para ajustar la cantidad total a 100 g para proporcionar un gel acuoso. Aún así, se puede preparar una loción después de utilizar de 0,1 g a 0,2 g de Carbopol 980.

20 [Tabla 8]

Gel acuoso		
Definición	Formulación	Contenido (%)
Ingrediente activo	Hidrato de tacrolimus	1,02
Solubilizante	Triacetina	20
Base	El agua purificada	cs
Gelificante	Poli(ácido acrílico) (Carbopol 980)	0.5
Regulador de pH	NaOH	cs
Regulador de pH	Ácido cítrico	0.5
Agente humectante	Glicerina conc.	10
Conservante	Metilparabeno	0.15
Conservante	Propilparabeno	0.1

Gel acuoso		
Definición	Formulación	Contenido (%)
Total		100

Ejemplo de preparación 5

- 5 Se mezclan 20 g de triacetina, 3 g de cetanol, 3 g de alcohol estearílico y Tween 80 (0,5 g) a 70°C y a esto se añaden 1,02 g de hidrato de tacrolimus y se disuelven calentando. A la solución, se le añaden 0,15 g de metilparabeno y 0,1 g de propilparabeno disueltos en 52,23 g de agua purificada y se mezcla con un agitador. La solución se enfría agitando para proporcionar una crema.

[Tabla 9]

Pomada en emulsión: crema (o/w)		
Definición	Formulación	Contenido (%)
Ingrediente activo	Hidrato de tacrolimus	1,02
Solubilizante	Triacetina	20
Base	Cetanol	3
Base	Alcohol estearílico	3
Emulsionante	Tween 80	0,5
Base	El agua purificada	cs
Conservante	Metilparabeno	0,15
Conservante	Propilparabeno	0,1
Total		100

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una preparación externa que comprende tacrolimus, triacetina y una base, en donde la preparación externa es una pomada.
2. La preparación externa de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el porcentaje de la cantidad de tacrolimus con respecto a triacetina es 0,03 a 30% en peso.
- 10 3. La preparación externa de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, que comprende una mezcla de cera de abejas y vaselina como base de pomada.
4. La preparación externa de acuerdo con la reivindicación 3, en donde la cera de abejas es la cera de abejas purificada en columna.
- 15 5. La preparación externa de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en donde la vaselina es vaselina purificada en columna.
- 20 6. La preparación externa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que las gotitas de triacetina que solubiliza el tacrolimus se dispersan en la base.
7. Un método para preparar una preparación externa de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende una etapa de solubilización de tacrolimus con triacetina.