



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-287528- -00000-0000

Fecha: 2013-12-09 11:59:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 226

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. **EXPEDIENTE No.** _____

54. **TÍTULO** COMPOSICIONES ESTABLES DE
POVIDONA YODADA CON ESTEROIDES O
ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

51. **CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL** A61K 31/74 (2006.01)

71. **SOLICITANTE** FORESIGHT BIOTHERAPEUTICS, INC.

DOMICILIO NEW YORK (US)

74. **APODERADO** JESÚS M. MÉNDEZ

22. **BOGOTÁ, D.C.,** 9 DE DICIEMBRE DE 2013.



No. 13-287528- -00000-0000

Fecha: 2013-12-09 11:59:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASC
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios: 226

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL -PCT

1	TIPO DE SOLICITUD	☒ Patente de invención ☒ Capítulo I	☐ Patente de Modelo de Utilidad ☐ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
Solicitud Internacional No.		PCT/US2012/037563	Fecha 11.05.2012
Publicación Internacional No.		WO2012/155062	Fecha 15.11.2012
3	TÍTULO DE LA INVENCIÓN (200 caracteres o espacios máximos)		
COMPOSICIONES ESTABLES DE POVIDONA YODADA CON ESTEROIDES O ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES			
4	CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL (CIP)		
A61K 31/74 (2006.01)			
5	SOLICITANTE (S) ☐ Esta persona también es inventor. Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
1. APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN TIPO
		FORESIGHT BIOTHERAPEUTICS, INC.	
6	DATOS DEL SOLICITANTE		
DIRECCIÓN: 50 W. 57th St., 15th Floor, New York, NY 10019.		No. TELÉFONO - 6235828	
ESTADOS UNIDOS		CORREO ELECTRÓNICO -	
CIUDAD: NEW YORK		notificaciones@wolfmendez.com	
DEPARTAMENTO/ESTADO		NACIONALIDAD O	
PAÍS DE RESIDENCIA: ESTADOS UNIDOS		LUGAR DE CONSTITUCIÓN	
7	INVENTOR (ES) Para datos adicionales utilizar hoja de información complementaria		
APELLIDOS		NOMBRES	NACIONALIDAD
1. STEIN,		Jason	Estados Unidos de América
2. WEISER,		Michael	Estados Unidos de América
3. CAPRIOTTI,		Joseph	Estados Unidos de América
4. LIANG,		Bo	Estados Unidos de América
5. SAMSON,		Michael C.	Estados Unidos de América
DIRECCIÓN DE CORREO ELECTRÓNICO: notificaciones@wolfmendez.com			
8	DATOS INVENTOR (ES)		
PAÍS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
1. Estados Unidos de América		New York	500 E. 77TH St, Apt. 1035, New York, NY10162 (US).
2. Estados Unidos de América		New York	1020 Park Ave, Apt.3C, New York, NY 10028 (US)
3. Estados Unidos de América		Islas virgenes	6002 Diamond Ruby, Suite 3, PMB 137, Christiansted, Usvi 00820 (VI)
4. Estados Unidos de América		New York	Bromley Place, East Brunswick, NJ 08816 (US).
5. Estados Unidos de América		New York	630 1st Ave., 25K, New York, NY 10016 (US).

2

OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/O (OTRO(S)) INVENTOR(ES)			
☐ Los demás solicitantes y/o (demás) inventores se indican en una hoja a continuación.			
9	☐ REPRESENTANTE LEGAL ☒ APODERADO		
APELLIDOS Méndez Bermúdez		NOMBRES Jesús M.	IDENTIFICACIÓN C.C.13.491.525 T.P.99.678
DIRECCIÓN	Calle 83 A No. 23 - 90		No. TELÉFONO 6235828
CIUDAD	Bogotá D.C.		CORREO ELECTRÓNICO notificaciones@wolfmendez.com
PAÍS	Colombia		No. RADICACIÓN DE PROTOCOLO DE PODER GENERAL _____

10	DECLARACIONES DE PRIORIDAD ☒ SI ☐ NO		
(33) PAÍS DE ORIGEN 1.Estados Unidos de América		CÓDIGO PAÍS US	(31) NÚMERO 61/485,475
			(32) FECHA (AAAA/MM/DD) 2011/05/12

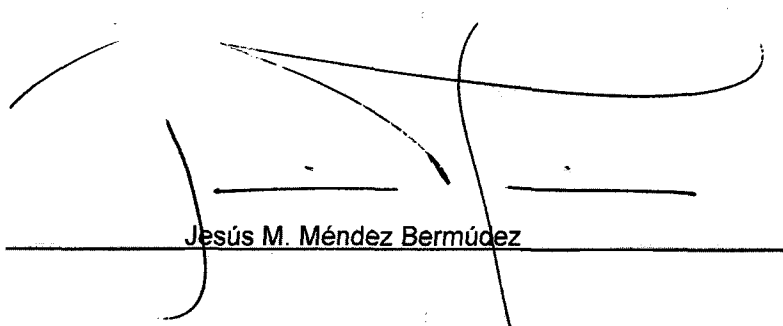
11	DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los países miembros de la Comunidad Andina es país de origen.</i>	
☐ SI ☒ NO	
Nota: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro, expedido por la Autoridad competente.	

12	DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES
<i>Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.</i>	
☐ SI ☒ NO	
Nota: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.	

13	REDUCCIÓN DE TASAS
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i>	
☐ SI ☒ NO	
Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.	
Micro, pequeñas y medianas empresas ☐	
Universidades públicas o privadas ☐	
Entidades sin ánimo de lucro ☐	

Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos	
14	AUTORIZACIÓN DE NOTIFICACIÓN EN LÍNEA ☒ SI ☐ NO
Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en línea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deben ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.	

15	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO	N°	Fecha
----	--	----	-------

16	FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL <i>Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)</i>
 _____ Jesús M. Méndez Bermúdez	

17 ANEXOS	
Documentación Técnica Solicitud Internacional en castellano 1. ☒ Descripción N° de folios: 2. ☒ Reivindicaciones N° Reivindicaciones: 3. ☒ Dibujos y/o figuras N° folios: 4. ☒ Resumen. 5. ☐ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso. 6. ☐ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos en forma digital si fuera el caso. 7. ☐ Arte final 12 x 12. 8. ☐ Anexo formato digital.	Documentación Jurídica 9. ☒ Poderes, si fuera el caso. 10. ☒ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante. 11. ☐ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso. 12. ☐ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso. 13. Reducción de tasas Micro, pequeñas o medianas empresas ☐ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. ☐ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004. Universidades públicas o privadas ☐ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación Entidades sin ánimo de lucro ☐ Copia de registro vigente en Cámara de comercio. ☐ Hoja de información complementaria. ☐ Otros, especificar 14. ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. 15. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. 16. ☐ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación. 17. ☐ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.



1	(12) TIPO DE SOLICITUD	NUMERO DE RADICACIÓN		
☒ Patente de invención		FECHA DE PRESENTACIÓN 09 de Diciembre de 2012		
☐ Patente de Modelo de Utilidad				
4	(71) SOLICITANTE (S)			
APELLIDOS O RAZÓN SOCIAL		NOMBRE	IDENTIFICACIÓN	TIPO
		FORESIGHT BIOTHERAPEUTICS, INC.		
5	DATOS DEL SOLICITANTE			
PAÍS DE RESIDENCIA		DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCIÓN
2. Estados Unidos de América			New York	50 W. 57th St., 15th Floor, New York, NY 10019, ESTADOS UNIDOS
TELÉFONO		FAX	E-MAIL	NACIONALIDAD
2.6235828		6235828 Ext.	notificaciones@wolfmendez.com	Estados Unidos de América
6	(72) INVENTOR (ES)			
APELLIDOS		NOMBRE	NACIONALIDAD	
1. STEIN,		Jason	Estados Unidos de América	
2. WEISER,		Michael	Estados Unidos de América	
3. CAPRIOTTI,		Joseph	Estados Unidos de América	
4. LIANG,		Bo	Estados Unidos de América	
5. SAMSON,		Michael C.	Estados Unidos de América	
7	DATOS INVENTOR (ES)			
DIRECCIÓN		CIUDAD	DEPARTAMENTO/ESTADO	PAÍS RESIDENCIA
1. 500 E. 77TH St, Apt. 1035, New York, NY10162 (US).		New York		Estados Unidos de América
2. 1020 Park Ave, Apt.3C, New York, NY 10028 (US)		New York		Estados Unidos de América
3. 6002 Diamond Ruby, Suite 3, PMB 137, Christiansted, Usvi 00820 (VI)		Islas virgenes		Estados Unidos de América
4. Bromley Place, East Brunswick, NJ 08816 (US).		New York		Estados Unidos de América
5. 630 1st Ave., 25K, New York, NY 10016 (US).		New York		Estados Unidos de América

9	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD		
PAÍS DE ORIGEN		CÓDIGO PAÍS	NÚMERO
FECHA (AAAA/MM/DD)			
4. Estados Unidos de América		US	61/485,475
			2011/05.12

CÓMO DILIGENCIAR EL PETITORIO PCT

Este formulario debe ser diligenciado únicamente por el (los) solicitante(s) que desea entrar en Colombia a la Fase Nacional en virtud del Tratado de Cooperación en materia de Patentes (PCT).

1. TIPO DE SOLICITUD
- Marcar en la casilla correspondiente si se trata de una solicitud internacional de Patente de Invención o de Patente de Modelo de Utilidad. Únicamente se acepta una opción por cada solicitud. Indique si la solicitud se tramitó bajo el Capítulo I o el Capítulo II
2. DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT
- Indique el número asignado como Solicitud Internacional por la Oficina receptora y la fecha de presentación de la solicitud. Además, indique el número y la fecha de la publicación internacional.
3. TÍTULO DE LA INVENCION
- Defina en forma breve y precisa el nombre técnico de la invención que deberá ser congruente con las reivindicaciones y la descripción. El título no debe referirse a marcas ni nombres comerciales. Máximo 200 caracteres.
4. CIP (Clasificación Internacional de Patentes)
- Indique las clasificaciones que aparecen en la publicación internacional.
5. SOLICITANTE (S)
- Si existieran más solicitantes, utilícese las hojas de información complementaria.
- Apellidos o Razón Social.
- En el caso de ser el solicitante una persona natural, indíquese los dos apellidos.
- En el caso de ser el solicitante una persona jurídica indíquese la razón social completa de ésta.
- Nombre.
- Liénesse únicamente para personas naturales.
- Identificación.
- Solo para solicitantes nacionales: Las personas naturales indicarán su C.C. (cédula de ciudadanía) y las personas jurídicas indicarán el NIT (Número de Identificación Tributaria).
- Tipo de solicitante.
- Las personas jurídicas habrán de contestar con un dígito: [1] Microempresa: menos de 10 trabajadores, activos totales inferiores a 501 salarios mínimos legales vigentes. [2] Pequeña empresa. Entre 11 y 50 trabajadores, activos totales mayores a 501 y menores a 5.001 salarios mínimos mensuales vigentes. [3] Mediana empresa: personal entre 51 y 200 trabajadores, activos totales entre 5.001 y 15.000 salarios mínimos mensuales legales vigentes. [4] La empresa no es PYME. Si la persona jurídica no es empresa, indicar [5] Institución educativa (universidad, colegio, instituto, etc.). [6] Centro de investigación. [7] Si es persona natural.
6. DATOS DEL SOLICITANTE
- Los datos indicados en esta sección, servirán para las posibles comunicaciones que la SIC realice, en caso de que la tramitación no se haga por intermedio de un representante o apoderado.
- Dirección, ciudad, departamento/estado/provincia y país de residencia.
- Indíquese los datos completos de localización. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).
- En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.
- Nacionalidad.
- Indíquese la nacionalidad del solicitante. En caso de ser una persona jurídica, indíquese el lugar de constitución. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).
- En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.
- e-mail: Indicar claramente el correo electrónico con el fin de establecer comunicación.
7. INVENTORES
- Indicar Apellidos, nombre y nacionalidad del inventor o inventores (deben ser personas naturales) en las casillas correspondientes. En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.

8. DATOS DE LOS INVENTORES
- Dirección, ciudad, departamento/estado/provincia y país de residencia.
- Indicar los datos completos de localización. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).
9. REPRESENTANTE O APODERADO
- Si la solicitud la presenta una persona natural sin apoderado, no debe diligenciarse esta sección.
- Si la solicitud la presenta una persona jurídica sin apoderado, debe diligenciarse esta sección indicando el nombre del representante legal. Deberá anexarse el documento que acredita la existencia y representación legal
- Si la solicitud se presenta a través de apoderado, debe diligenciarse esta sección indicando el nombre del abogado que adelantará la actuación administrativa. Deberá anexarse el poder.
- Número de Protocolo: En caso de haber presentado poder general y tiene un número de protocolo asignado por favor escribirlo.
10. DECLARACIÓN DE PRIORIDAD
- Si el solicitante reclamó prioridad en la Solicitud Internacional indicar:- País de origen.
- Indique el país donde se presentó por primera vez la solicitud. Puede utilizar abreviatura del país (código de País según norma ST. 3 de OMPI).
- Número.
- Indique el número asignado a la solicitud en el país del que se reivindica prioridad.
- Fecha (AAAA/MM/DD).
- Indique la fecha de solicitud en el país del que se reivindica prioridad.
- En caso de ser necesario, por falta de espacio, utilice las hojas de información complementarias.
11. DECLARACIÓN SOBRE USO DE RECURSOS GENÉTICOS O BIOLÓGICOS
- Marcar "SI" cuando la invención fue desarrollada a partir de recursos genéticos o recursos biológicos de los que cualesquiera de los países miembros de la Comunidad Andina (Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú) es país de origen y anexar el contrato de acceso emitido por la Autoridad Nacional Competente (Ministerio del Medio Ambiente para Colombia).
12. DECLARACIÓN SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES
- Si la invención fue desarrollada usando conocimiento tradicional asociado a recursos genéticos o recursos biológicos de comunidades indígenas, afrodescendientes o locales de países miembros de la Comunidad Andina, debe anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional emitido por la comunidad.
14. COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRÓNICO
- Indique el número y fecha del recibo de pago de la tasa establecida o del pago electrónico. El comprobante de pago deberá anexarse.
15. FIRMA
- Escribir el nombre completo y la firma de la persona que solicita la concesión de la patente.
- Si se actúa a través de abogado la firma deberá ser la del apoderado; si actúa directamente una persona jurídica la firma deberá ser la del representante legal y si actúa directamente una persona natural ésta deberá firmar la solicitud.
16. RELACIÓN DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD
- La documentación de la solicitud deberá presentarse en el orden que viene la relación de documentos, primero la documentación técnica y luego la documentación jurídica.
- Señale en las casillas correspondientes a los documentos que acompañarán la solicitud e indíquese los números de folios y el número de reivindicaciones que correspondan.
- OTROS : LISTADO SE SECUENCIAS
- Si la solicitud contiene listado de secuencias aminoácidos y/o secuencias nucleótidos, estas deben suministrarse también en formato digital (CD o DVD con listado de secuencias en archivo de texto alfanumérico)

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES TARJETA ARCHIVO TEMATICO PATENTE DE INVENCION ☒ PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD ☐ DISEÑO INDUSTRIAL ☐	
(21) N° de solicitud: (51) Clasificación Internacional : A61K 31/74 (2006.01)		(22) Fecha de solicitud: 9 de Diciembre de 2013.	
(71) Solicitante (s): FORESIGHT BIOTHERAPEUTICS, INC.			
(72) Inventor (es): 1. STEIN, Jason 2. WEISER, Michael 3. CAPRIOTTI, Joseph 4. LIANG, Bo 5. SAMSON, Michael C.			
(74) Apoderado: JESUS M. MÉNDEZ BERMÚDEZ			
(30) Prioridad: Si (31) 61/485.475 (32) 12.05.2011 (33) US			
(85) Fecha límite inicio fase nacional: 12 de Diciembre de 2013. (86) Datos relativos a la presentación de la PCT Fecha de presentación de la solicitud: 11 de mayo de 2012, No. de solicitud: PCT/US2012/037563		(87) Publicación internacional: Fecha: (15/11/2012) No. Publicación: WO/2012/155062	
(54) Título: COMPOSICIONES ESTABLES DE POVIDONA YODADA CON ESTEROIDES O ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES			
(57) Resumen: Se describen aquí composiciones estables que comprenden povidona yodada y un esteroide, y también métodos de hacer y usar tales composiciones. También se describen aquí composiciones estables que comprenden povidona yodada y un NSAID, y métodos para hacer y usar tales composiciones.			

8

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO					
PATENTE PCT	☒	MODELO DE UTILIDAD	☐	DISEÑO INDUSTRIAL	☐
SOLICITANTE/S, RAZON SOCIAL O APELLIDOS Y NOMBRES		FORESIGHT BIOTHERAPEUTICS, INC.			
DOMICILIO	New York, United States				
APODERADO	JESUS M. MÉNDEZ BERMÚDEZ				
TITULO	COMPOSICIONES ESTABLES DE POVIDONA YODADA CON ESTEROIDES O ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES				
	CLASIFICACION				
EXPEDIENTE No.	FECHA DE SOLICITUD	9 de Diciembre de 2013	ROLLO MICROFILM		
CERTIFICADO No.	FECHA DE CONCESION		VIGENCIA DESDE	HASTA	
PRORROGA					
TRASPASO A					
INVENTOR (ES)	STEIN, Jason				
	WEISER, Michael				
	CAPRIOTTI, Joseph				
	LIANG, Bo				
	SAMSON, Michael C,				
OTROS					

FOR INTELLECTUAL PROPERTY

Yo, _____ actuando en
nombre y representación de _____
con domicilio en _____

por el presente nombra a la Dra. Mónica Wolf Wasserman, identificada con C. C. No. 51.711.267 y/o al Dr. Jesús M. Méndez Bermúdez, identificado con C. C. No. 13.491.525, miembros de la firma WOLF • MENDEZ • ABOGADOS ASOCIADOS, con domicilio en la Calle 83A No. 23 - 90, de Bogotá D.C. - Colombia, como sus representantes legales, para que actúen conjunta o separadamente al propósito de recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. En desarrollo de dicha calidad los representantes, o los apoderados que ellos designen, podrán recabar de las autoridades administrativas, sanitarias, judiciales, de policía, o cualquier otra competente, la obtención de Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazado de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Registro de Marcas, Lemas Comerciales, Depósito de Nombres Comerciales y Enseñas, Indicaciones Geográficas, Derechos de Autor, Nombres de Dominio y Registros Sanitarios, lo mismo que trasposos, extensiones, renovaciones, cambios de nombre, registro de licencias de explotación y registro de licencias de uso, a cuyo efecto les faculta para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al objeto indicado, elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, reposiciones, apelaciones y reclamos, presentar denuncias penales, acciones por competencia desleal, solicitar la aplicación de medidas cautelares, aceptar cesiones, abonar todos los impuestos, cuotas y pagos determinados por ley, recibir todos los documentos y valores dando el descargo respectivo, presentar oposiciones, solicitar cancelaciones, renunciaciones voluntarias de derechos, nulidades, responder acciones, revocar poderes otorgados anteriormente, elevar recursos ordinarios de súplica y en fin tomar todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de nuestros intereses con todas las demás facultades legales necesarias. Este

The undersigned, Michael WEISER acting on
behalf of Foresight Biotherapeutics, Inc.
with domicile in _____
New York, NY, USA

hereby appoints Dr. Mónica Wolf Wasserman, identified with Citizenship Card No. 51.711.267 and/or Dr. Jesús M. Méndez Bermúdez, identified with Citizenship Card No. 13.491.525, attorneys at law of the firm WOLF • MENDEZ • ABOGADOS ASOCIADOS domiciled in Calle 83A No. 23 - 90, of Bogotá - Colombia, as our legal representatives, so that either or both said attorneys may act for the purpose of receiving notifications and to appoint attorneys to act in and out of court. In such capacity the representatives, or the attorneys by them appointed, may request from the administrative, health, judicial, police, or any other competent authorities, Patents of Invention, Utility Models, Layout-Designs (Topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Registration of Trade Marks, Advertising Slogans, Deposit of Corporate and Trade Names, Ensigns, Geographical Indications, Copyright, Domain Names and Sanitary Registration, as well as assignments, extensions, renewals, changes of name, registration of licenses of exploitation and licenses of use, for which they are empowered to take before said authorities all the necessary steps for the purposes indicated, to file applications, to formulate descriptions, corrections, protests, declarations, reconsideration petitions, appeals and claims, to file criminal denunciations, unfair competition actions, to request the application of precautionary measures, to accept assignments, to pay all taxes, quotas and payments prescribed by law, to receive all documents and proceeds, giving the respective acquittance or receipt; to file oppositions, request cancellations, voluntary abdication of rights, nullities, respond to actions, to revoke any power of attorney previously granted, to file an ordinary and to take any other measures that may be deemed conducive to the

State of New York } ss.:
County of New York, }

I, NORMAN GOODMAN, County Clerk and Clerk of the Supreme Court of the State of New York, in and for the County of New York, a Court of Record, having by law a seal,
DO HEREBY CERTIFY pursuant to the Executive Law of the State of New York, that

Stuart M. Green

whose name is subscribed to the annexed affidavit, deposition, certificate of acknowledgment or proof, was at the time of taking the same a NOTARY PUBLIC in and for the State of New York duly commissioned, sworn and qualified to act as such; that pursuant to law, a commission or a certificate of his official character, with his autograph signature has been filed in my office; that at the time of taking such proof, acknowledgment or oath, he was duly authorized to take the same; that I am well acquainted with the handwriting of such NOTARY PUBLIC or have compared the signature on the annexed instrument with his autograph signature deposited in my office, and I believe that such signature is genuine.

IN WITNESS WHEREOF, I have hereunto set my hand affixed my official seal this

MAY 26 2011

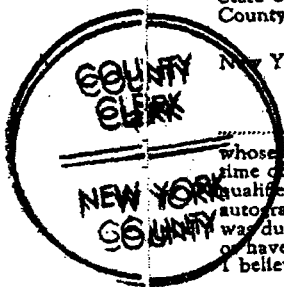
FEE PAID \$3.00

Norman Goodman
County Clerk and Clerk of the Supreme Court, New York County

852812

Form 1
t,
e

Place
Signature
Date



COMPOSICIONES ESTABLES DE POVIDONA YODADA CON ESTEROIDES O ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES

ANTECEDENTES

Los corticosteroides tópicos son utilizados rutinariamente para controlar la inflamación ocular. Sus mecanismos de acción involucran la inhibición de la respuesta inmune y la subsiguiente destrucción del tejido que la inflamación exuberante puede causar. El corticosteroide tiene el efecto colateral no deseado de limitar la capacidad intrínseca del cuerpo de pelear contra la infecciones. De hecho, el uso inoportuno de esteroides puede empeorar el curso de una infección secundario de micobacterias, virus u hongos. Así, el uso de un medicamento combinado de antimicrobianos y esteroides en infecciones oculares solo se recomienda bajo observación cuidadosa de un oftalmólogo entrenado debido a estos riesgos significativos. De hecho, TOBRADEX (Alcon), el fármaco de combinación antimicrobiano con esteroides oftálmico más comúnmente prescrito, lista específicamente como contraindicaciones absolutas de uso 'la enfermedad viral de la córnea y conjuntiva, infección micobacteriana, e infección fúngica'. Claramente, estos fármacos de combinación no fueron diseñados para ser usados en casos de conjuntivitis infecciosa en los cuales la infección bacteriana no puede ser confirmada.

En la Patente Estadounidense 7.767.217, se muestra que bajo ciertas condiciones específicas, la dexametasona puede ser combinada con povidona yodada (PVP-I) para formar una composición farmacéutica de antimicrobiano-esteroide efectiva. Sin embargo, también se muestra que la mayoría de las preparaciones que combinan PVP-I (o yodo) con un esteroide sufren de inestabilidad debido, en parte, a la reactividad del yodo con el esteroide. De

hecho, la patente Estadounidense 3.886.268 demuestra la bien conocida inestabilidad de las combinaciones de esteroide y yodo.

BREVE RESUMEN

En una modalidad, descrita aquí se da una composición oftálmica adecuada para administración tópica a un ojo, efectiva para el tratamiento y/o profilaxis de una infección por microorganismos o un desorden de al menos un tejido del ojo, que comprende povidona yodada en una concentración entre 0,01% y 10%, y un esteroide seleccionado del grupo que consiste de acetato de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos.

En una modalidad, la povidona yodada está entre 0,1% y 2,5% en peso. En una modalidad, la povidona yodada está entre 0,5% y 2% en peso. En una modalidad, el peso total de la povidona yodada y el esteroide está entre 0,1% y 4,5% en la solución. En una modalidad, el esteroide está en una concentración entre 0,01% y 2%. En una modalidad, el esteroide está en una concentración entre 0,05% y 1%.

En una modalidad, se describe aquí una composición farmacéutica que comprende povidona yodada en una concentración entre 0,01% y 10% y un esteroide seleccionado del grupo que consiste de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos, en donde el esteroide está en una concentración entre 0,05% y 1%. En una modalidad, la povidona yodada está en una concentración alrededor de 0,4%. En una modalidad, el esteroide está en una concentración seleccionada del grupo entre cerca de 0,1%, cerca de 0,05% y cerca de 0,005%.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende además un anestésico tópico que alivia el dolor. En una modalidad, un anestésico tópico es

seleccionado del grupo que consiste de proparacaína, lidocaína, tetracaína y una combinación de estos.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende además un promotor de penetración que promueve la penetración de la povidona yodada dentro de los tejidos oculares. En una modalidad, un promotor de penetración es un anestésico tópico.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende además un preservativo antimicrobiano. En una modalidad, el preservativo antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste de cloruro de benzalconio, timerosal, clorobutanol, metil parabeno, propil parabeno, feniletil alcohol, EDTA, ácido sórbico, Onamer M y combinaciones de estos. En una modalidad, el preservativo antimicrobiano está en una concentración de cerca de 0,001% a 1,0% en peso de dicha solución.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende además un cosolvente/tensoactivo. En una modalidad, el cosolvente/tensoactivo se selecciona del grupo que consiste de polisorbato 20, polisorbato 60, polisorbato 80, Pluronic F-68, Pluronic F.84, Pluronic F-103, ciclodextrina, tiloxapol y una combinación de estos. En una modalidad, el cosolvente/tensoactivo está en una concentración de cerca de 0,01% a 2% en peso en dicha composición.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende además un agente que incrementa la viscosidad. En una modalidad, el agente que incrementa la viscosidad se selecciona del grupo que consiste de alcohol de polivinilo, polivinil pirrolidona, metil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, carboximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, y una combinación de estos. En una modalidad, el agente que incrementa la viscosidad está en una concentración entre cerca de 0,01% a 2% en peso en dicha solución.

En una modalidad, una composición oftálmica adecuada para administración tópica a un ojo, efectiva para el tratamiento y/o profilaxis de una infección por microorganismos o un desorden de al menos un tejido del ojo, comprende povidona yodada en una concentración entre 0,01% y 10%, y bromfenaco. En una modalidad, una composición oftálmica comprende:

0,3% a 1% (p/p) de complejo polivinilpirrolidinona-yodo;

0,05% a 2% (p/p) de bromfenaco;

0,005% a 0,02% (p/p) de EDTA;

0,01 a 0,5% (p/p) de cloruro de sodio;

0,02 a 0,1% (p/p) tiloxapol;

0,5% a 2% (p/p) de sulfato de sodio; y

0,1 a 0,5% (p/p) de hidroxietilcelulosa.

En una modalidad, una composición oftálmica está en la forma de una solución, suspensión, emulsión, ungüento, crema, gel, o un vehículo de liberación controlada o liberación sostenida.

En una modalidad, un microorganismo, que es tratado o prevenido mediante profilaxis al usar una composición como la abarcada en la presente invención, se selecciona del grupo que consiste de bacterias, virus, hongos y amebas. En un aspecto, la bacteria es una micobacteria.

En una modalidad, un desorden, que es tratado usando una composición como la abarcada en la presente invención, es seleccionado del grupo que consiste de una infección por microorganismos en al menos un tejido del ojo, conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal y queratitis relacionada con el virus del herpes.

En una modalidad, una composición oftálmica es usada para la profilaxis de una infección después de una abrasión corneal o cirugía ocular.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende:

0,3% a 1% (p/p) de complejo polivinilpirrolidinona-yodo;

0,05% a 2% (p/p) de esteroide;

0,005% a 0.02% (p/p) de EDTA;

0,01 a 0,5% (p/p) de cloruro de sodio;

0,02 a 0,1% (p/p) tiloxapol;

0,5% a 2% (p/p) de sulfato de sodio; y

0,1 a 0,5% (p/p) de hidroxietilcelulosa.

En donde el esteroide se selecciona del grupo que consiste de acetato de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos.

En una modalidad, una composición oftálmica comprende:

0,4% (p/p) de complejo polivinilpirrolidinona-yodo;

0,1% (p/p) de esteroide;

0,01% (p/p) de EDTA;

0,3% (p/p) de sal de cloruro de sodio;

0,05% (p/p) tiloxapol;

0,2% (p/p) de sulfato de sodio; y

0,25% (p/p) de hidroxietilcelulosa.

En donde el esteroide se selecciona del grupo que consiste de acetato de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos.

En una modalidad, una composición oftálmica retiene el 95% de su polivinilpirrolidinona yodada y 95% de su esteroide después de un periodo de 1 mes. En una modalidad, una composición oftálmica retiene el 90% de su polivinilpirrolidinona yodada y 90% de su esteroide después de un periodo de 3 mes. En una modalidad, una composición oftálmica retiene el 90% de su polivinilpirrolidinona yodada y 90% de su esteroide después de un periodo de 1 mes.

En una modalidad, una composición oftálmica retiene el 95% de su polivinilpirrolidinona yodada y 95% de su NSAID después de un periodo de 1 mes. En una modalidad, una composición oftálmica retiene el 90% de su polivinilpirrolidinona yodada y 90% de su NSAID después de un periodo de 3 mes. En una modalidad, una composición oftálmica retiene el 90% de su polivinilpirrolidinona yodada y 90% de su NSAID después de un periodo de 1 mes.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende polivinilpirrolidinona yodada (PVP-I) y al menos un esteroide retiene el 89% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 90% de su PVP-I después de un periodo de un mes, cerca del 91% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 92% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 93% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 94% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 95% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 96% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 97% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 98% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 99% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende polivinilpirrolidinona yodada (PVP-I) y al menos un NSAID retiene el 89% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 90% de su PVP-I después de un periodo de un mes, cerca del 91% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 92% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 93% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 94% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 95% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 96% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 97% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 98% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes, cerca del 99% de su PVP-I después de un periodo de 1 mes.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende polivinilpirrolidinona yodada (PVP-I) y al menos un esteroide retiene el 89% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 90% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 91% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 92% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 93% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 94% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 95% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 96% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 97% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 98% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 99% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende polivinilpirrolidinona yodada (PVP-I) y al menos un NSAID retiene el 89% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 90% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 91% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 92% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 93% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 94% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 95% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 96% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 97% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 98% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses, cerca del 99% de su PVP-I después de un periodo de 3 meses.

meses, cerca del 96% de su PVP-I después de un período de 3 meses, cerca del 97% de su PVP-I después de un período de 3 meses, cerca del 98% de su PVP-I después de un período de 3 meses, cerca del 99% de su PVP-I después de un período de 3 meses.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende polivinilpirrolidinona yodada (PVP-I) y al menos un esteroide retiene el 89% de su al menos un esteroide después de un periodo de 1 mes, cerca del 90% de su al menos un esteroide después de un período de un mes, cerca del 91% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 92% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 93% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 94% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 95% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 96% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 97% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 98% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes, cerca del 99% de su al menos un esteroide después de un período de 1 mes.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende polivinilpirrolidinona yodada (PVP-I) y al menos un esteroide retiene el 89% de su al menos un NSAID después de un periodo de 1 mes, cerca del 90% de su al menos un NSAID después de un período de un mes, cerca del 91% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 92% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 93% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 94% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 95% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 96% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 97% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes, cerca del 98% de su al menos un NSAID

después de un período de 1 mes, cerca del 99% de su al menos un NSAID después de un período de 1 mes.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende PVP-I y al menos un esteroide retiene el 89% de su al menos un esteroide después de un periodo de 3 meses, cerca del 90% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 91% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 92% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 93% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 94% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 95% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 96% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 97% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 98% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses, cerca del 99% de su al menos un esteroide después de un período de 3 meses.

En una modalidad, una composición oftálmica que comprende PVP-I y al menos un NSAID retiene el 89% de su al menos un NSAID después de un periodo de 3 meses, cerca del 90% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 91% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 92% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 93% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 94% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 95% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 96% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 97% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 98% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses, cerca del 99% de su al menos un NSAID después de un período de 3 meses.

En una modalidad, una composición oftálmica es una solución acuosa.

En una modalidad, se suministra un método para tratar y/o la profilaxis de un desorden ocular o de una infección por un microorganismo de al menos un tejido ocular que comprende la etapa de administrar una o más dosis de una composición oftálmica descrita aquí al ojo. En una modalidad, la profilaxis es profilaxis de una infección luego de efectuar una abrasión ocular o una cirugía ocular. En una modalidad, el desorden ocular se selecciona del grupo que consiste de una infección por microorganismos en al menos un tejido del ojo, conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal y queratitis relacionada con el virus del herpes. En una modalidad, el microorganismo es una bacteria, virus, hongos y amebas. En un aspecto, la bacteria es una micobacteria.

En una modalidad, en un método de tratamiento, la suma de la povidona yodada y el esteroide está entre 0,001 mg a 5 mg por dosis. En una modalidad, en un método de tratamiento, cada dosis esta entre 10 microlitros a 200 microlitros. En una modalidad, en un método de tratamiento, cada dosis está entre 50 microlitros a 80 microlitros, En una modalidad, en un método de tratamiento, la etapa de administrar comprende administrar una composición descrita aquí a un ojo una a cuatro veces al día. En una modalidad, en un método de tratamiento, la etapa de administrar comprende administrar una composición descrita aquí a un ojo entre una a veinticuatro veces al día. En una modalidad, en un método de tratamiento, el método incluye almacenar la composición durante al menos un mes, al menos tres meses, al menos seis meses, o al menos 1 año antes de la etapa de administrar.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 es una imagen que ilustra los datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del fosfato de dexametasona.

La Figura 2 es una imagen que ilustra los datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del acetato de prednisolona.

La Figura 3 es una imagen que ilustra los datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del etabonato de lotoprednol.

La Figura 4 es una imagen que ilustra los datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del difluprednato.

La Figura 5 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del PVP-I a una concentración de 200 µg/mL para el fosfato de dexametasona sodio.

La Figura 6 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para el Día 0.

La Figura 7 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio.

La Figura 8 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para dos semanas.

La Figura 9 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para dos semanas.

La Figura 10 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes.

La Figura 11 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes.

La Figura 12 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV (expandidos) del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes.

La Figura 13 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV (expandidos) del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes.

La Figura 14 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del fosfato de dexametasona sodio en referencia a muestras estándar.

La Figura 15 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del fosfato de dexametasona sodio en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I.

La Figura 16 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del fosfato de dexametasona sodio en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I.

La Figura 17 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del PVP-I en una concentración de 20 µg/mL para el acetato de prednisolona.

La Figura 18 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para el Día 0.

La Figura 19 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para el Día 0.

La Figura 20 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para dos semanas.

La Figura 21 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para dos semanas.

La Figura 22 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para un mes.

La Figura 23 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para un mes.

La Figura 24 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del acetato de prednisolona en referencia a muestras estándar.

La Figura 25 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del acetato de prednisolona en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I.

La Figura 26 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del acetato de prednisolona en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I.

La Figura 27 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del PVP-I en una concentración de 40 µg/mL para el etabonato de loteprednol.

La Figura 28 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para el Día 0.

La Figura 29 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para el Día 0.

La Figura 30 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para dos semanas.

La Figura 31 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para dos semanas.

La Figura 32 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para un mes.

La Figura 33 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para un mes.

La Figura 34 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del etabonato de loteprednol en referencia a muestras estándar.

La Figura 35 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del etabonato de loteprednol en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I.

La Figura 36 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del etabonato de loteprednol en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I.

La Figura 37 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del PVP-I en una concentración de 400 µg/mL para el difluprednato.

La Figura 38 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para el Día 0.

La Figura 39 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para el Día 0.

La Figura 40 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para dos semanas.

La Figura 41 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para dos semanas.

La Figura 42 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para un mes.

La Figura 43 es una imagen que ilustra los cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para un mes.

La Figura 44 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del difluprednato en referencia a muestras estándar.

La Figura 45 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del difluprednato en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I.

La Figura 46 es una imagen que ilustra los cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del difluprednato en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I.

DESCRIPCION DETALLADA

Es conocido que el yodo, incluyendo las preparaciones de PVP-I, reacciona químicamente con diversos esteroides cuando se le combina con un esteroide, lo que resulta en una composición inestable, debido en parte a la reactividad de yodo con el esteroide. la patente Estadounidense 3.886.268 demuestra la bien conocida inestabilidad de las combinaciones de esteroide y yodo. También se conoce que ciertos compuestos antiinflamatorios no esteroideos ("NSAID") también reaccionan con el yodo. Sin embargo, la Patente Estadounidense 7.767.217, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad, muestra que bajo ciertas condiciones específicas, la dexametasona, por ejemplo, puede ser combinada con PVP-I para formar una composición farmacéutica de antimicrobiano- esteroide efectiva. La solicitud de patente provisional Estadounidense No. 61/485.475, de la cual la presente solicitud reclama prioridad, también se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

Composiciones

En una modalidad, las composiciones divulgadas aquí comprenden PVP-I y un esteroide. En una modalidad, las composiciones divulgadas aquí comprenden PVP-I y un NSAID. En otra modalidad, una composición divulgada aquí es una composición farmacéutica. En otra modalidad, una composición divulgada aquí es una composición oftálmica.

La invención suministra, en parte, composiciones que comprenden PVP-I en el rango entre cerca de 0,01% a cerca de 10% (peso/peso o peso/volumen) y un esteroide en una concentración entre cerca de 0,001% a cerca de 10%. La invención también suministra, en parte, composiciones oftálmicas que comprenden povidona yodada en el rango entre cerca de 0,01% a cerca de 10% (peso/peso o peso/volumen) y una cantidad terapéuticamente efectiva de un esteroide en una concentración entre cerca de 0,001% a cerca de 10%. La invención suministra, en parte, composiciones que comprenden PVP-I en el rango entre cerca de 0,01% a cerca de 10% (peso/peso o peso/volumen) y un NSAID en una concentración entre cerca de 0,001% a cerca de 10%. La invención también suministra, en parte, composiciones oftálmicas que comprenden povidona yodada en el rango entre cerca de 0,01% a cerca de 10% (peso/peso o peso/volumen) y una cantidad terapéuticamente efectiva de un NSAID en una concentración entre cerca de 0,001% a cerca de 10%.

La afinidad del yodo libre para reaccionar con los grupos funcionales $-OH$, $-SH$ y $-NH$ está bien descrita en la literatura y forma la base para la actividad antimicrobiana de las soluciones que contienen yodo (Rackur H.J. Hosp. Infect. 1985; 6: 13-23, y las referencias en este). La dexametasona, (9-fluoro-11 β ., 17, 21-trihidroxi-16 α .-metilpregna-1, 4-diene-3, 20-diona) por ejemplo, contiene tres de tales partes ($-OH$) en las posiciones 11, 17 y 21. La persona versada en la materia concluiría que estos grupos hidroxilo estarían propensos a reacciones de sustitución covalente por el yodo libre generado en la reacción de equilibrio de la solución descrita antes para la PVP-I.

Al preparar las composiciones presentes, se llevaron a cabo experimentos de combinaciones de varios esteroides y PVP-I, al igual que combinaciones de varios NSAID y PVP-I. Se observó que muchas formulaciones no fueron exitosas debido a la rápida reacción entre el PVP-I y el esteroide agregado. Fue sorprendente descubrir que soluciones separadas de PVP-I y acetato de

prednisolona, PVP-I y etabonato de loteprednol, PVP-I y acetato de hidrocortisona, y PVP-I y difluprednato demostraron una estabilidad inesperada, con base en lo que se conocía en el estado de la técnica. También fue sorprendente descubrir que soluciones de PVP-I y bromfenaco demostraron una estabilidad inesperada, con base en el conocimiento previo de la técnica. En una modalidad, una combinación de PVP-I y uno de los esteroides o NSAID identificados antes cada una permaneció estable durante un mes o más tiempo.

En una modalidad, una composición comprende PVP-I y acetato de prednisolona. En otra modalidad, una composición es una composición farmacéutica que comprende PVP-I y acetato de prednisolona. En otra modalidad, una composición es una preparación oftálmica que comprende PVP-I y acetato de prednisolona.

En una modalidad, una composición comprende PVP-I y etabonato de loteprednol. En otra modalidad, una composición es una composición farmacéutica que comprende PVP-I y etabonato de loteprednol. En otra modalidad, una composición es una preparación oftálmica que comprende PVP-I y etabonato de loteprednol.

En una modalidad, una composición comprende PVP-I y acetato de hidrocortisona. En otra modalidad, una composición es una composición farmacéutica que comprende PVP-I y acetato de hidrocortisona. En otra modalidad, una composición es una preparación oftálmica que comprende PVP-I y acetato de hidrocortisona.

En una modalidad, una composición comprende PVP-I y difluprednato. En otra modalidad, una composición es una composición farmacéutica que comprende PVP-I y difluprednato. En otra modalidad, una composición es una preparación oftálmica que comprende PVP-I y difluprednato.

En una modalidad, una composición comprende PVP-I y bromfenaco. En otra modalidad, una composición es una composición farmacéutica que comprende PVP-I y bromfenaco. En otra modalidad, una composición es una preparación oftálmica que comprende PVP-I y bromfenaco.

Los porcentajes de los componentes de las composiciones se suministran aquí en peso/peso (p/p), a menos que se indique otra cosa. Por ejemplo, 0,6% de PVP-I indica 0.6% de PVP-I en peso, con respecto al peso total del 100% para una composición.

En una modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración en el rango entre cerca de 0,1% a cerca de 2,5%. En otra modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración en el rango entre cerca de 0,2% a cerca de 1,5%, y en otra modalidad, entre 0,3% a cerca de 1,0%. En una modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración en el rango entre cerca de 0,2% a cerca de 2,0%, cerca de 0,3% a cerca de 1,5%, cerca de 0,36% a cerca de 1,0%, y cerca de 0,4% a cerca de 0,75%. En una modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración cerca de 0,05%, cerca de 0,1%, cerca de 0,2%, cerca de 0,3%, cerca de 0,4%, cerca de 0,5%, cerca de 0,6%, cerca de 0,7%, cerca de 0,8%, cerca de 0,9% o cerca de 1,0%. En una modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración 0,05%, 0,1%, 0,15%, 0,2%, 0,25%, 0,3%, 0,35%, 0,4%, 0,45%, 0,5%, 0,55%, 0,6%, 0,65%, 0,7%, 0,75%, 0,8%, 0,85%, 0,9%, 0,95% o 1,0%. En otra modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración cerca de 2%, cerca de 3%, cerca de 4%, cerca de 5%, cerca de 6%, cerca de 7%, cerca de 8%, cerca de 9% o cerca de 10%. En otra modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración cerca de 2% o menos, cerca de 3% o menos, cerca de 4% o menos, cerca de 5% o menos, cerca de 6% o menos, cerca de 7% o menos, cerca

de 8% o menos, cerca de 9% o menos o cerca de 10% o menos. En otra modalidad, una composición comprende povidona yodada (PVP-I) en una concentración cerca de 1% o más, cerca de 2% o más, cerca de 3% o más, cerca de 4% o más, cerca de 5% o más, cerca de 6% o más, cerca de 7% o más, cerca de 8% o más, cerca de 9% o más o cerca de 10% o más. En otra modalidad, una composición comprende PVP-I en una concentración de 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10%.

Las composiciones descritas aquí comprenden uno o más esteroides.

Dichos esteroides incluyen, sin limitarse a, dexametasona, dexametasona alcohol, dexametasona sodio fosfato, acetato de flurometalona, acetato de fluormetalona, flurometalona alcohol, etabonato de lotoprednol, medrisona, acetato de prednisolona, fosfato de prednisolona sodio, difluprednato, rimexolona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, lodoxamida trometamina, y combinaciones de estos. En una modalidad, un esteroide está presente en la composición o preparación a un nivel de 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, o 2,0%. En una modalidad, un esteroide está presente en la composición o preparación a un nivel de cerca de 0,001%, cerca de 0,002%, cerca de 0,003%, cerca de 0,004%, cerca de 0,005%, cerca de 0,006%, cerca de 0,007%, cerca de 0,008%, cerca de 0,009%, cerca de 0,01%, cerca de 0,02%, cerca de 0,03%, cerca de 0,04%, cerca de 0,05%, cerca de 0,06%, cerca de 0,07%, cerca de 0,08%, cerca de 0,09%, cerca de 0,1%, cerca de 0,2%, cerca de 0,3%, cerca de 0,4%, cerca de 0,5%, cerca de 0,6%, cerca de 0,7%, cerca de 0,8%, cerca de 0,9%, cerca de 1,0%, cerca de 1,1%, cerca de 1,2%, cerca de 1,3%, cerca de 1,4%, cerca de 1,5%, cerca de 1,6%, cerca de 1,7%, cerca de 1,8%, cerca de 1,9%, o cerca de 2,0%. En una modalidad, un esteroide está presente en la composición o preparación a un

nivel de cerca de 0,001% o menos, cerca de 0,002% o menos, cerca de 0,003% o menos, cerca de 0,004% o menos, cerca de 0,005% o menos, cerca de 0,006% o menos, cerca de 0,007% o menos, cerca de 0,008% o menos, cerca de 0,009% o menos, cerca de 0,01% o menos, cerca de 0,02% o menos, cerca de 0,03% o menos, cerca de 0,04% o menos, cerca de 0,05% o menos, cerca de 0,06% o menos, cerca de 0,07% o menos, cerca de 0,08% o menos, cerca de 0,09% o menos, cerca de 0,1% o menos, cerca de 0,2% o menos, cerca de 0,3% o menos, cerca de 0,4% o menos, cerca de 0,5% o menos, cerca de 0,6% o menos, cerca de 0,7% o menos, cerca de 0,8% o menos, cerca de 0,9% o menos, cerca de 1,0% o menos, cerca de 1,1% o menos, cerca de 1,2% o menos, cerca de 1,3% o menos, cerca de 1,4% o menos, cerca de 1,5% o menos, cerca de 1,6% o menos, cerca de 1,7% o menos, cerca de 1,8% o menos, cerca de 1,9% o menos, o cerca de 2,0% o menos. En una modalidad, un esteroide está presente en la composición o preparación a un nivel de cerca de 0,001% o más, cerca de 0,002% o más, cerca de 0,003% o más, cerca de 0,004% o más, cerca de 0,005% o más, cerca de 0,006% o más, cerca de 0,007% o más, cerca de 0,008% o más, cerca de 0,009% o más, cerca de 0,01% o más, cerca de 0,02% o más, cerca de 0,03% o más, cerca de 0,04% o más, cerca de 0,05% o más, cerca de 0,06% o más, cerca de 0,07% o más, cerca de 0,08% o más, cerca de 0,09% o más, cerca de 0,1% o más, cerca de 0,2% o más, cerca de 0,3% o más, cerca de 0,4% o más, cerca de 0,5% o más, cerca de 0,6% o más, cerca de 0,7% o más, cerca de 0,8% o más, cerca de 0,9% o más, cerca de 1,0% o más, cerca de 1,1% o más, cerca de 1,2% o más, cerca de 1,3% o más, cerca de 1,4% o más, cerca de 1,5% o más, cerca de 1,6% o más, cerca de 1,7% o más, cerca de 1,8% o más, cerca de 1,9% o más, o cerca de 2,0% o más.

Las composiciones descritas aquí comprenden uno o más NSAIDs. Dichos NSAIDs incluyen, sin limitarse a, bromfenaco, cetorolac, nepafenaco, fumarato de

cetotifeno, diclofenaco sodio, flurbiprofeno sodio, cetorlac trometamina, suprofeno, celecoxib, naproxeno, rofecoxib, y cualesquier combinaciones de estos. En una modalidad, un NSAID está presente en la composición a un nivel de 0,001% a cerca de 10%. En una modalidad, un NSAID está presente en la composición o en la preparación a un nivel de 0,001%, 0,002%, 0,003%, 0,004%, 0,005%, 0,006%, 0,007%, 0,008%, 0,009%, 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,06%, 0,07%, 0,08%, 0,09%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8%, 0,9%, 1,0%, 1,1%, 1,2%, 1,3%, 1,4%, 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, o 2,0%. En una modalidad, un NSAID está presente en la composición o preparación a un nivel de cerca de 0,001%, cerca de 0,002%, cerca de 0,003%, cerca de 0,004%, cerca de 0,005%, cerca de 0,006%, cerca de 0,007%, cerca de 0,008%, cerca de 0,009%, cerca de 0,01%, cerca de 0,02%, cerca de 0,03%, cerca de 0,04%, cerca de 0,05%, cerca de 0,06%, cerca de 0,07%, cerca de 0,08%, cerca de 0,09%, cerca de 0,1%, cerca de 0,2%, cerca de 0,3%, cerca de 0,4%, cerca de 0,5%, cerca de 0,6%, cerca de 0,7%, cerca de 0,8%, cerca de 0,9%, cerca de 1,0%, cerca de 1,1%, cerca de 1,2%, cerca de 1,3%, cerca de 1,4%, cerca de 1,5%, cerca de 1,6%, cerca de 1,7%, cerca de 1,8%, cerca de 1,9%, o cerca de 2,0%. En una modalidad, un NSAID está presente en la composición o preparación a un nivel de cerca de 0,001% o menos, cerca de 0,002% o menos, cerca de 0,003% o menos, cerca de 0,004% o menos, cerca de 0,005% o menos, cerca de 0,006% o menos, cerca de 0,007% o menos, cerca de 0,008% o menos, cerca de 0,009% o menos, cerca de 0,01% o menos, cerca de 0,02% o menos, cerca de 0,03% o menos, cerca de 0,04% o menos, cerca de 0,05% o menos, cerca de 0,06% o menos, cerca de 0,07% o menos, cerca de 0,08% o menos, cerca de 0,09% o menos, cerca de 0,1% o menos, cerca de 0,2% o menos, cerca de 0,3% o menos, cerca de 0,4% o menos, cerca de 0,5% o menos, cerca de 0,6% o menos, cerca de 0,7% o menos, cerca de 0,8% o menos, cerca de 0,9% o menos, cerca de 1,0% o menos, cerca de 1,1% o menos, cerca de 1,2% o menos, cerca de 1,3% o menos, cerca de 1,4% o menos, cerca de 1,5% o menos, cerca de 1,6% o menos, cerca

de 1,7% o menos, cerca de 1,8% o menos, cerca de 1,9% o menos, o cerca de 2,0% o menos. En una modalidad, un NSAID está presente en la composición o preparación a un nivel de cerca de 0,001% o más, cerca de 0,002% o más, cerca de 0,003% o más, cerca de 0,004% o más, cerca de 0,005% o más, cerca de 0,006% o más, cerca de 0,007% o más, cerca de 0,008% o más, cerca de 0,009% o más, cerca de 0,01% o más, cerca de 0,02% o más, cerca de 0,03% o más, cerca de 0,04% o más, cerca de 0,05% o más, cerca de 0,06% o más, cerca de 0,07% o más, cerca de 0,08% o más, cerca de 0,09% o más, cerca de 0,1% o más, cerca de 0,2% o más, cerca de 0,3% o más, cerca de 0,4% o más, cerca de 0,5% o más, cerca de 0,6% o más, cerca de 0,7% o más, cerca de 0,8% o más, cerca de 0,9% o más, cerca de 1,0% o más, cerca de 1,1% o más, cerca de 1,2% o más, cerca de 1,3% o más, cerca de 1,4% o más, cerca de 1,5% o más, cerca de 1,6% o más, cerca de 1,7% o más, cerca de 1,8% o más, cerca de 1,9% o más, o cerca de 2,0% o más.

Las composiciones divulgadas aquí pueden ser administradas como soluciones, suspensiones, emulsiones (dispersiones), geles, cremas, o ungüentos en un vehículo oftálmicamente adecuado. En cualquiera de las composiciones de esta divulgación para administración tópica, tal como administración tópica en el ojo, las mezclas son formuladas preferiblemente como soluciones acuosas a un pH entre 3,5 a 6,5. Preferencialmente el pH se ajusta entre 4 y 5. Este rango de pH puede ser logrado mediante agregar ácidos o bases a la solución.

En una modalidad, una composición oftálmica puede comprender un co-solvente opcional. En otra modalidad, la solubilidad de los componentes de las presentes composiciones se puede mejorar mediante un tensoactivo u otro co-solvente apropiado en la composición. Tales co-solventes o tensoactivos incluyen polisorbato -20, -60, y -80, un tensoactivo de polioxietileno/polioxipropileno (por ejemplo, Pluronic F-68, F-84 y P-103), ciclodextrina, tiloxapol, PEG 35 Aceite de ricino (Cremophor EL), Estearato de polioxilo 40 (Myrj 52), otros agentes

conocidos por aquellos versados en la técnica, o una combinación de estos.

Típicamente, tales co-solventes están presentes en un nivel de cerca de 0,01% a cerca de 2% en peso. En una modalidad, un co-solvente está presente a un nivel de cerca de 0,01%, cerca de 0,02%, cerca de 0,03%, cerca de 0,04%, cerca de 0,05%, cerca de 0,06%, cerca de 0,07%, cerca de 0,08%, cerca de 0,09%, cerca de 0,1%, cerca de 0,2%, cerca de 0,3%, cerca de 0,4%, cerca de 0,5%, cerca de 0,6%, cerca de 0,7%, cerca de 0,8%, cerca de 0,9%, cerca de 1,0%, cerca de 1,1%, cerca de 1,2%, cerca de 1,3%, cerca de 1,4%, cerca de 1,5%, cerca de 1,6%, cerca de 1,7%, cerca de 1,8%, cerca de 1,9%, o cerca de 2,0%.

En una modalidad, una composición puede comprender un agente opcional que puede incrementar la viscosidad. Como lo podrá entender un artesano versado cuando conoce la presente divulgación, puede ser deseable incrementar la viscosidad por encima de aquella de una simple solución acuosa para poder incrementar la absorción ocular del compuesto activo, para disminuir la variabilidad en el suministro de la formulación, para disminuir la separación física de los componentes de una suspensión o emulsión de la formulación y/o para de otra manera mejorar la formulación oftálmica. Tales agentes que mejoran la viscosidad incluyen, sin limitarse a, polivinil alcohol, polivinil pirrolidona, metil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, hidroxietil celulosa, carboximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, otros agentes conocidos por aquellos versados en la técnica, o cualquier combinación de los anteriores. Tales agentes son típicamente empleados en un nivel de cerca de 0,01% a cerca de 2% en peso. En una modalidad, tales agentes opcionales están presentes a un nivel de cerca de 0,01%, cerca de 0,02%, cerca de 0,03%, cerca de 0,04%, cerca de 0,05%, cerca de 0,06%, cerca de 0,07%, cerca de 0,08%, cerca de 0,09%, cerca de 0,1%, cerca de 0,2%, cerca de 0,3%, cerca de 0,4%, cerca de 0,5%, cerca de 0,6%, cerca de 0,7%, cerca de 0,8%, cerca de 0,9%, cerca de 1,0%, cerca de 1,1%, cerca de

1,2%, cerca de 1,3%, cerca de 1,4%, cerca de 1,5%, cerca de 1,6%, cerca de 1,7%, cerca de 1,8%, cerca de 1,9%, o cerca de 2,0%.

En otro aspecto, las composiciones pueden comprender agentes bioadhesivos, para poder incrementar el tiempo de retención del gradiente de fármaco sobre un sustrato biológico. Los agentes bioadhesivos incluyen, sin limitarse a, polivinilpirrolidona (PVP), goma de xantano, goma de algarroba, goma de acacia, hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), alginato de sodio, pectina, gelatina, carbómero, polivinilalcohol, goma de gelano, tragacanto, acacia, y sodio carboximetil celulosa, al igual que otros agentes conocidos por aquellos versados en la técnica, o cualquier combinación de estos.

En otra modalidad, las composiciones de la invención pueden comprender agentes viscoelásticos tales como metil celulosa, carboximetil celulosa, hidroxietil celulosa, polivinil alcohol, dextrán, sulfato de chondroitina y sales de estos, y ácido hialurónico y sales de este.

En una modalidad, una composición oftálmica puede además comprender uno o más de (1) un mejorador de la penetración el cual mejora la penetración de la povidona yodada dentro de los tejidos del ojo (este puede ser un anestésico tópico), (2) un co-solvente o un agente tensoactivo no iónico – tensoactivo, que, por ejemplo, pueda estar entre 0,01% a 2% en peso; (3) un agente que incremente la viscosidad, que, por ejemplo, pueda estar entre 0,01% a 2% en peso; y (4) un vehículo oftálmicamente adecuado.

La composición oftálmica puede estar en la forma de una solución, una suspensión, una emulsión, una preparación, un ungüento, una crema, un gel, o un vehículo de liberación controlada/liberación sostenida. Como ejemplo no limitativo, la composición puede estar en la forma de una solución para lentes de contacto, lavado de ojos, gotas para los ojos, y similares.

Métodos

En una modalidad, las composiciones descritas aquí son útiles para la preparación de y uso como composiciones farmacéuticas. En otra modalidad, las composiciones descritas aquí son útiles para la preparación de y uso como composiciones diferentes a composiciones farmacéuticas.

En una modalidad, las composiciones descritas aquí son útiles para la preparación de y uso como composiciones oftálmicas. En un aspecto, una composición de la invención es útil en el tratamiento de infecciones de la conjuntiva y la córnea. En otro aspecto, la actividad antimicrobiana de amplio espectro de la povidona yodada permite que una composición de la invención sea utilizada para tratar infecciones oculares de la conjuntiva o de la córnea causadas por micobacterias, virus, hongos, y amebas. Adicionalmente la composición es útil en la profilaxis de infecciones de pacientes que se recuperan de una cirugía oftálmica.

En una modalidad, se suministra una composición oftálmica adecuada para administración tópica a un ojo, efectiva para el tratamiento y/o profilaxis de una infección por microorganismos o un desorden de al menos un tejido de los ojos. La profilaxis puede ser, por ejemplo, profilaxis de infecciones luego de una cirugía, profilaxis de una infección después del nacimiento del recién nacido, o profilaxis por un contacto accidental con material contaminante. Un contacto accidental con material contaminante puede ocurrir, por ejemplo, durante la cirugía o durante el procesamiento de alimentos.

En un aspecto, la composición oftálmica puede ser usada para el tratamiento y/ profilaxis de una infección por microorganismos. El microorganismo puede ser una bacteria, un virus, un hongo, o una ameba, un parásito, o una combinación de los anteriores. En una modalidad, la bacteria puede ser una micobacteria.

En un aspecto, una composición oftálmica puede ser usada para tratar un desorden tal como, pero sin limitarse a, conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal, queratitis relacionada con el virus del herpes, irregularidad de la superficie ocular, deficiencia de lágrimas, síndrome seco, disfunción de la glándula meibomiana, blefaritis y uveítis. En otro aspecto, una composición oftálmica puede ser usada para la profilaxis de desórdenes tales como conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal, queratitis relacionada con el virus del herpes, irregularidad de la superficie ocular, deficiencia de lágrimas, síndrome seco, disfunción de la glándula meibomiana, blefaritis y uveítis.

En otra modalidad, la invención está dirigida a un método para tratar y/o profilaxis de un desorden en el ojo o una infección por un microorganismo de al menos un tejido ocular que comprende la etapa de administrar una o más dosis de una composición oftálmica, discutida antes, en el ojo. El desorden del ojo puede ser, por ejemplo, una infección causada por microorganismos en al menos un tejido del ojo, conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal, queratitis relacionada con el virus del herpes, irregularidad de la superficie ocular, deficiencia de lágrimas, síndrome seco, disfunción de la glándula meibomiana y blefaritis. El microorganismo puede ser bacterias (por ejemplo, micobacterias), virus, hongos, o amebas.

En una modalidad, el volumen de la dosis administrada a un sujeto puede estar entre cerca de 10 microlitros y cerca de 200 microlitros, en otra modalidad, entre cerca de 20 microlitros y cerca de 100 microlitros, y en otra modalidad, entre cerca de 50 microlitros y cerca de 80 microlitros, o cerca de una gota por ojo. Dos o más gotas pueden ser agregadas a un ojo. El tratamiento de un ojo puede ser efectuado mediante agregar una sola gota de la composición descrita aquí, o mediante agregar dos o más gotas, según se requiera para lograr el resultado deseado.

En una modalidad, la frecuencia de la administración puede estar entre 1 y 24 veces al día. En una modalidad, la frecuencia de la administración puede estar entre 1 y 48 veces al día. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede estar entre 2 y 24 veces al día. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede estar entre 2 y 4 veces al día. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede ser dos veces al día. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede ser una vez al día. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede ser menos de una vez al día. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede ser bajo demanda, a medida que el tratamiento terapéutico se requiera o se desee. En otra modalidad, la frecuencia de la administración puede 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 48, o 96 veces al día.

En una modalidad, una composición descrita aquí es usada para profilaxis y/o tratamiento de un tejido no oftálmico mediante hacer contacto entre el tejido y la composición.

La invención se describe adicionalmente mediante los siguientes ejemplos. Debe reconocerse que las variaciones basadas en los rasgos inventivos están dentro de las habilidades de la persona versada en la materia, y que el alcance de la invención no debe ser limitado por los ejemplos. Para determinar apropiadamente el alcance de la presente divulgación, una parte interesada debería considerar las reivindicaciones adjuntas aquí, y cualquier equivalente de las mismas. Todas las patentes, solicitudes de patente, y referencias citadas aquí se incorporan por referencia en su totalidad.

EJEMPLOS

La invención se describe ahora con referencia a los siguientes ejemplos. Estos ejemplos se dan con el propósito de ilustración solamente y la invención de

ninguna manera debe ser entendida como limitada a estos ejemplos, sino que debe ser interpretada para abarcar cualquiera y todas las variaciones que se hagan evidentes como resultado de las enseñanzas provistas aquí.

Ejemplo 1: Ensayo de estabilidad para Esteroides Combinados Con Povidona yodada

El objetivo de este estudio fue el de determinar si la povidona yodada (PVP-I) en una concentración de 4 mg/mL (0,4%) reacciona con cualquiera de cuatro esteroides (dexametasona sodio fosfato, acetato de prednisolona, etabonato de loteprednol, y difluprednato), los ingredientes activos, en formulaciones farmacéuticas bajo temperatura ambiente o a 40°C durante un tiempo de un mes.

Una solución oftálmica de dexametasona sodio fosfato (USP, 0.1%) de Alcon Laboratories, una suspensión oftálmica de acetato de prednisolona (USP, 1%) de Alcon Laboratories, una suspensión oftálmica de etabonato de loteprednol (0,5%) de Baush & Lomb, y una emulsión de difluprednato (0,05%) de Sirion Therapeutics fueron usadas en este estudio. La PVP-I fue preparada en agua a una concentración de 100 mg/mL (10%). Un mililitro de la solución, suspensión o emulsión se mezcló con 40 µL de PVP-I al 10% en frascos de vidrio ámbar de 1,5 mL, seguido por el almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C durante dos semanas y un mes. Las muestras resultantes en la presencia de PVP-I fueron analizadas usando HPLC. Los cuatro niveles de esteroides fueron medidos contra las muestras estándar de referencia almacenadas a temperatura ambiente en ausencia de PVP-I (0,4%). Las muestras del ensayo de Estabilidad durante un mes fueron analizadas con la muestra de referencia estándar usando el Método LC-MS/MS en el modo MRM con tres transiciones de ion características para confirmar la identidad de cuatro esteroides en las muestras del ensayo de estabilidad. La presencia de cada uno de los cuatro esteroides en las formulaciones farmacéuticas respectivas ensayadas fue confirmada por LC/UV-

MS y MS/MS. Así, las cuatro formulaciones farmacéuticas pueden ser usadas en el estudio.

Después del almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0,4%), los niveles de dexametasona fosfato en muestras de dos semanas fueron solamente de 83,04% y 84,57% de aquellos en las muestras en el día 0 a temperatura ambiente y 40°C, respectivamente. Los datos respectivos son 84,24% y 84,09% para el ensayo de un mes, indicando que la dexametasona fosfato no era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las presentes condiciones de ensayo. Tres productos de degradación (D1, D2 y D3) fueron observados.

Después del almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0,4%), los niveles de acetato de prednisolona en muestras de dos semanas fueron solamente de 99,24% y 99,60% de aquellos en las muestras en el día 0 a temperatura ambiente y 40°C, respectivamente. Los datos respectivos son 95,66% y 96,79% para el ensayo de un mes. Cromatogramas de masas de iones idénticos y las mismas intensidades de la respuesta de las masa de iones fueron observados en las muestras de referencia estándar y de ensayos de un mes de estabilidad. Los resultados de los análisis HPLC/UV y LC-MS/MS indicaron que el acetato de prednisolona era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las condiciones actuales de ensayo.

Después del almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0,4%), los niveles de etabonato de loteprednol en muestras de dos semanas fueron de 101,43% y 100,07% de aquellos en las muestras en el día 0 a temperatura ambiente y 40°C, respectivamente. Los datos respectivos son 100,72% y 96,02% para el ensayo de un mes. Cromatogramas de masas de iones idénticos y las mismas intensidades de la respuesta de las masas de iones fueron observados en las muestras de referencia estándar y de ensayos de un mes de estabilidad. Los resultados de los análisis HPLC/UV y LC-MS/MS indicaron que el

etabonato de loteprednol era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las condiciones actuales de ensayo.

Después del almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0,4%), los niveles de difluprednato en muestras de dos semanas fueron solamente de 103,23% y 99,30% de aquellos en las muestras en el día 0 a temperatura ambiente y 40°C, respectivamente. Los datos respectivos son 104,47% y 100,24% para el ensayo de un mes. Cromatogramas de masas de iones idénticos y las mismas intensidades de la respuesta de las masa de iones fueron observados en las muestras de referencia estándar y de ensayos de un mes de estabilidad. Los resultados de los análisis HPLC/UV y LC-MS/MS indicaron que el difluprednato era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las condiciones actuales de ensayo.

1. MATERIALES

1.1. Formulaciones farmacéuticas de ensayo

Los cuatro esteroides y sus formulaciones farmacéuticas relacionadas se listan en la Tabla I y la Tabla II.

1.2. Povidona yodada

La POvidona yodada (USP) fue obtenida de Spectrum Chemicals. Lote No. Y fecha de expiración son YQ0429 y Enero 31 de 2011, respectivamente.

1.3. Solventes, Reactivos y Suministros

Agua OmniSolv® fue obtenida de EM Science. El acetonitrilo, el metanol, y el acetato de amonio fueron comprados en Sigma-Aldrich.

1.4. Suministros y Equipo

1.4.1. Suministros

- Pipetas serológicas, Kimble Glass Inc.
- Micropipetas Wiretrol, Drummond® Scientific Company
- Frascos de muestreador automatic, Sun International
- Pipetas automáticas, Gilson

1.4.2. Equipo

- Pesas Sartorius, BP301S, Sartorius Corporation

2. MÉTODOS

2.1. Preparación de las Muestras del Ensayo de Estabilidad

2.1.1. Preparación de la solución de PVP-I (10% 100 mg/mL)

Pesar 1 g de PVP-I y disolver en 10 mL de agua.

2.1.2. Preparación de las muestras del ensayo de estabilidad

2.1.2.1 Preparación de las muestras de dexametasona sodio fosfato para ensayo de estabilidad

Una alícuota de 1 mL de solución oftálmica (USP, 0,1%) dentro de ocho frascos ámbar para HPLC para dar las siguientes muestras:

dexametasona sodio fosfato- 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 9.

Se agregó 40 µL de la solución de partida de PVP-I (10%) en las dexametasona sodio fosfato- 3, 4, 5, y 6, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

dexametasona sodio fosfato + PVP-I-3, 4, 5, y 6

Se almacenaron las muestras de dexametasona sodio fosfato + PVP-I-3 y 4 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de dexametasona sodio fosfato + PVP-I-5 y 6 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se agregaron 40 μL de agua en las muestras de dexametasona sodio fosfato-7, 8 y 9, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

Dexametasona sodio fosfato + H_2O -7, 8, y 9

Se almacenaron las muestras de dexametasona sodio fosfato + H_2O -9 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de dexametasona sodio fosfato + H_2O -7 y 8 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se usó la dexametasona sodio fosfato + PVP-I-3 y -5 y la Dexametasona sodio fosfato + H_2O -7 durante dos semanas en el ensayo de estabilidad. Se usó dexametasona sodio fosfato + PVP-I-4 y -6 y la Dexametasona sodio fosfato + H_2O -8 durante el ensayo de estabilidad de un mes. Se usó la Dexametasona sodio fosfato + H_2O -9 para preparar la referencia estándar.

Se almacenaron las muestras de dexametasona sodio fosfato-1 y 2 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente. En la semana 4, se agregaron 40 μL de PVP-I (10%, recién preparada) y se mezcló bien para dar dexametasona sodio fosfato + PVP-I-1 y 2. Las muestras resultantes se usaron como muestras de tiempo cero para el análisis HPLC.

2.1.2.2. Preparación de las muestras de Acetato de prednisolona para ensayo de estabilidad

Una alícuota de 1 mL de suspensión oftálmica (USP, 1%) dentro de ocho frascos ámbar para HPLC para dar las siguientes muestras:

Acetato de prednisolona- 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 9.

Se agregó 40 μL de la solución de partida de PVP-I (10%) en las muestras de acetato de prednisolona- 3, 4, 5, y 6, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

Acetato de prednisolona + PVP-I-3, 4, 5, y 6

Se almacenaron las muestras de acetato de prednisolona + PVP-I-3 y 4 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de acetato de prednisolona + PVP-I-5 y 6 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se agregaron 40 µL de agua en las muestras de acetato de prednisolona-7, 8 y 9, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

Acetato de prednisolona + H₂O-7, 8, y 9

Se almacenaron las muestras de Acetato de prednisolona + H₂O-9 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de Acetato de prednisolona + H₂O-7 y 8 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se usó el Acetato de prednisolona + PVP-I-3 y -5 y el Acetato de prednisolona + H₂O-7 durante dos semanas en el ensayo de estabilidad. Se usó Acetato de prednisolona + PVP-I- 4 y -6 y Acetato de prednisolona + H₂O-8 durante el ensayo de estabilidad de un mes. Se usó Acetato de prednisolona + H₂O-9 para preparar la referencia estándar.

Se almacenaron las muestras de Acetato de prednisolona -1 y 2 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente. En la semana 4, se agregaron 40 µL de PVP-I (10%, recién preparada) y se mezcló bien para dar Acetato de prednisolona + PVP-I-1 y 2. Las muestras resultantes se usaron como muestras de tiempo cero para el análisis HPLC.

2.1.2.3. Preparación de las muestras de difluprednato para ensayo de estabilidad

Una alícuota de 1 mL de emulsión oftálmica (0,05%) dentro de ocho frascos ámbar para HPLC para dar las siguientes muestras:

difluprednato - 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 9.

Se agregó 40 μL de la solución de partida de PVP-I (10%) en las muestras de difluprednato - 3, 4, 5, y 6, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

difluprednato + PVP-I-3, 4, 5, y 6

Se almacenaron las muestras de difluprednato + PVP-I-3 y 4 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de difluprednato + PVP-I-5 y 6 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se agregaron 40 μL de agua en las muestras de difluprednato -7, 8 y 9, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

difluprednato + H_2O -7, 8, y 9

Se almacenaron las muestras de difluprednato + H_2O -9 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de difluprednato + H_2O -7 y 8 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se usó el difluprednato + PVP-I-3 y -5 y el difluprednato + H_2O -7 durante dos semanas en el ensayo de estabilidad. Se usó difluprednato + PVP-I- 4 y -6 y difluprednato + H_2O -8 durante el ensayo de estabilidad de un mes. Se usó el difluprednato + H_2O -9 para preparar la referencia estándar.

Se almacenaron las muestras de difluprednato -1 y 2 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente. En la semana 4, se agregaron 40 μL de PVP-I (10%, recién preparada) y se mezcló bien para dar difluprednato + PVP-I-1 y 2. Las muestras resultantes se usaron como muestras de tiempo cero para el análisis HPLC.

2.1.2.4. Preparación de las muestras de etabonato de loteprednol para ensayo de estabilidad

Una alícuota de 1 mL de solución oftálmica (USP, 0,1%) dentro de ocho frascos ámbar para HPLC para dar las siguientes muestras:

etabonato de loteprednol - 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, y 9.

Se agregó 40 μ L de la solución de partida de PVP-I (10%) en las muestras de etabonato de loteprednol - 3, 4, 5, y 6, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

etabonato de loteprednol + PVP-I-3, 4, 5, y 6

Se almacenaron las muestras de etabonato de loteprednol + PVP-I-3 y 4 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de etabonato de loteprednol + PVP-I-5 y 6 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se agregaron 40 μ L de agua en las muestras de etabonato de loteprednol - 7, 8 y 9, y se mezcló bien para dar las siguientes muestras:

etabonato de loteprednol + H₂O-7, 8, y 9

Se almacenaron las muestras de etabonato de loteprednol + H₂O-9 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente y se almacenaron las muestras de etabonato de loteprednol + H₂O-7 y 8 en una cámara de ensayo de estabilidad a 40°C.

Se usó el etabonato de loteprednol + PVP-I-3 y -5 y el etabonato de loteprednol + H₂O-7 durante dos semanas en el ensayo de estabilidad. Se usó etabonato de loteprednol + PVP-I- 4 y -6 y etabonato de loteprednol + H₂O-8 durante el ensayo de estabilidad de un mes. Se usó etabonato de loteprednol + H₂O-9 para preparar la referencia estándar.

Se almacenaron las muestras de etabonato de loteprednol -1 y 2 en un banco de laboratorio a temperatura ambiente. En la semana 4, se agregaron 40 μ L de PVP-I (10%, recién preparada) y se mezcló bien para dar etabonato de

loteprednol + PVP-I-1 y 2. Las muestras resultantes se usaron como muestras de tiempo cero para el análisis HPLC.

2.2. Preparación de las Muestras del Ensayo de Estabilidad para el análisis HPLC/UV

2.2.1. Preparación de la solución de PVP-I para el análisis HPLC/UV

2.2.1.1 Preparación de PVP-I- 4 mg/mL.

Mezclar 40 μ L de PVP-I (10% con 1 mL de agua para dar PVP-I-4 mg/mL.

2.2.1.2 Preparación de la solución de PVP-I para ensayar la dexametasona sodio fosfato

Mezclar 100 μ L de PVP-I- 4 mg/mL con 1,9 mL de agua para dar PVP-I-200 μ L para el análisis HPLC

2.2.1.3 Preparación de la solución de PVP-I para ensayar el Acetato de prednisolona

Mezclar 100 μ L de PVP-I- 4 mg/mL con 9,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) para dar PVP-I-40 μ g/L.

Mezclar 750 μ L de PVP-I- 40 mg/L con 750 μ L de acetonitrilo:agua (1:1) para dar PVP-I-20 μ g/L para el análisis HPLC.

2.2.1.4 Preparación de la solución de PVP-I para ensayar el difluprednato

Mezclar 100 μ L de PVP-I- 4 mg/mL con 0,9 mL de metanol para dar PVP-I-400 μ g/L para el análisis HPLC.

2.2.1.5 Preparación de la solución de PVP-I para ensayar el etabonato de loteprednol

Mezclar 100 μL de PVP-I- 4 mg/mL con 9,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) para dar PVP-I-40 $\mu\text{g/L}$ para el análisis HPLC.

2.2.2 Preparación de la Dexametasona sodio fosfato para el análisis HPLC/UV

2.2.2.1 Preparación de la dexametasona sodio fosfato estándar

Mezclar 100 μL de dexametasona sodio fosfato + H_2O -9 con 1,9 mL de H_2O en un frasco HPLC para dar dexametasona sodio fosfato+ H_2O -9-50 $\mu\text{g/mL}$.

2.2.2.2 Preparación de las muestras de dexametasona sodio fosfato para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 μL de dexametasona sodio fosfato + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6 con 1,9 mL de H_2O en un frasco HPLC para dar dexametasona sodio fosfato + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6-50 $\mu\text{g/mL}$ para el análisis HPLC.

2.2.2.3 Preparación de las muestras de control de dexametasona sodio fosfato para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 μL de dexametasona sodio fosfato + H_2O - 7 u 8 con 1,9 mL de H_2O en un frasco HPLC para dar dexametasona sodio fosfato + H_2O -7 u 8-50 $\mu\text{g/mL}$ para el análisis HPLC.

2.2.3 Preparación del Acetato de prednisolona para el análisis HPLC/UV

2.2.3.1 Preparación del Acetato de prednisolona estándar

Mezclar 100 μL de Acetato de prednisolona + H_2O -9 con 9,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) para dar Acetato de prednisolona+ H_2O -9-100 $\mu\text{g/mL}$.

Mezclar 750 μL de Acetato de prednisolona + H_2O -9-100 $\mu\text{g/mL}$ con 750 μL de acetonitrilo:agua (1:1) en un frasco HPLC para dar Acetato de prednisolona+ H_2O -9-50 $\mu\text{g/mL}$ para el análisis HPLC.

2.2.3.2 Preparación de las muestras de Acetato de prednisolona para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de Acetato de prednisolona + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6 con 9,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) para dar Acetato de prednisolona + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6-100 µg/mL.

Mezclar 750 µL de Acetato de prednisolona + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6-100 µg/mL con 750 µL de acetonitrilo:agua (1:1) en un frasco HPLC para dar Acetato de prednisolona + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6-50 µg/mL para el análisis HPLC.

2.2.3.3 Preparación de las muestras de control de Acetato de prednisolona para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de Acetato de prednisolona + H₂O-7 u 8 con 9,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) para dar Acetato de prednisolona + H₂O-7 u 8-100 µg/mL.

Mezclar 750 µL de Acetato de prednisolona dada + H₂O-7 u 8-100 µg/mL con 750 µL de acetonitrilo:agua (1:1) en un frasco HPLC para dar Acetato de prednisolona + H₂O-7 u 8-50 µg/mL para el análisis HPLC.

2.2.4 Preparación del etabonato de loteprednol para el análisis HPLC/UV

2.2.4.1 Preparación del etabonato de loteprednol estándar

Mezclar 100 µL de etabonato de loteprednol + H₂O-9 con 9,9 mL de acetonitrilo:H₂O (1:1) para dar etabonato de loteprednol+H₂O-9-50 µg/mL.

2.2.4.2 Preparación de las muestras de etabonato de loteprednol para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de etabonato de loteprednol + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6 con 9,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) para dar etabonato de loteprednol + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6-50 µg/mL.

2.2.4.3 Preparación de las muestras de control de etabonato de loteprednol para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de etabonato de loteprednol + H₂O- 7 u 8 con 9,9 mL de acetonitrilo:H₂O (1:1) para dar etabonato de loteprednol + H₂O-7 u 8-50 µg/mL.

2.2.2 Preparación de la difluprednato para el análisis HPLC/UV

2.2.5.1 Preparación del difluprednato estándar

Mezclar 100 µL de difluprednato + H₂O-9 con 0,9 mL de metanol en un frasco HPLC para dar difluprednato +H₂O-9-50 µg/mL.

2.2.5.2 Preparación de las muestras de difluprednato para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de difluprednato + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6 con 0,9 mL de metanol en un frasco HPLC para dar difluprednato + PVP- 1, 2, 3, 4, 5 o 6-50 µg/mL para el análisis HPLC.

2.2.5.3 Preparación de las muestras de control de difluprednato para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de difluprednato + H₂O- 7 u 8 con 0,9 mL de metanol en un frasco HPLC para dar difluprednato + H₂O-7 u 8-50 µg/mL para el análisis HPLC.

2.3 Preparación de las Muestras del Ensayo de Estabilidad para el análisis LC-MS/MS

2.3.1 Preparación de la Dexametasona sodio fosfato para el análisis LC-MS/MS

2.3.1.1 Preparación de la dexametasona sodio fosfato estándar

Mezclar 100 μL de dexametasona sodio fosfato + H_2O -9-50 $\mu\text{g/mL}$ con 0,9 mL de H_2O en un frasco HPLC.

2.3.1.2 Preparación de las muestras de dexametasona sodio fosfato para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 μL de dexametasona sodio fosfato + PVP- 4 o 6-50 $\mu\text{g/mL}$ con 0,9 mL de H_2O en un frasco HPLC.

2.3.2 Preparación del Acetato de prednisolona para el análisis HPLC

2.3.2.1 Preparación del Acetato de prednisolona estándar

Mezclar 100 μL de Acetato de prednisolona + H_2O -9-50 $\mu\text{g/mL}$ con 0,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) en un frasco para HPLC.

2.3.2.2 Preparación de las muestras de acetato de prednisolona para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 μL de Acetato de prednisolona + PVP- 4 o 6- 50 $\mu\text{g/mL}$ con 0,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) en un frasco para HPLC.

2.3.3 Preparación del etabonato de loteprednol para el análisis HPLC

2.3.3.1 Preparación del etabonato de loteprednol estándar

Mezclar 100 μL de etabonato de loteprednol + H_2O -9- 50 $\mu\text{g/mL}$ con 0,9 mL de acetonitrilo: H_2O (1:1) en un frasco para HPLC.

2.3.3.2 Preparación de las muestras de etabonato de loteprednol para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 μL de etabonato de loteprednol + PVP- 4 o 6- 50 $\mu\text{g/mL}$ con 0,9 mL de acetonitrilo:agua (1:1) en un frasco para HPLC.

2.3.4 Preparación de la difluprednato para el análisis HPLC

2.3.4.1 Preparación del difluprednato estándar

Mezclar 100 µL de difluprednato + H₂O-9- 50 µg/mL con 0,9 mL de metanol en un frasco HPLC.

2.3.4.2 Preparación de las muestras de difluprednato para el ensayo de estabilidad

Mezclar 100 µL de difluprednato + PVP- 4 o 6- 50 µg/mL con 0,9 mL de metanol en un frasco HPLC.

2.4 Cromatografía HPLC/UV

2.4.1 HPLC Método 1 (para la dexametasona sodio fosfato)

Sistema HPLC: Sistema SHIMADZU HPLC (Bomba: LC-10ADVP;

Automuestreador: SIL-HTC)

UV: SPD-10AVvp@239 y 210nm

Columna: Waters XTerra MS C18 3,5 µm, 2,1x150mm, S/N
019435216117

Temperatura

de columna: Temperatura ambiente

Temperatura del

Automuestreador: Temperatura ambiente

Vol. De inyección: 10 µL

Fase móvil A: 0,01M NH4OAc en H2O

Fase móvil B: ACN

Gradiente:

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	A	B
Inicial	0,2	100	0
40	0,2	40	60
45	0,2	2	98
50	0.2	2	98
51	0,2	100	100
70	0,2	pare	

2.4.2 HPLC Método 2 (para el Acetato de prednisolona)

Igual al Método 1 excepto por el gradiente que fue cambiado como sigue:

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	A	B
Inicial	0,2	100	0
40	0,2	30	70
45	0,2	2	98
50	0,2	2	98
51	0,2	100	100
70	0,2	pare	

2.4.2 HPLC Método 3 (para el etabonato de loteprednol y difluprednato)

Igual al Método 1 excepto por el gradiente que fue cambiado como sigue:

Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	A	B
Inicial	0,2	100	0

40	0,2	20	80
45	0,2	2	98
50	0,2	2	98
51	0,2	100	100
70	0,2	pare	

2.4.4 Fecha de integración y cálculos

El software suministrado con el sistema HPLC (software LCSolution™, version 1.23, Instalado por SHIMADZU) fue usado para integrar el area pico.

El área pico medida fue convertida en concentraciones (µg/mL) usando la siguiente ecuación:

$$C_x = A_x \times C_s / A_s$$

En donde,

C_x = concentración (µg/mL) del analito en las muestras de estabilidad

A_x = área pico del analito en las muestras de estabilidad

C_s = concentración (µg/mL) del analito en las muestras estándar

A_s = área pico del analito en las muestras estándar

2.5 Cromatografía líquida/espectrometría de masas tandem (LC-MS/MS)

Métodos HPLC: Igual a los métodos HPLC 1, 2 y 3 de la sección 2.4.

Condiciones MS:

Espectrómetro de masa: Sistema API 3000 LC/MS/MS

Modo de ionización: ESI en modo Positivo

ESI: 5000 V

Temperatura: 350°C

Flujo de Gas nebulizador (NEB): 12 psi

Flujo de gas cortina (CUR): 12 unidades

Flujo de gas rociado turbo ion: 7000-8000 mL/min

Gas de colisión (CAD): 6 unidades

DP: 30

FP: 80

EP: 8

CXP: 10

Ion precursor, ion producto, energía de colisión, y tiempo de retención HPLC

Compuesto	Ion precursor (m/z)	Ion producto (m/z)	Energía de colisión (eV)	Tiempo de retención (min)
dexametasona	473,3	355,2	20	~21,82
fosfato	473,3	337,2	20	~21,82
	473,3	237,2	35	~21,82
Acetato de prednisolona	403,1	325,2	20	~27,62
	403,1	307,2	20	~27,62
	403,1	147,1	30	~27,62
<u>etabonato de</u> <u>loteprednol</u>	467,3	359,2	20	~33,15
	467,3	265,2	30	~33,15
	467,3	147,1	35	~33,15
difluprednato	509,3	303,2	20	~31,85
	509,3	279,2	20	~31,85

	509,3	101,1	30	~31,85
--	-------	-------	----	--------

3. RESULTADOS

3.1. Análisis LC/MS y MS/MS de cuatro formulaciones

Las cuatro formulaciones usadas en este estudio fueron analizadas por HPLC-UV y MS y MS/MS. Los cromatogramas HPLC-UV y los datos espectrales ESI-MS y MS/MS se presentaron en las figuras 1 a 4.

La presencia de cuatro esteroides en las formulaciones farmacéuticas fueron confirmados por LC/UV-MS y MS/MS. Así, las cuatro formulaciones farmacéuticas pueden ser usadas para este estudio.

3.2. Ensayo de idoneidad del sistema HPLC

Las cuatro muestras estándar en la concentración de 50 µg/mL fueron analizadas usando métodos HPLC/UV desarrollados en PharmaOn. Los datos se resumen en la Tabla III.

Como se muestra en la Tabla III, el sistema usado en este estudio era idóneo para determinar los niveles de cuatro esteroides en las muestras del ensayo de estabilidad.

3.3. Análisis HPLC/UV y LC-MS/MS de las muestras del ensayo de estabilidad

3.3.1 Dexametasona sodio fosfato

3.3.1.1 Muestra PVP-I

El PVP-I en solvente a la misma concentración de las muestras del ensayo de estabilidad de dexametasona sodio fosfato se analizó usando el Método 1 de HPLC. Los cromatogramas del HPLC/UV se ilustran en la Figura 5.

No se observó dexametasona fosfato en la muestra de PVP-I

acetato de prednisolona en las muestras del ensayo de estabilidad. Los cromatogramas de masa de iones se presentan en las figuras 24 a 26.

Después de almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0.4%), los niveles de acetato de prednisolona en muestras de dos semanas fueron solamente de 99,24% y 96,60% de aquellos encontrados en las muestras del día 0 a temperatura ambiente y a 40°C, respectivamente (Tabla V). Los datos respectivos son 95,66% y 96,79% para ensayos de un mes (Tabla V). Cromatogramas de masas de iones idénticos y las mismas respuestas de masa de iones fueron observados en las muestras estándar de referencia y las del ensayo de estabilidad de un mes. Los resultados tanto del análisis HPLC/UV y LC-MS/MS indicaron que el acetato de prednisolona era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las condiciones de ensayo presentes.

3.3.3 Etabonato de loteprednol

3.3.3.1 Muestra PVP-I

El PVP-I en solvente a la misma concentración de las muestras del ensayo de estabilidad de etabonato de loteprednol se analizó usando el Método 3 de HPLC. Los cromatogramas del HPLC/UV se ilustran en la Figura 27.

No se observó etabonato de loteprednol en la muestra de PVP-I

3.3.3.2 Muestras de estabilidad de etabonato de loteprednol

Muestras del ensayo de estabilidad del día 0, dos semanas y un mes fueron analizadas con las muestras estándar de referencia (almacenadas a temperatura ambiente en ausencia de PVP-I) usando el método 3 de HPLC. La muestra con ausencia de PVP-I con la misma concentración de etabonato de loteprednol que la de las muestras de estabilidad en la presencia de PVP-I fue almacenada en la misma cámara de estabilidad a 40°C durante dos semanas y un mes como muestras de control. Las muestras de control fueron analizadas

bajo las mismas condiciones. Las concentraciones de etabonato de loteprednol en las muestras de estabilidad fueron calculadas. Los datos se resumen en la Tabla VI. Los cromatogramas para HPLC/UV de todas las muestras estándar de referencia y las muestras del ensayo de estabilidad se ilustran en las Figuras 28 a 33.

Las muestras del ensayo de estabilidad de un mes fueron analizadas junto con las muestras estándar de referencia usando el método LC-MS/MS en el modo MRM con tres transiciones características de ion para confirmar la identidad del etabonato de loteprednol en las muestras del ensayo de estabilidad. Los cromatogramas de masa de iones se presentan en las figuras 34 a 36.

Después de almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0.4%), los niveles de etabonato de loteprednol en muestras de ensayo de dos semanas fueron de 101,43% y 100,07% de aquellos encontrados en las muestras del día 0 a temperatura ambiente y a 40°C, respectivamente (Tabla VI). Los datos respectivos son 100,72% y 96,02% para ensayos de un mes (Tabla VI). Cromatogramas de masas de iones idénticos y las mismas respuestas de masa de iones fueron observados en las muestras estándar de referencia y las del ensayo de estabilidad de un mes. Los resultados tanto del análisis HPLC/UV y LC-MS/MS indicaron que el etabonato de loteprednol era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las condiciones de ensayo presentes.

3.3.4 Difluprednato

3.3.3.1 Muestra PVP-I

El PVP-I en solvente a la misma concentración de las muestras del ensayo de estabilidad de difluprednato se analizó usando el Método 3 de HPLC. Los cromatogramas del HPLC/UV se ilustran en la Figura 37.

No se observó difluprednato en la muestra de PVP-I

TABLAS

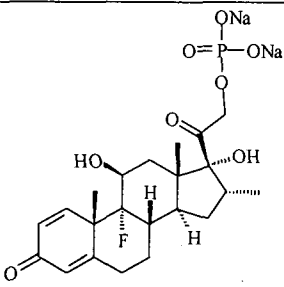
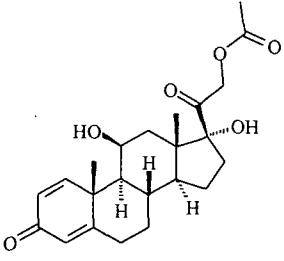
Tabla 1

Cuatro formulaciones farmacéuticas

Nombre de los esteroides	Formulación/producto	Fabricante/vendedor	Lote No.
dexametasona sodio fosfato	Solución oftálmica USP, 0,1%	Alcon Laboratories	153643F
acetato de prednisolona	Suspensión oftálmica USP, 1%	Alcon Laboratories	148757F
etabonato de loteprednol	Suspensión oftálmica, 0,5%	Baush & Lomb	437291
difluprednato	Emulsión oftálmica, 0,05%	Sirion Therapeutics	SIR9F001

Tabla II

Cuatro esteroides

Nombre	Estructura	Peso Molecular	Rt (min)
dexametasona sodio fosfato		516.41	~21.13
acetato de prednisolona		402.49	~26.51

3.3.4.2 Muestras de estabilidad de difluprednato

Muestras del ensayo de estabilidad del día 0, dos semanas y un mes fueron analizadas con las muestras estándar de referencia (almacenadas a temperatura ambiente en ausencia de PVP-I) usando el método 3 de HPLC. La muestra con ausencia de PVP-I con la misma concentración de difluprednato que la de las de las muestras de estabilidad en la presencia de PVP-I fue almacenada en la misma cámara de estabilidad a 40°C durante dos semanas y un mes como muestras de control. Las muestras de control fueron analizadas bajo las mismas condiciones. Las concentraciones de difluprednato en las muestras de estabilidad fueron calculadas. Los datos se resumen en la Tabla VII. Los cromatogramas para HPLC/UV de todas las muestras estándar de referencia y las muestras del ensayo de estabilidad se ilustran en las Figuras 38 a 43.

Las muestras del ensayo de estabilidad de un mes fueron analizadas junto con las muestras estándar de referencia usando el método LC-MS/MS en el modo MRM con tres transiciones características de ion para confirmar la identidad del difluprednato en las muestras del ensayo de estabilidad. Los cromatogramas de masa de iones se presentan en las figuras 44 a 46.

Después de almacenamiento a temperatura ambiente y a 40°C en la presencia de PVP-I (0.4%), los niveles de difluprednato en muestras de ensayo de dos semanas fueron de 103,23% y 99,30% de aquellos encontrados en las muestras del día 0 a temperatura ambiente y a 40°C, respectivamente (Tabla VII). Los datos respectivos son 104,47% y 100,24% para ensayos de un mes (Tabla VII). Cromatogramas de masas de iones idénticos y las mismas respuestas de masa de iones fueron observados en las muestras estándar de referencia y las del ensayo de estabilidad de un mes. Los resultados tanto del análisis HPLC/UV y LC-MS/MS indicaron que el difluprednato era estable en la presencia de PVP-I (0,4%) bajo las condiciones de ensayo presentes.

DE		0.066	34088
CV (%)		0.25	0.65
etabonato de loteprednol			
Replicado	Corrida HPLC No.	Rt (min)	Area del Pico
1	09701005_017	32.19	4352552
2	09701005_018	32.27	4272956
3	09701005_019	32.11	4368753
4	09701005_020	32.11	4281766
5	09701005_021	32.08	4292832
Media		32.15	4313772
DE		0.078	43748
CV (%)		0.24	1.01
Difluprednato			
Replicado	Corrida HPLC No.	Rt (min)	Area del Pico
1	09701005_007	31.02	4746034
2	09701005_008	31.02	4715228
3	09701005_009	31.04	4761819
4	09701005_010	31.06	4715455
5	09701005_011	31.07	4728211
Media		31.04	4733349
DE		0.023	20288
CV (%)		0.07	0.43

60

Table IV

Reumen de los datos Analíticos del Ensayo de Estabilidad de la dexametasona Sodio fosfato en PVP-I (0.4 %)

Muestras	Corrida HPLC No.	Rt (min)	Area del Pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Calc. Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Día 0
Día 0									
Std1	09701006_002	20.96	4964292						
Std2	09701006_003	21.23	4873676						
Media			4918984	50	—	20	1.0000	—	—
Temp Amb. 1	09701006_004	21.17	5084959		51.69	20	1.0337	103.37	—
Temp Amb. 2	09701006_005	21.20	5093624		51.78	20	1.0355	103.55	—
Media			5089292		51.73	20	1.0346	103.46	—
2 Semanas									
Std1	09701004_001	23.91	5019426						
Std2	09701004_002	23.07	5004047						
Media			5011737	50	—	20	1.0000	—	—
Temp. Amb.	09701004_003	23.08	4305845		42.96	20	0.8592	85.92	83.04
40 °C	09701004_004	23.08	4385137		43.75	20	0.8750	87.50	84.57
Un mes									
Std1	09701007_023	20.99	4845855						
Std2	09701007_024	21.03	4810095						
Media			4827975	50	—	20	1.0000	—	—
Temp. Amb.	09701007_025	21.06	4207982		43.58	20	0.8716	87.16	84.24
40 °C	09701007_026	21.08	4216932		43.67	20	0.8734	87.34	84.42
40 °C	09701007_027	21.07	4184100		43.33	20	0.8666	86.66	83.76
Media			4200516		43.50	20	0.8700	87.00	84.09
40 °C Control ^e	09701007_028	21.11	4471624		46.31	20	0.9262	92.62	92.62

^a : Concentración nominal en muestras HPLC; ^b : Concentración en muestras HPLC; ^c : Factor de dilución; ^d : Concentración en muestras de estabilidad; ^e : Almacenados a 40 °C sin PVP-I.

Table V

Reumen de los datos Analíticos del Ensayo de Estabilidad del acetato de prednisolona en PVP-I (0.4 %)

Muestras	Corrida HPLC No.	Rt (min)	Area del Pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Calc. Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Día 0
Día 0									
Std1	09701006_010	26.74	5112497						
Std2	09701006_011	26.75	5081143						
Media			5096820	50	—	200	10.000	—	—
Temp. Amb. 1	09701006_012	26.76	5342803		52.41	200	10.483	104.83	—
Temp. Amb. 1	09701006_013	26.77	5323574		52.22	200	10.445	104.45	—
Media			5333189		52.32	20	10.464	104.64	—
2 Semanas									
Std1	09701004_012	27.70	5305927						
Std2	09701004_013	27.73	5317386						
Media			5311657	50	—	200	10.000	—	—
Temp. Amb.	09701004_014	27.74	5515685		51.92	200	10.384	103.84	99.24
40 °C	09701004_015	27.71	5369264		50.54	200	10.108	101.08	96.60
40 °C Control ^e	09701004_016	27.61	5351149		50.37	200	10.074	100.74	100.74
Un mes									
Std1	09701007_012	26.78	5181293						
Std2	09701007_013	26.79	5127543						
Media			5154418	50	—	200	10.000	—	—
Temp. Amb.	09701007_014	26.81	5159554		50.05	200	10.010	100.10	95.66
40 °C	09701007_015	26.78	5220242		50.64	200	10.128	101.28	96.79
40 °C Control ^e	09701007_016	26.80	5169543		50.15	200	10.029	100.29	100.29

^a : Concentración nominal en muestras HPLC; ^b :Concentración en muestras HPLC; ^c : Factor de dilución; ^d : Concentración en muestras de estabilidad; ^e :Almacenados a 40 °C sin PVP-I.

Table VI

Resumen de los datos Analíticos del Ensayo de Estabilidad del acetato de etabonato de loteprednol en PVP-I (0.4 %)

Muestras	Corrida HPLC No.	Rt (min)	Area del Pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Calc. Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Día 0
Día 0									
Std1	09701006_014	32.41	4172610						
Std2	09701006_015	32.41	4193226						
Media			4182918	50	—	100	5.0000	—	—
Temp. Amb. 1	09701006_016	32.45	4224688		50.50	100	5.0499	101.00	—
Temp. Amb. 1	09701006_017	32.27	4180845		49.98	100	4.9975	99.95	—
Media	09701006_017	32.27	4202767		50.24	20	5.0237	100.48	—
2 Semanas									
Std1	09701004_017	32.87	4460467						
Std2	09701004_018	33.02	4431159						
Media			4445813	50	—	100	5.0000	—	—
Temp. Amb.	09701004_019	33.03	4530572		50.95	100	5.0953	101.91	101.43
40 °C	09701004_020	32.99	4470012		50.27	100	5.0272	100.54	100.07
40 °C Control ^e	09701004_021	32.98	4521010		50.85	100	5.0846	101.69	101.69
Un mes									
Std1	09701007_017	32.45	4074874						
Std2	09701007_018	32.30	4068504						
Media			4071689	50	—	100	5.0000	—	—
Temp. Amb.	09701007_019	32.34	4120353		50.60	100	5.0598	101.20	100.72
40 °C	09701007_020	32.48	3928248		48.24	100	4.8239	96.48	96.02
40 °C Control ^e	09701007_021	32.46	3975565		48.82	100	4.8820	97.64	97.64

^a : Concentración nominal en muestras HPLC; ^b :Concentración en muestras HPLC; ^c : Factor de dilución; ^d : Concentración en muestras de estabilidad; ^e :Almacenados a 40 °C sin PVP-I.

Table VII

Resumen de los datos Analíticos del Ensayo de Estabilidad del acetato de prednisolona en PVP-I (0.4 %)

Muestras	Corrida HPLC No.	Rt (min)	Area del Pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Calc. Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Día 0
Día 0									
Std1	09701006_006	31.17	4647615						
Std2	09701006_007	31.10	4757011						
Media			4702313	50	—	10	0.5000	—	—
Temp. Amb. 1	09701006_008	31.17	4503933		47.89	10	0.4789	95.78	—
Temp. Amb. 1	09701006_009	31.16	4548076		48.36	10	0.4836	96.72	—
Media	09701006_009	31.16	4526005		48.13	20	0.4813	96.25	—
2 Semanas									
Std1	09701004_007	31.76	4849758						
Std2	09701004_008	31.76	4871971						
Media			4860865	50	—	10	0.5000	—	—
Temp. Amb.	09701004_009	31.75	4829559		49.68	10	0.4968	99.36	103.23
40 °C	09701004_010	31.74	4645691		47.79	10	0.4779	95.57	99.30
40 °C Control ^e	09701004_011	31.85	4350242		44.75	10	0.4475	89.50	89.50
Un mes									
Std1	09701007_007	31.26	4519656						
Std2	09701007_008	31.21	4538123						
Media			4528890	50	—	10	0.5000	—	—
Temp. Amb.	09701007_009	31.20	4554140		50.28	10	0.5028	100.56	104.47
40 °C	09701007_010	31.21	4369678		48.24	10	0.4824	96.48	100.24
40 °C Control ^e	09701007_011	31.24	4432171		48.93	10	0.4893	97.86	97.86

^a : Concentración nominal en muestras HPLC; ^b : Concentración en muestras HPLC; ^c : Factor de dilución; ^d : Concentración en muestras de estabilidad; ^e : Almacenados a 40 °C sin PVP-I.

Ejemplo 2: Ensayo de estabilidad para Esteroides y NSAID Combinados con Povidona yodada al 0,6%

Los esteroides y los NSAID fueron mezclados con PVP-I a una concentración de 0,6% p/p en el Día 1. Las mezclas resultantes fueron divididas en frascos de vidrio y almacenadas a temperatura ambiente. Fluorometalona alcohol, medrisona, prednisona sodio fosfato, rimexolona, hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, lodoxamida trometamina, nepafenaco, bromfenaco y cetorolac. Los puntos de tiempo del ensayo incluyeron el Día 0 (Tiempo cero), y semana 4. Los ensayos fueron conducidos a temperatura ambiente. Las muestras de ensayo fueron analizadas usando métodos de cromatografía líquida y espectrometría de masas tándem (LC/MS/MS) en el día 0, y la Semana 4. Los esteroides y NSAID estándar también fueron analizados y se determinaron los niveles de los esteroides y NSAID en las muestras de ensayo.

Las muestras de rimexolona, acetato de hidrocortisona, lodoxamida, y bromfenaco mostraron ser estables. El nepafenaco en general fue estable, pero a un grado menor. La Prednisolona sodio fosfato fue estable a un grado menor que el nepafenaco. En una modalidad, un resultado en donde se observó una reducción en la concentración de cerca del 10% o mayor de un compuesto de interés, es una indicación de que el compuesto no es estable. En una modalidad, un resultado en donde se observa una reducción en la concentración de un compuesto de interés, pero se observa menos de cerca del 10% en la reducción de la concentración de un compuesto de interés, es una indicación de que el compuesto es semiestable. En una modalidad, un resultado en donde sustancialmente no se observa ninguna reducción en la concentración de un compuesto de interés, es una indicación de que el compuesto es estable.

La Tabla VIII ilustra el resumen de los datos analíticos del ensayo de estabilidad del bromfenaco en PVP-I al 0,6% a temperatura ambiente. La Tabla IX ilustra el resumen de los datos analíticos del ensayo de estabilidad del acetato de

hidrocortisona en PVP-I al 0,6% a temperatura ambiente. La Tabla X ilustra el resumen de los datos analíticos del ensayo de estabilidad de la rimexolona en PVP-I al 0,6% a temperatura ambiente. La Tabla XI ilustra el resumen de los datos analíticos del ensayo de estabilidad de la prednisona sodio fosfato en PVP-I al 0,6% a temperatura ambiente. La Tabla XII ilustra el resumen de los datos analíticos del ensayo de estabilidad del nepafenaco en PVP-I al 0,6% a temperatura ambiente. La Tabla XIII ilustra el resumen de los datos analíticos del ensayo de estabilidad de la fluorometalona en PVP-I al 0,6% a temperatura ambiente. Para las Tablas VIII-XIII, a: Concentración nominal en muestras HPLC; b: concentración calculada en muestras HPLC; c: Factor de dilución; d: Concentración calculada en muestras de estabilidad; e: 50 µL de H₂O enriquecida y almacenada a temperatura ambiente sin PVP-I.

Tabla VIII: Ensayo del Bromfenaco

Muestras	Rt (min)	Area del pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Conc. Nominal (µg/mL) ^b	DF ^c	Conc. Nominal (µg/mL) ^d	% de la estándar	% del Día 0
Estándar 1	24,925	11390037	90	-	10	900	-	-
Estándar 2	25,034	11288449	90	-	10	900	-	-
Media	24,980	11339243	90	-	10	900	-	-
Día 0								
Replicado 1	24,900	11310534	90	89,77	10	897,7	99,74	-
Replicado 2	24,889	11107933	90	88,16	10	881,6	97,96	-
Media	24,895	11209234	90	88,97	10	889,7	98,86	-
Cuatro Semanas								
Replicado 1	24,960	11211003	90	88,98	10	889,8	98,87	100,01
Replicado	24,963	11066657	90	87,84	10	878,4	97,6	98,73

2								
Media	24,962	11138830	90	88,41	10	884,1	98,23	99,37
Control ^e	24,978	11342445	90	90,03	10	900,3	100,03	101,19

Tabla IX: Ensayo del acetato de hidroclorona

Muestras	Rt (min)	Area del pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Conc. Nominal (µg/mL) ^b	DF ^c	Conc. Nominal (µg/mL) ^d	% de la estándar	% del Día 0
Estándar 1	29,087	9578995	100	-	50	5000	-	-
Estándar 2	29,215	9456921	100	-	50	5000	-	-
Media	29,151	9517958	100	-	50	5000	-	-
Día 0								
Replicado 1	29,067	9672596	100	101,62	50	5081	101,62	-
Replicado 2	24,889	11107933	100	99,52	50	4976	99,52	-
Media	24,895	11209234	100	100,57	50	5029	100,57	-
Cuatro Semanas								
Replicado 1	29,125	9627042	100	101,15	50	5058	101,15	100,58
Replicado 2	29,127	9699896	100	101,91	50	5096	101,91	101,33
Media	29,126	9663469	100	101,53	50	5077	101,53	100,95
Control ^e	29,178	9676282	100	101,66	50	5083	101,66	101,08

Tabla X: Ensayo del Rimexolona

Muestras	Rt (min)	Area del pico	Conc. Nominal	Conc. Nominal	DF ^c	Conc. Nominal	% de la estándar	% del Día 0
----------	-------------	------------------	------------------	------------------	-----------------	------------------	---------------------	----------------

			(µg/mL) ^a	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Estándar 1	39.98	3399891	100	—	100	10,000	-	-
Estándar 2	39.961	3404392	100	—	100	10,000	-	-
Media	39.971	3402142	100	—	100	10,000	-	-
Día 0								
Replicado 1	40.004	3362494	100	98.83	100	9883	98.83	-
Replicado 2	40.018	3418997	100	100.5	100	10050	100.5	-
Media	40.011	3390746	100	99.67	100	9967	99.67	-
Cuatro Semanas								
Replicado 1	40.035	3398853	100	99.9	100	9990	99.9	100.23
Replicado 2	39.948	3375059	100	99.2	100	9920	99.2	99.53
Media	39.992	3386956	100	99.55	100	9955	99.55	99.88
Control ^e	20.117	3303121	100	97.09	100	9709	97.09	97.41

Tabla XI: Ensayo de la prednisona sodio fosfato

Muestras	Rt (min)	Area del pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Conc. Nominal (µg/mL) ^b	DF ^c	Conc. Nominal (µg/mL) ^d	% de la estándar	% del Día 0
Estándar 1	26.61	8422981	100	—	50	5000	-	-
Estándar 2	26.748	8470831	100	—	50	5000	-	-
Media	26.679	8446906	100	—	50	5000	-	-
Día 0								
Replicado 1	26.843	8272276	100	97.93	50	4897	97.93	-
Replicado 2	26.717	8243394	100	97.59	50	4880	97.59	-

Media	26.780	8257835	100	97.76	50	4888	97.76	-
Cuatro Semanas								
Replicado 1	26.608	7853275	100	92.97	50	4649	92.97	95.1
Replicado 2	26.738	7946048	100	94.07	50	4704	94.07	96.23
Media	26.673	7899661.5	100	93.52	50	4676	93.52	95.66
Control ^e	26.477	8495335	100	100.57	50	5029	100.57	102.87

Tabla XII: Ensayo del Nepafenaco (270 nm)

Muestras	Rt (min)	Area del pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Conc. Nominal (µg/mL) ^b	DF ^c	Conc. Nominal (µg/mL) ^d	% de la estándar	% del Día 0
Estándar 1	34.589	727	50	—	100	5,000	-	-
Estándar 2	34.580	729	50	—	100	5,000	-	-
Media	34.585	728	50	—	100	5,000	-	-
Día 0								
Replicado 1	34.568	715	50	49.11	100	4911	98.22	-
Replicado 2	34.548	722	50	49.59	100	4959	99.18	-
Media	34.558	719	50	49.35	100	4935	98.7	-
Cuatro Semanas								
Replicado 1	34.538	703	50	48.28	100	4828	96.56	97.83
Replicado 2	34.577	694	50	47.66	100	4766	95.32	96.58
Media	34.558	698.5	50	47.97	100	4797	95.94	97.2
Control ^e	34.570	719	50	49.38	100	4938	98.76	100.06

Tabla XIII: Ensayo del Fluorometolona

Muestras	Rt (min)	Area del pico	Conc. Nominal (µg/mL) ^a	Conc. Nominal (µg/mL) ^b	DF ^c	Conc. Nominal (µg/mL) ^d	% de la estándar	% del Día 0
Estándar 1	38.664	1872	50	—	20	1,000	-	-
Estándar 2	38.614	1877	50	—	20	1,000	-	-
Media	38.639	1875	50	—	20	1,000	-	-
Día 0								
Replicado 1	38.648	1901	50	50.71	20	1014	101.42	-
Replicado 2	38.646	1896	50	50.57	20	1011	101.14	-
Media	38.647	1899	50	50.64	20	1013	101.28	-
Cuatro Semanas								
Replicado 1	38.611	1861	50	49.64	20	993	99.28	98.03
Replicado 2	38.613	1877	50	50.07	20	1001	100.14	98.87
Media	38.612	1869	50	49.85	20	997	99.7	98.44
Control ^e	38.602	1860	50	49.61	20	992	99.22	97.97

Debe entenderse que al menos algunas de las descripciones de la invención han sido simplificadas para enfocarse en los elementos que son relevantes para un claro entendimiento de la invención, mientras que se han eliminado, para propósitos de claridad, otros elementos que aquellos versados en la técnica podrán apreciar que también pueden comprender una porción de la invención. Sin embargo, debido a que esos elementos son bien conocidos en la técnica, y debido a que no necesariamente facilitan un mejor entendimiento de la invención, no se suministra una descripción de tales elementos.

Además, al grado en que el método no se basa en el orden particular de etapas establecido en la presente, el orden particular de las etapas no debe ser interpretado como limitación en las reivindicaciones. Las reivindicaciones dirigidas al método de la presente invención no deben limitarse al desempeño de sus etapas en el orden escrito, y una persona versada en la materia puede fácilmente apreciar que las etapas pueden variar y todavía permanecer dentro del espíritu y alcance de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Una composición oftálmica adecuada para ser administrada tópicamente a un ojo, efectiva para el tratamiento y/o profilaxis de una infección causada por microorganismos o un desorden de al menos un tejido del ojo, comprende
 - a) povidona yodada en una concentración entre 0,01% y 10%, y
 - b) un esteroide seleccionado del grupo que consiste de acetato de prednisolona, etabonato de loteprednol, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos.
2. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicha povidona yodada está entre 0,1% y 2,5% en peso.
3. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicha povidona yodada está entre 0,5% y 2% en peso.
4. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde un peso total de dicha povidona yodada y dicho esteroide está entre 0,1% y 4,5% en dicha solución.
5. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicho esteroide se encuentra en una concentración entre 0,01% y 2%.
6. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicho esteroide se encuentra en una concentración entre 0,05% y 1%.
7. Una composición farmacéutica comprende:
 - a) povidona yodada en una concentración entre 0,01% y 10%, y
 - b) un esteroide seleccionado del grupo que consiste de acetato de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos;

En donde dicho esteroide está en una concentración entre 0,05% y 1%.
8. La composición según la reivindicación 7 en donde la PVP-I está en una concentración de cerca de 0,4%.

9. La composición según la reivindicación 7 en donde dicho esteroide se encuentra en una concentración seleccionada del grupo que consiste de cerca de 0,1%, cerca de 0,05% y cerca de 0,005%.
10. La composición oftálmica según la reivindicación 1 caracterizada porque además comprende un anestésico tópico el cual alivia el dolor.
11. La composición oftálmica según la reivindicación 10 en donde dicho anestésico tópico se selecciona del grupo que consiste de proparacaina, lidocaína, tetracaina y combinaciones de estos.
12. La composición oftálmica según la reivindicación 1 caracterizada porque además comprende un promotor de penetración el cual mejora la penetración de la povidona yodada dentro de los tejidos del ojo.
13. La composición oftálmica según la reivindicación 12 en donde dicho promotor de la penetración es un anestésico tópico.
14. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicha composición comprende además un preservativo antimicrobiano.
15. La composición oftálmica según la reivindicación 14 en donde dicho preservativo antimicrobiano se selecciona del grupo que consiste de cloruro de benzalconio, timerosal, clorobutanol, metil parabeno, propil parabeno, feniletil alcohol, EDTA, ácido sórbico, Onamer M y combinaciones de estos.
16. La composición oftálmica según la reivindicación 14 en donde dicho preservativo antimicrobiano está en una concentración de cerca de 0,001% a 1,0% en peso en dicha solución.
17. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicha composición comprende además un co-solvente/tensoactivo.
18. La composición oftálmica según la reivindicación 17 en donde dicho co-solvente/tensoactivos se selecciona del grupo que consiste de polisorbato 20, polisorbato 60, polisorbato 80, Pluronic F-68, Pluronic F-84, Pluronic P-103, ciclodextrina, tiloxapol, o una combinación de estos.

19. La composición oftálmica según la reivindicación 17 en donde dicho co-solvente/tensoactivos se encuentra en una concentración entre cerca de 0,01% a 2% en peso en dicha composición.
20. La composición oftálmica según la reivindicación 1 en donde dicha composición comprende además un agente que incrementa la viscosidad.
21. La composición oftálmica según la reivindicación 20 en donde dicho agente que incrementa la viscosidad se selecciona del grupo que consiste de alcohol de polivinilo, polivinil pirrolidona, metil celulosa, hidroxipropil metil celulosa, carboximetil celulosa, hidroxipropil celulosa, y una combinación de estos.
22. La composición oftálmica según la reivindicación 20 en donde dicho agente que incrementa la viscosidad está en una concentración entre cerca de 0,01% a 2% en peso en dicha solución.
23. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicha composición está en la forma de una solución, suspensión, emulsión, ungüento, crema, gel, o un vehículo de liberación controlada/liberación sostenida.
24. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicho microorganismo se selecciona del grupo que consiste de bacterias, virus, hongos, y amebas.
25. La composición oftálmica según la reivindicación 24 en donde dicha bacteria es micobacteria.
26. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicho desorden del ojo se selecciona del grupo que consiste de una infección por microorganismos en al menos un tejido del ojo, conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal y queratitis relacionada con el virus del herpes.

27. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicha profilaxis es la profilaxis de la infección después de la abrasión ocular o cirugía ocular.

28. La composición oftálmica según la reivindicación 1, que comprende:

0,3% a 1% (p/p) de complejo polivinilpirrolidiona-yodo;

0,05% a 2% (p/p) de esteroide;

0,005% a 0.02% (p/p) de EDTA;

0,01 a 0,5% (p/p) de cloruro de sodio;

0,02 a 0,1% (p/p) tiloxapol;

0,5% a 2% (p/p) de sulfato de sodio; y

0,1 a 0,5% (p/p) de hidroxietilcelulosa.

En donde el esteroide se selecciona del grupo que consiste de acetato de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos.

29. La composición oftálmica según la reivindicación 1, comprende:

0,4% (p/p) de complejo polivinilpirrolidiona-yodo;

0,1% (p/p) de esteroide;

0,01% (p/p) de EDTA;

0,3% (p/p) de sal de cloruro de sodio;

0,05% (p/p) tiloxapol;

0,2% (p/p) de sulfato de sodio; y

0,25% (p/p) de hidroxietilcelulosa.

En donde el esteroide se selecciona del grupo que consiste de acetato de prednisolona, loteprednol, etabonato, difluprednato, acetato de hidrocortisona, y combinaciones de estos.

30. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicha composición retiene el 95% de su polivinilpirrolidinona yodada y 95% de su esteroide después de un periodo de 1 mes.
31. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicha composición oftálmica retiene el 90% de su polivinilpirrolidinona yodada y 90% de su esteroide después de un periodo de 3 mes.
32. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicha composición oftálmica retiene el 90% de su polivinilpirrolidinona yodada y 90% de su esteroide después de un periodo de 1 mes.
33. La composición oftálmica según la reivindicación 1, en donde dicha composición es una solución acuosa.
34. Un método para tratar y/o efectuar la profilaxis de un desorden del ojo o de una infección causada por microorganismos de al menos un tejido del ojo, que comprende la etapa de administrar una o más dosis de una composición oftálmica de la reivindicación 1 a dicho ojo.
35. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde dicha profilaxis es la profilaxis de la infección después de la abrasión ocular o cirugía ocular.
36. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde dicho desorden del ojo se selecciona del grupo que consiste de una infección por microorganismos en al menos un tejido del ojo, conjuntivitis, abrasión corneal, queratitis infecciosa ulcerativa, queratitis epitelial, queratitis estromal y queratitis relacionada con el virus del herpes.
37. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde dicho microorganismo se selecciona del grupo que consiste de bacterias, virus, hongos, y amebas.
38. El método de acuerdo con la reivindicación 37 en donde dicha bacteria es micobacteria.
39. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde la suma de dicha povidona yodada y dicho esteroide está entre 0,001 mg a 5 mg por dosis.

40. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde cada dosis está entre 10 microlitros a 200 microlitros.
41. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde cada dosis está entre 50 microlitros a 80 microlitros.
42. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde dicha administración comprende administrar dicha solución a dicho ojo entre una a cuatro veces por día.
43. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde dicha administración comprende administrar dicha solución a dicho ojo entre una a veinticuatro veces por día.
44. El método de acuerdo con la reivindicación 34 caracterizado porque comprende además la etapa de almacenar la composición durante al menos un mes, al menos tres meses, al menos seis meses, o al menos un año antes de dicha etapa de administrar.
1. Una composición oftálmica adecuada para ser administrada tópicamente a un ojo, efectiva para el tratamiento y/o profilaxis de una infección causada por microorganismos o un desorden de al menos un tejido del ojo, comprende
- a) povidona yodada en una concentración entre 0,01% y 10%, y
 - b) bromfenaco.
46. La composición oftálmica según la reivindicación 45, comprende: 0,3% a 1% (p/p) de complejo polivinilpirrolidinona-yodo;
- 0,05% a 2% (p/p) de bromfenaco;
- 0,005% a 0.02% (p/p) de EDTA;
- 0,01 a 0,5% (p/p) de cloruro de sodio;
- 0,02 a 0,1% (p/p) tiloxapol;
- 0,5% a 2% (p/p) de sulfato de sodio; y

0,1 a 0,5% (p/p) de hidroxietilcelulosa.

RESUMEN

Se describen aquí composiciones estables que comprenden povidona yodada y un esteroide, y también métodos de hacer y usar tales composiciones. También se describen aquí composiciones estables que comprenden povidona yodada y un NSAID, y métodos para hacer y usar tales composiciones.

Datos Espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del Fosfato de Dexametasona

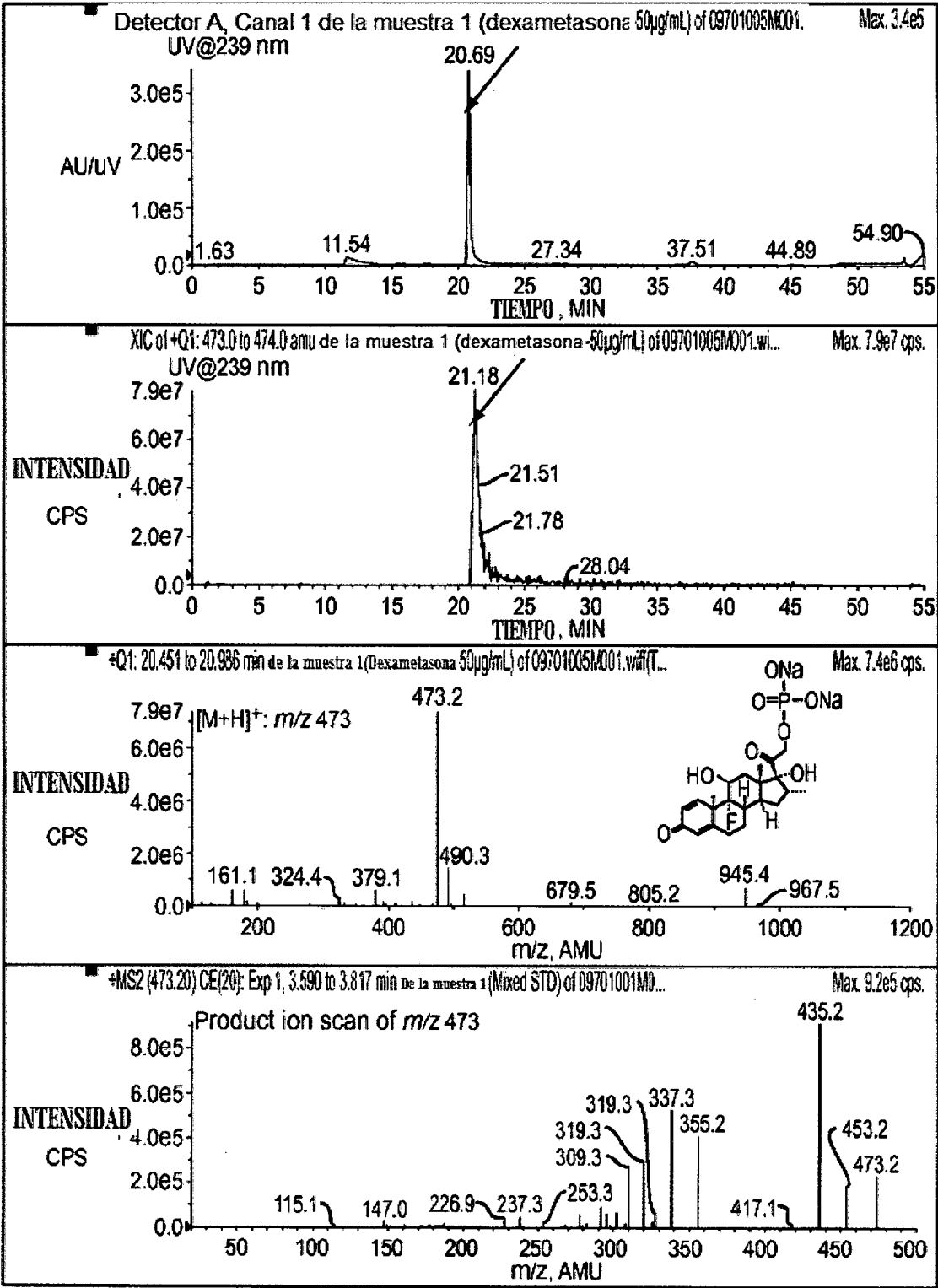


FIG. 1

Datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del acetato de prednisolona

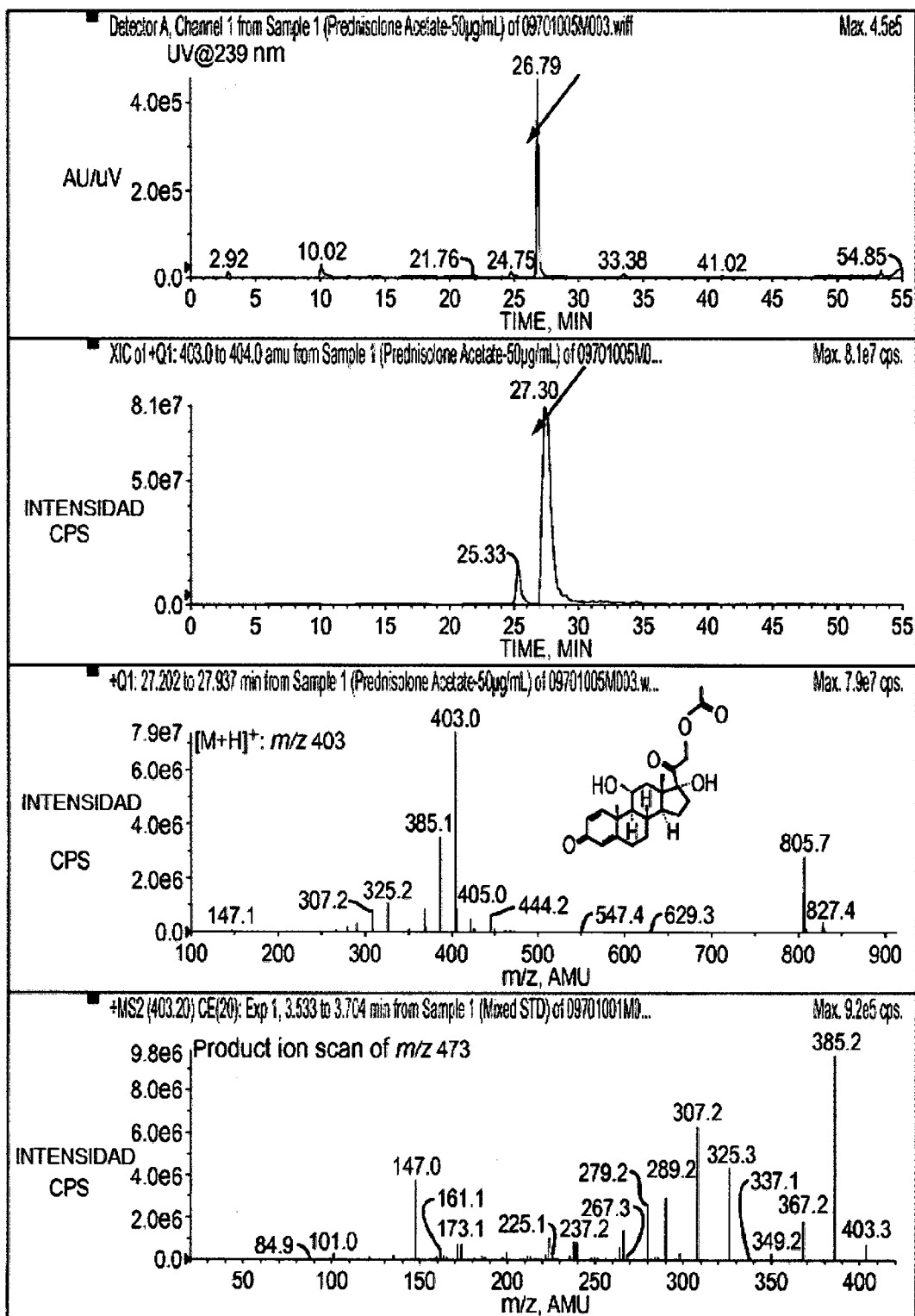


FIG. 2

datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del etabonato de loteprednol

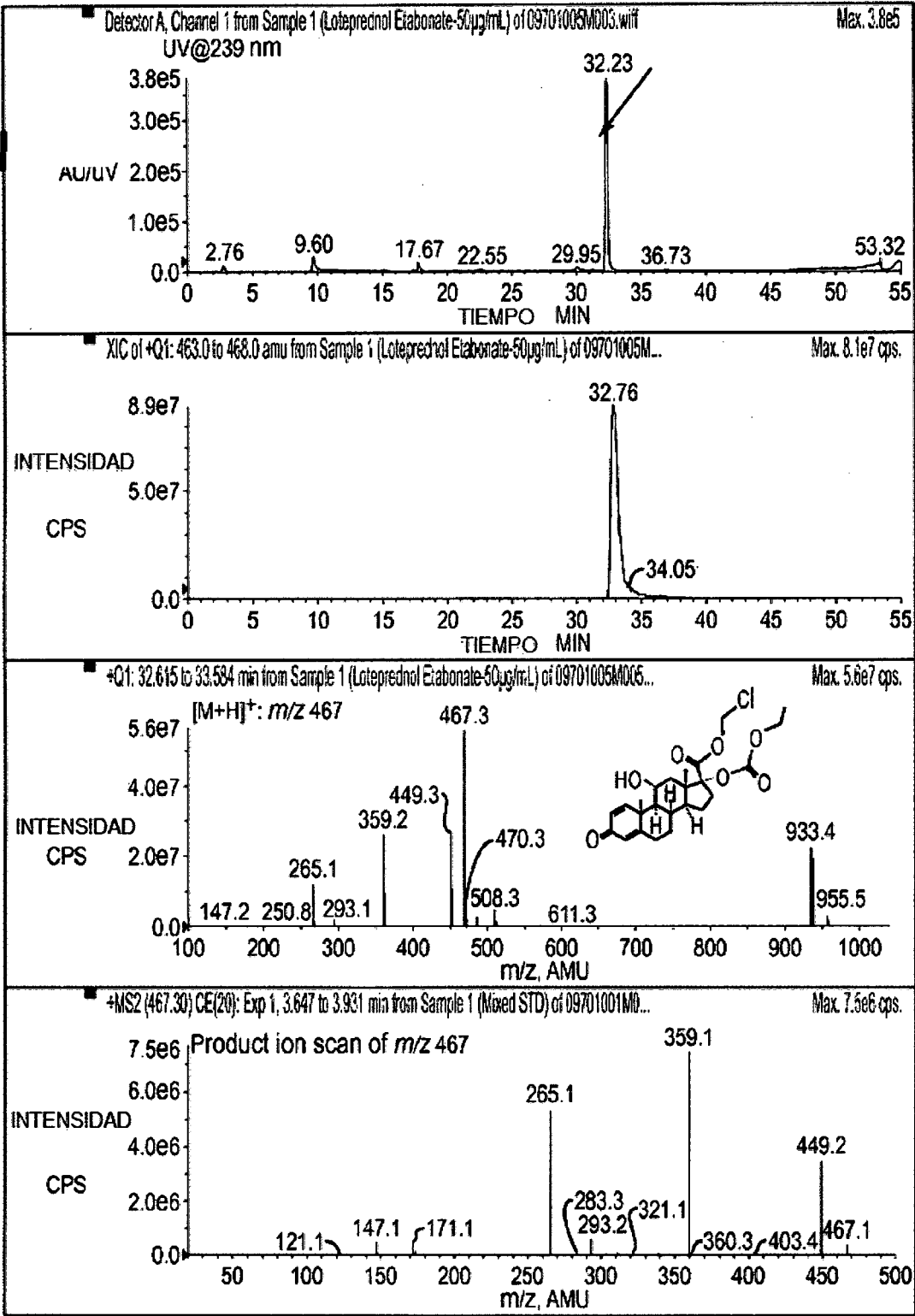


FIG. 3

Datos espectrales HPLC-UV/(+)ESI-MS y MS/MS del difluprednato

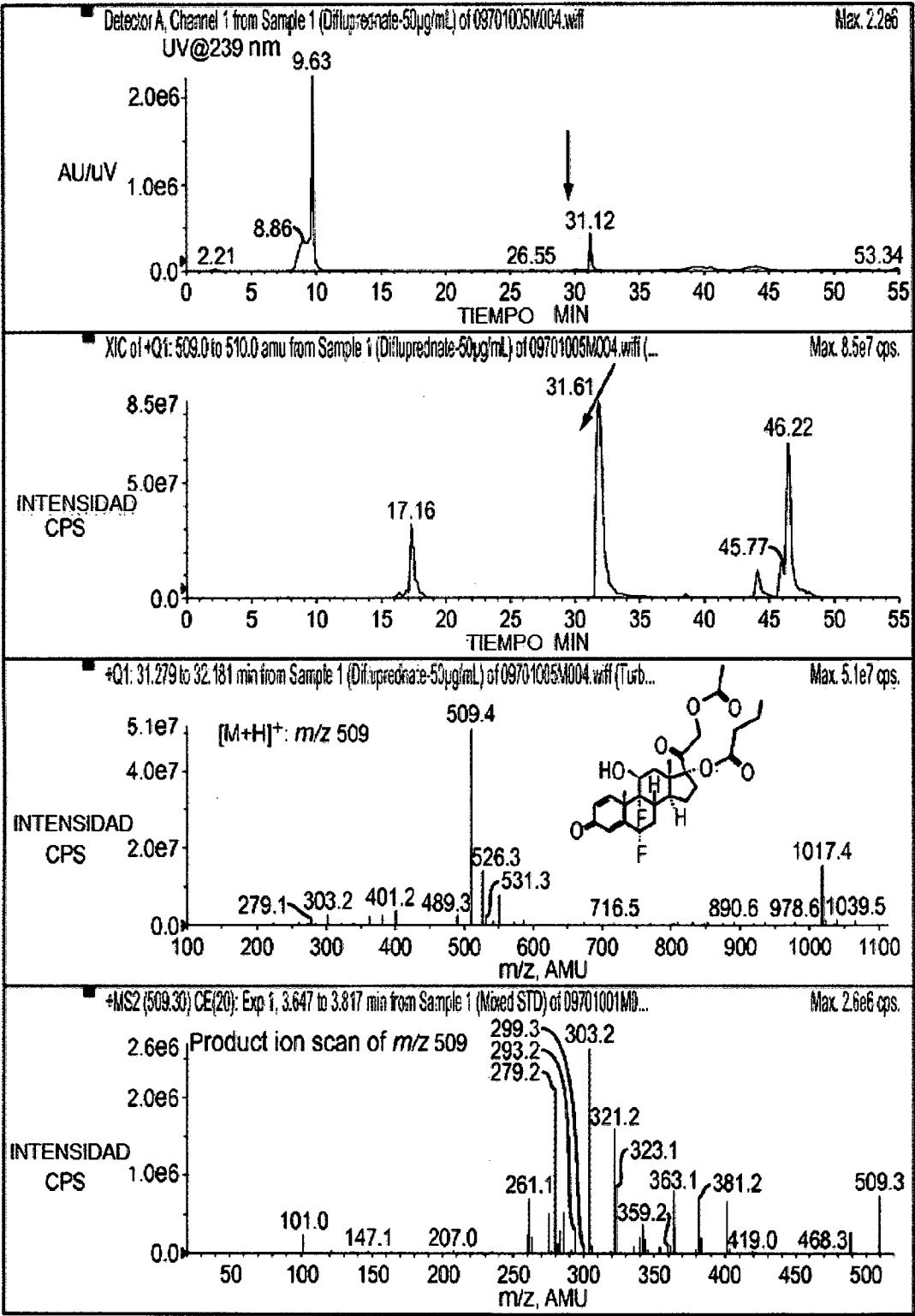


FIG. 4

Cromatogramas HPLC-UV del PVP-I: a una concentración de 200 µg/mL para el fosfato de dexametasona sódico

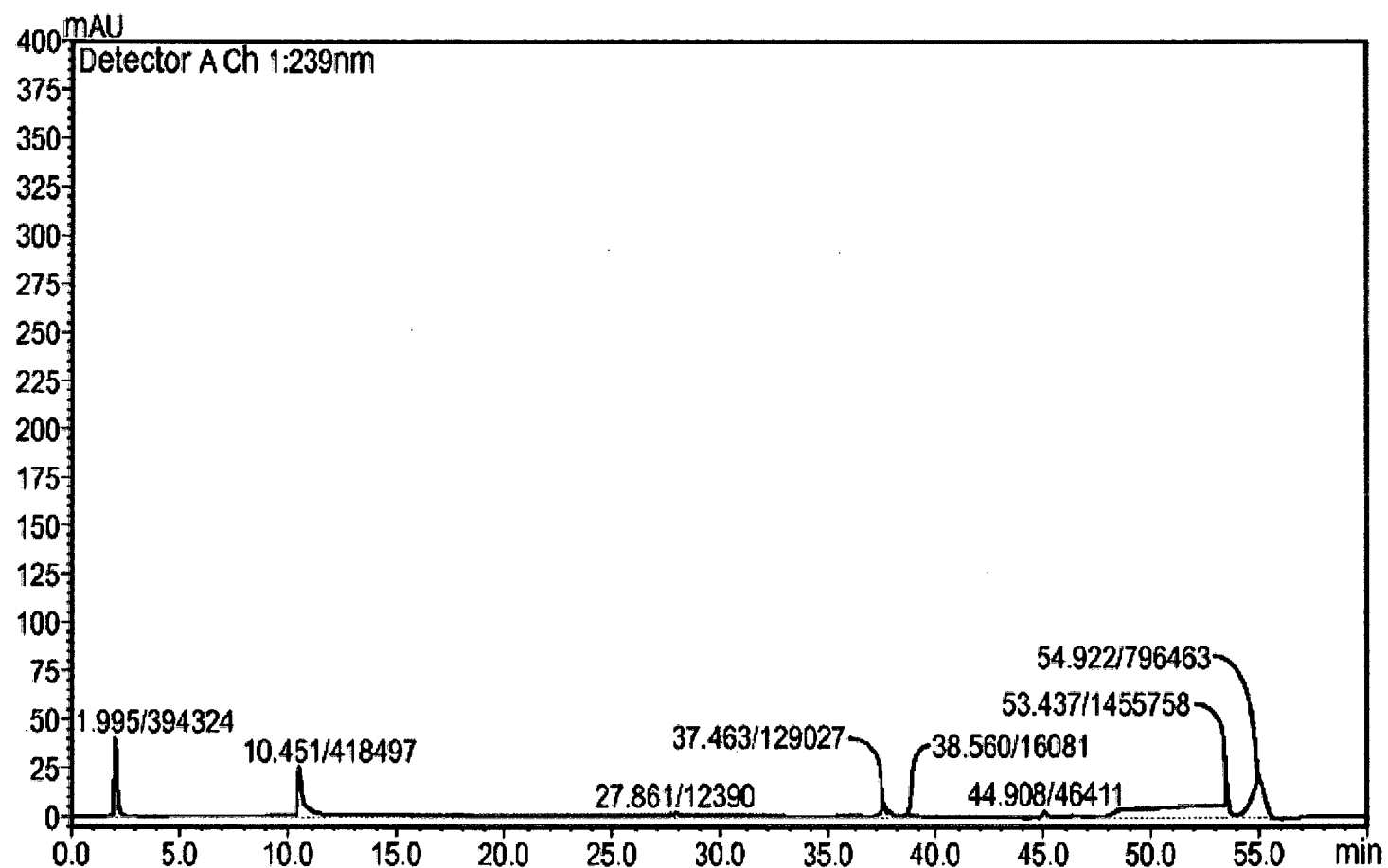


FIG. 5

Cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para el Día 0

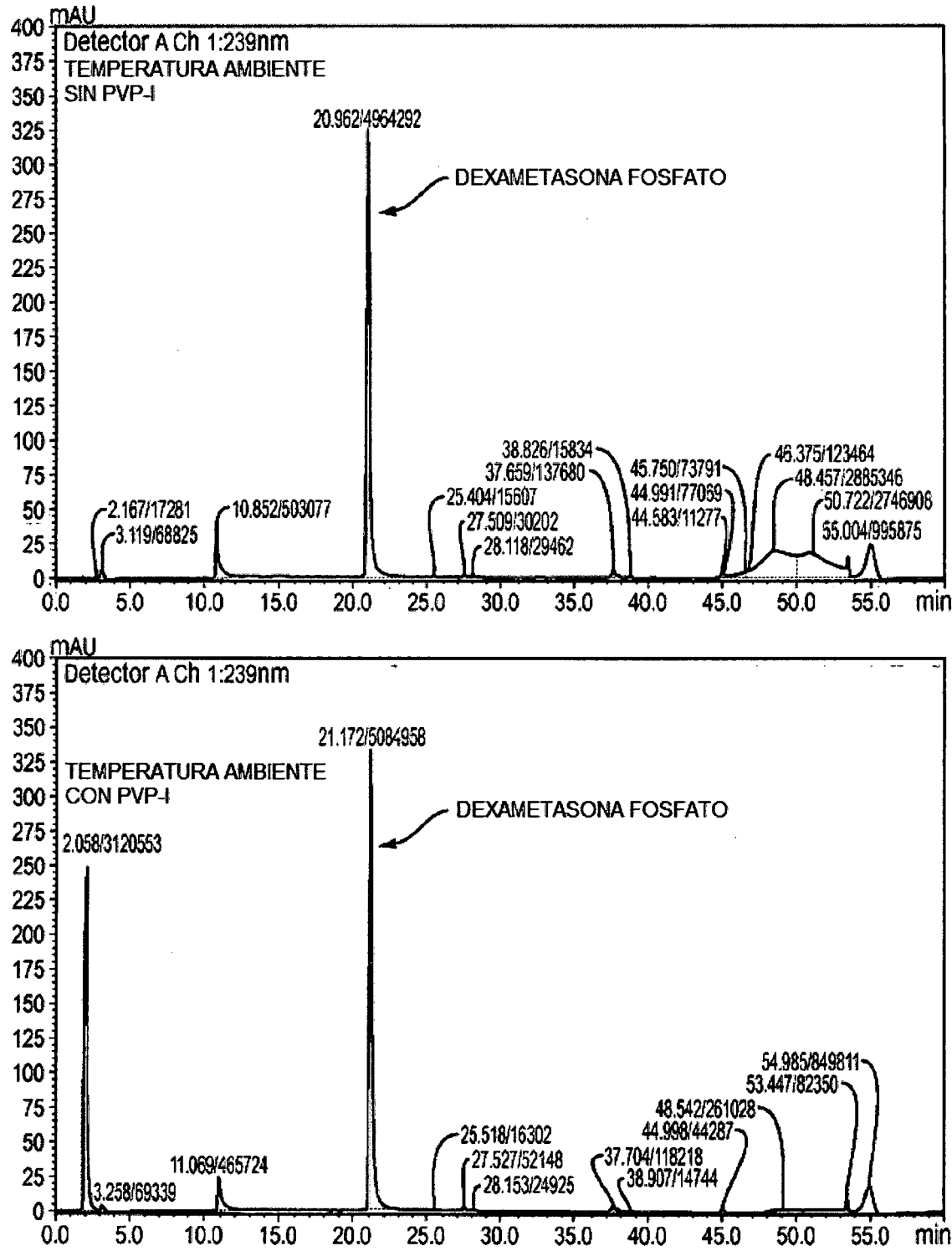


FIG. 6

Cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio
para el día 0

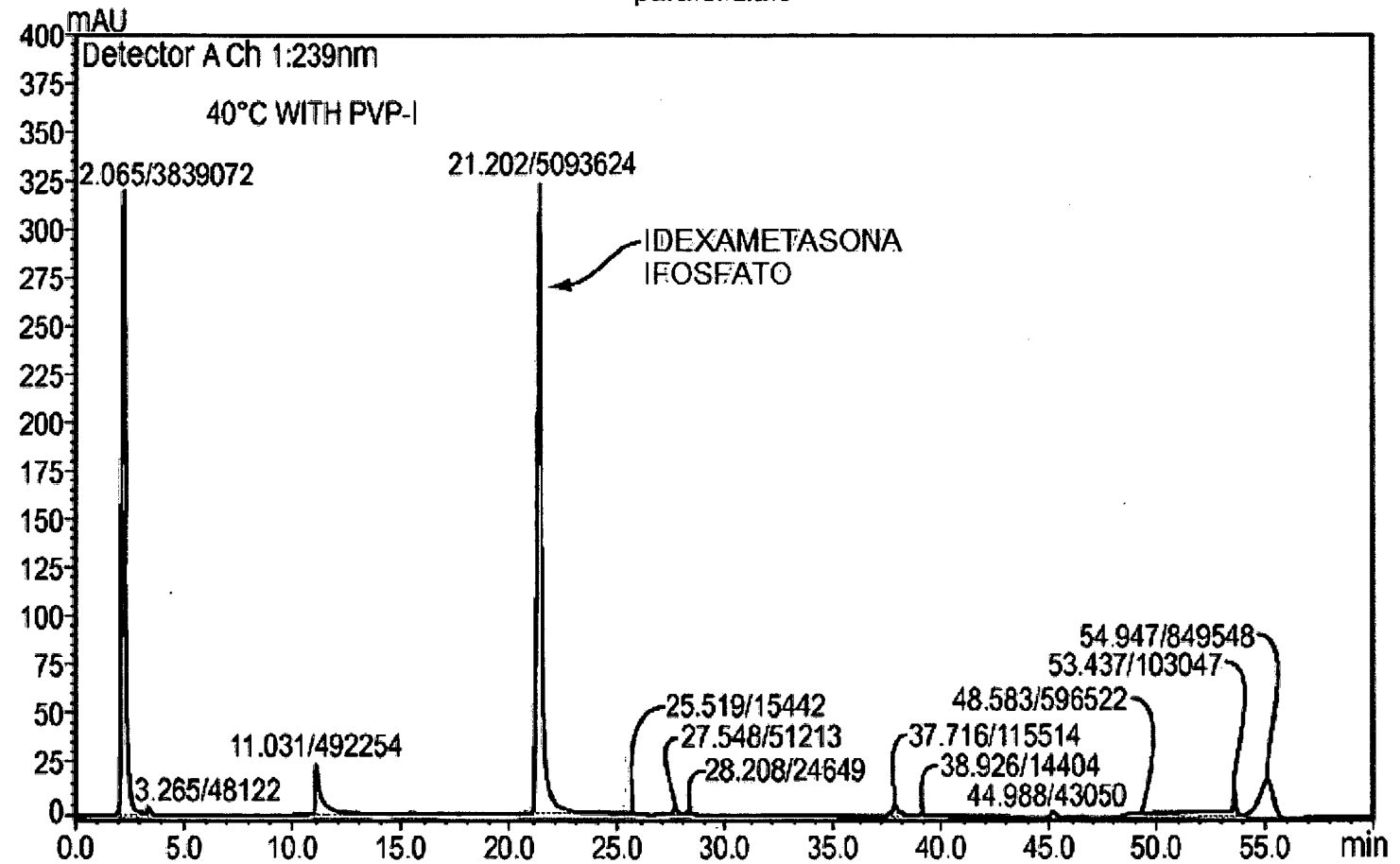


FIG. 7

Cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para dos semanas

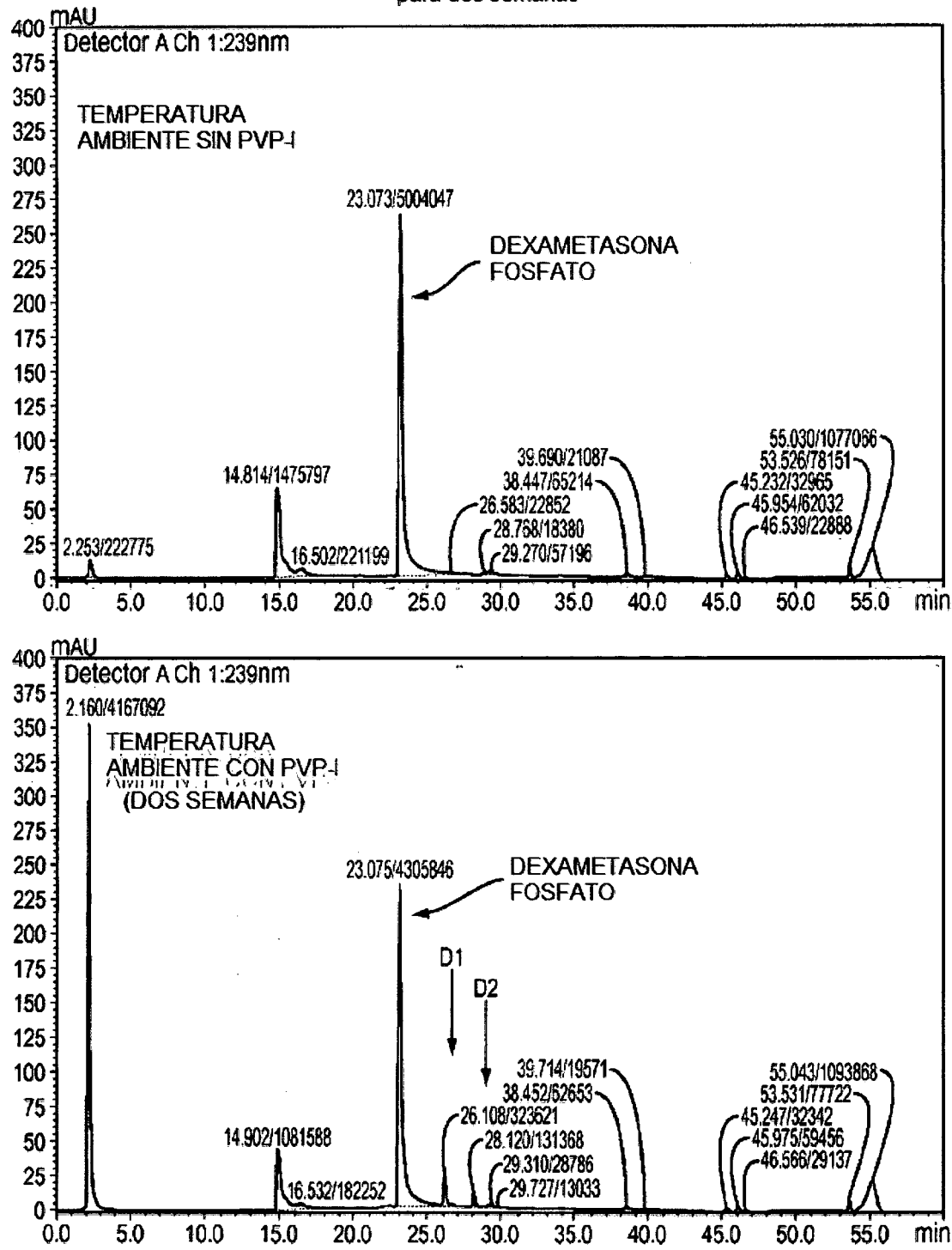


FIG. 8

Cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I
para dos semanas

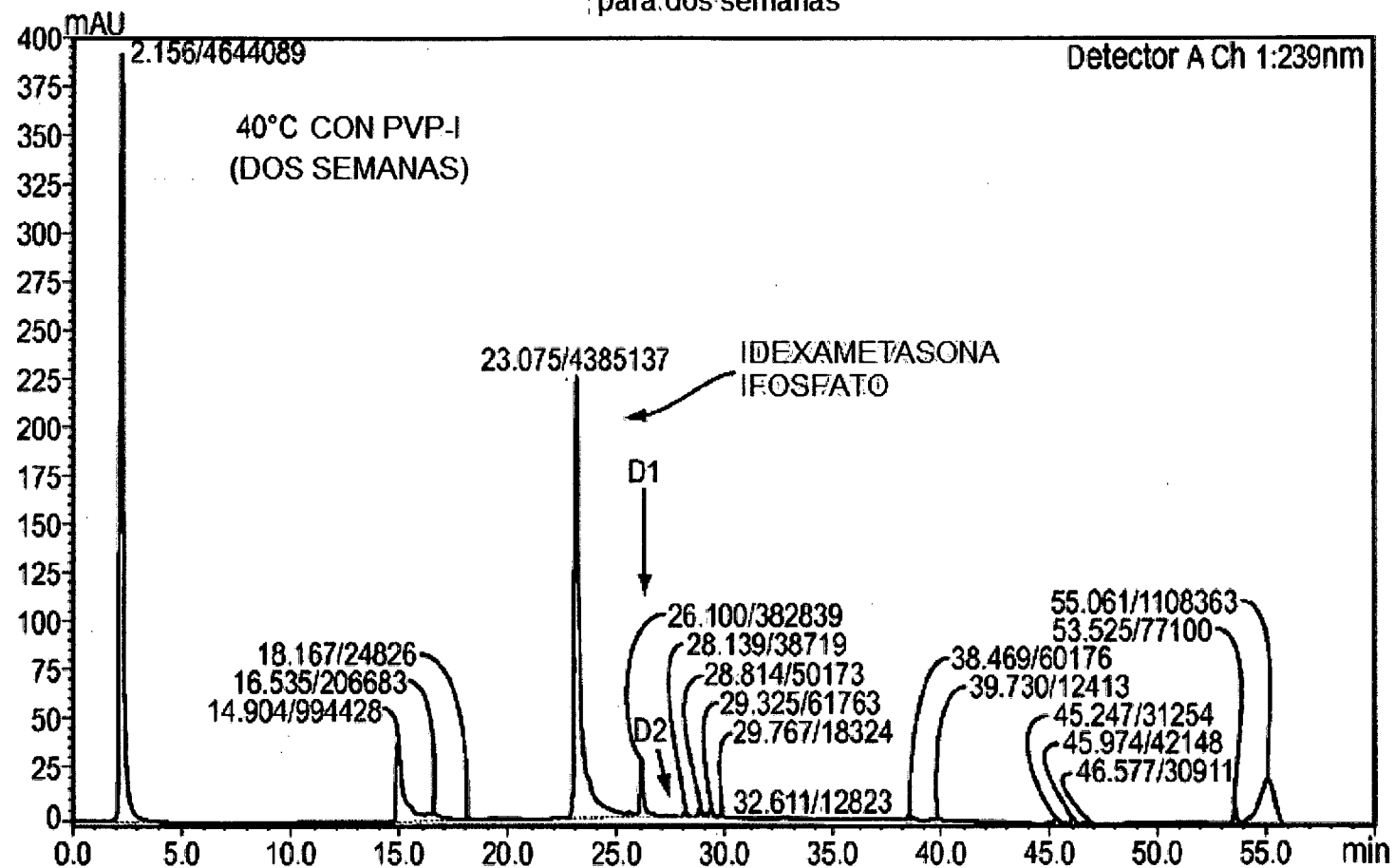


FIG.9

Cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes

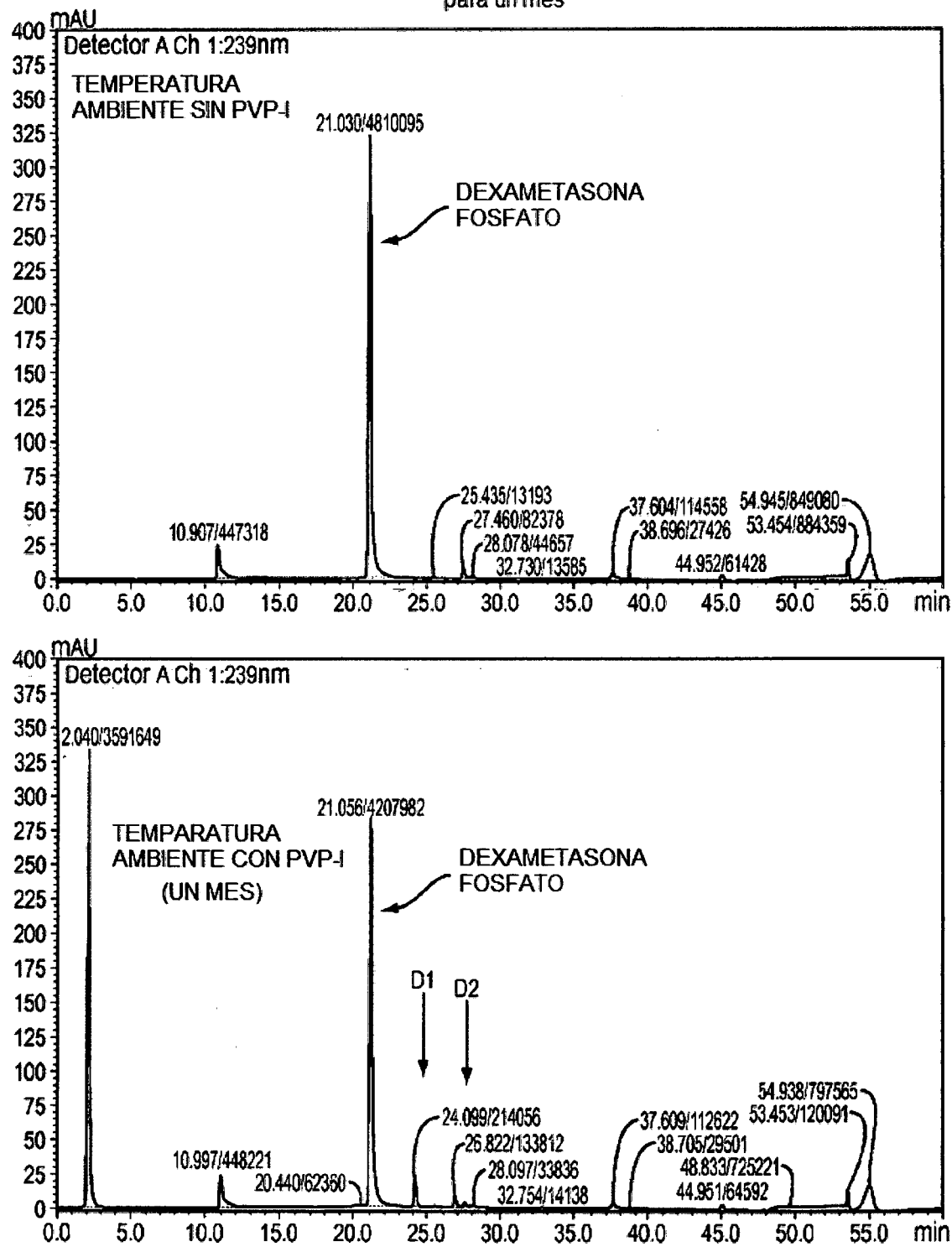


FIG. 10

Cromatogramas HPLC-UV del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes

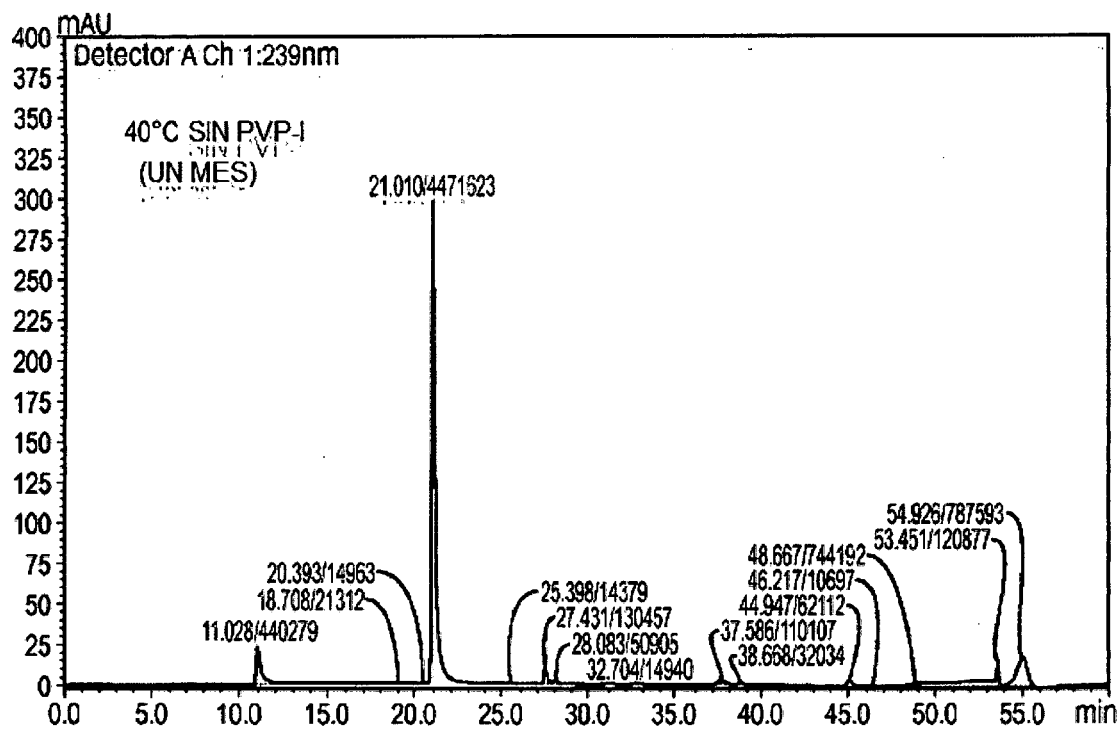
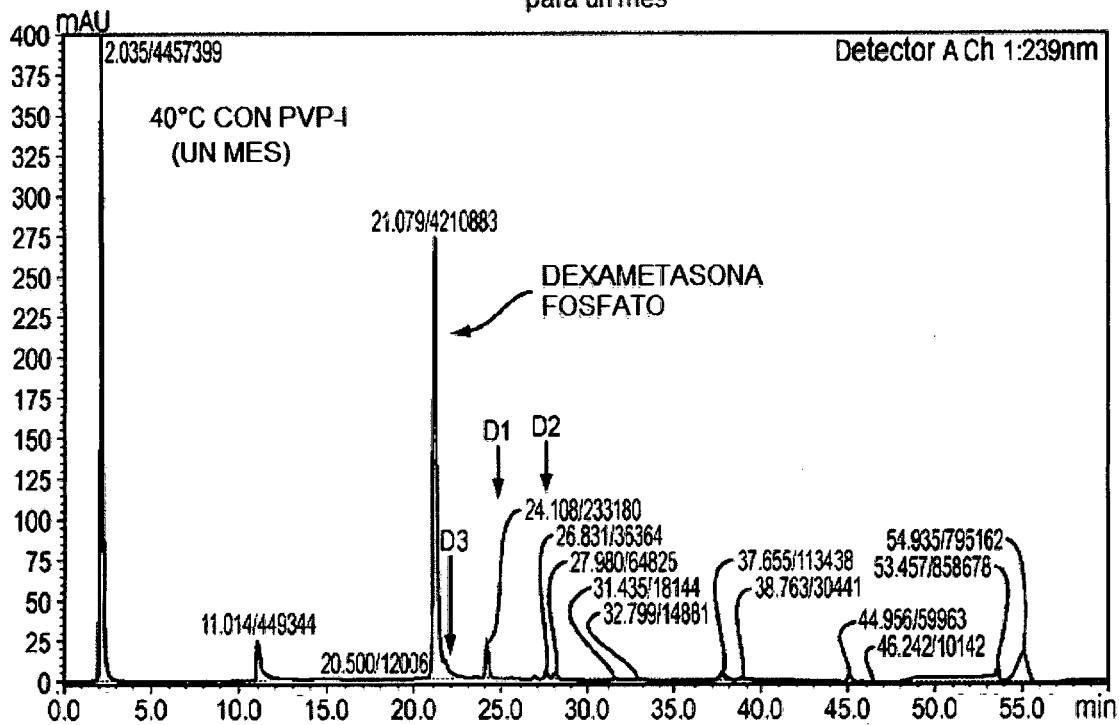


FIG. 11

Cromatogramas HPLC-UV (expandidos) del fosfato de dexametasona sodio en PVP-I para un mes

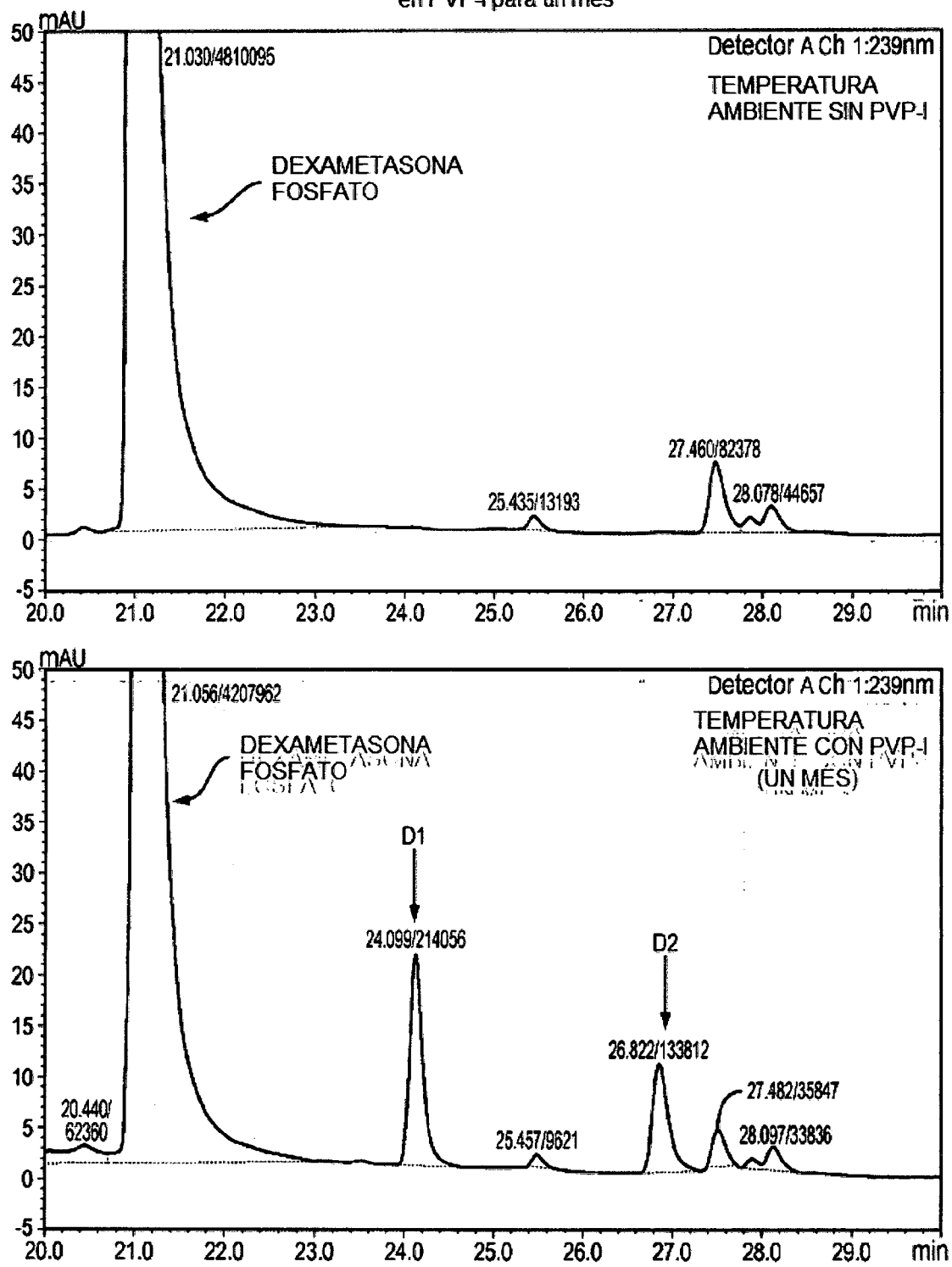


FIG. 12

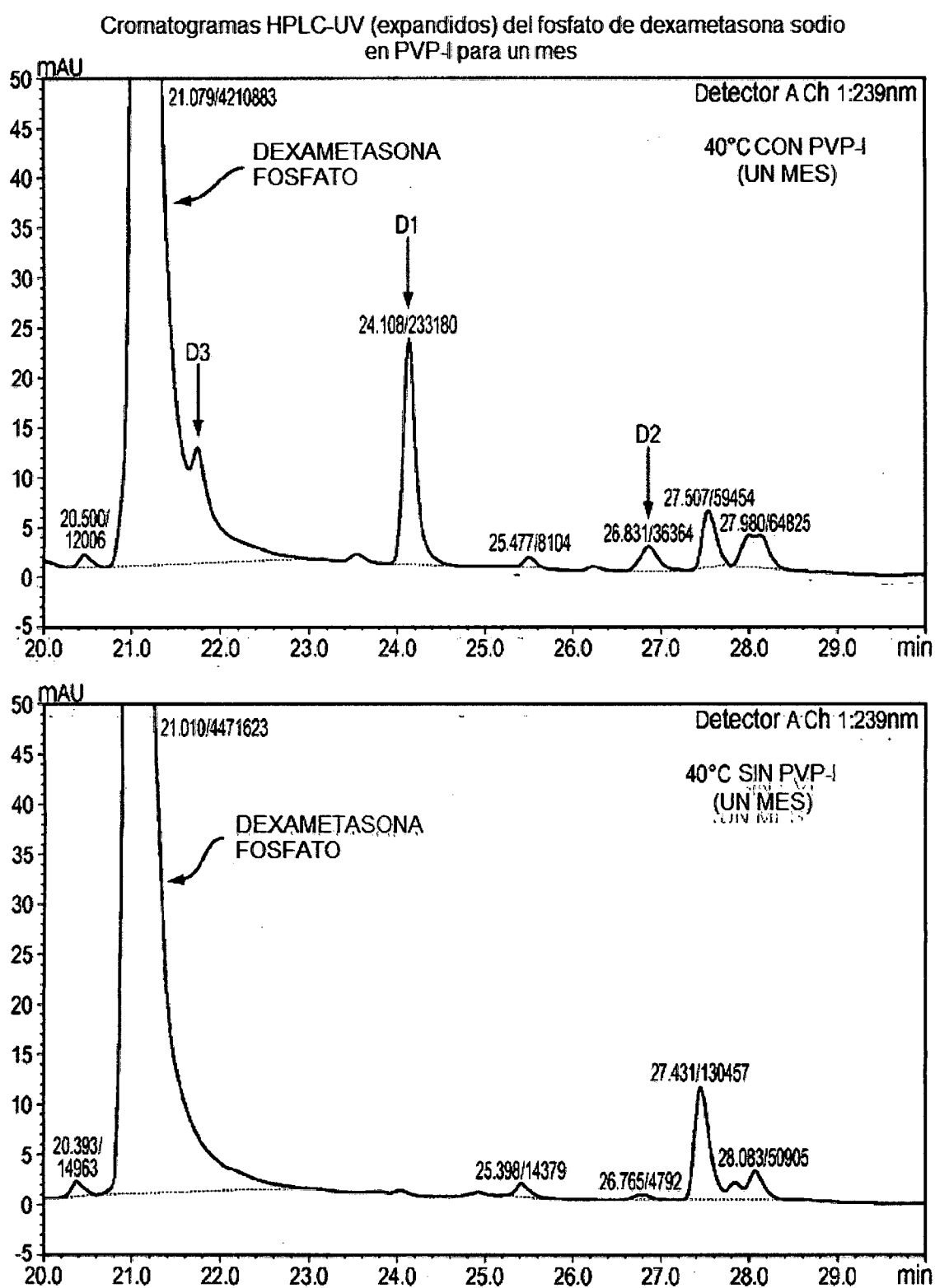


FIG. 13

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del fosfato de dexametasona sodio en referencia a muestras estándar

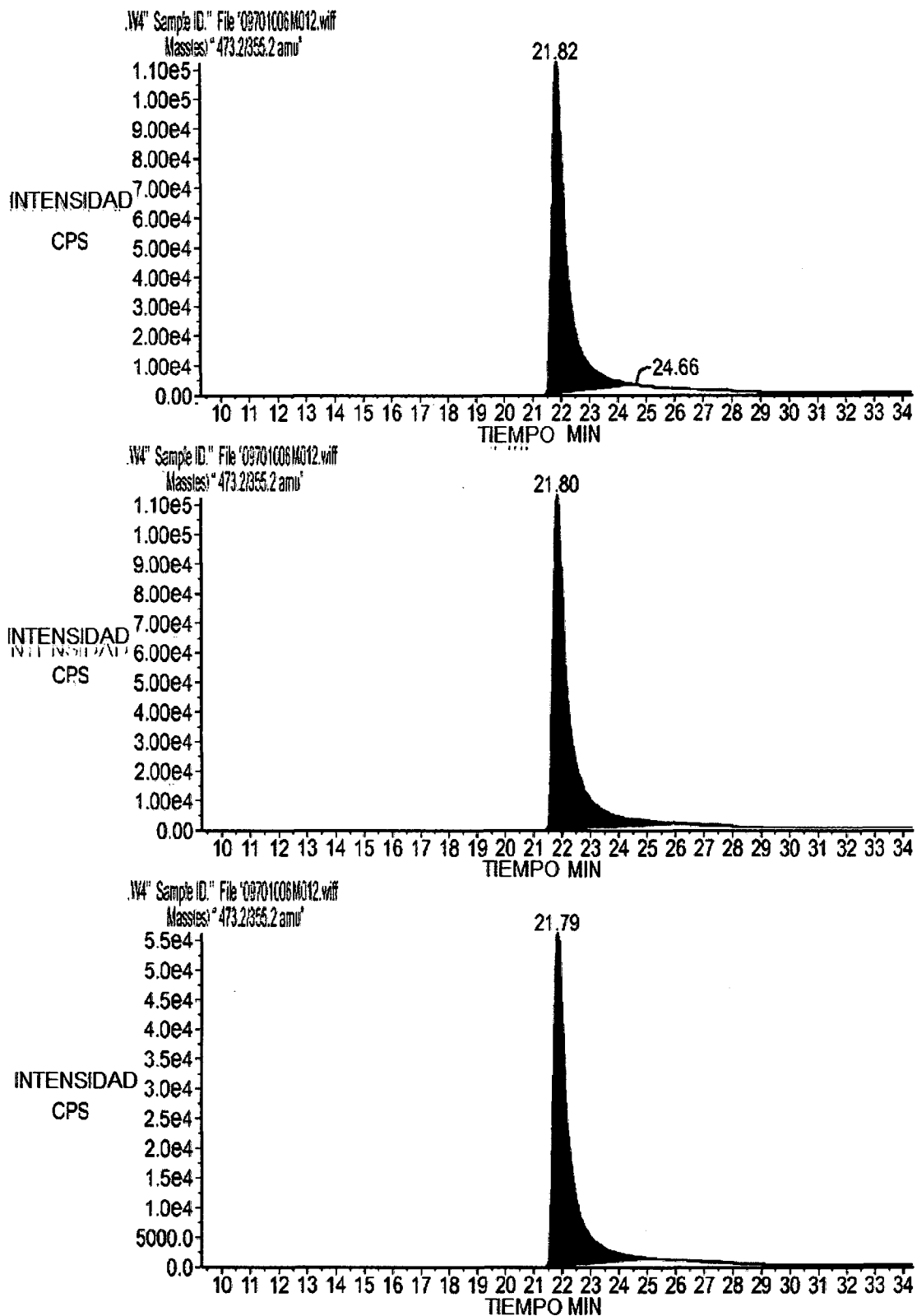


FIG. 14

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del fosfato de dexametasona sodio en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I

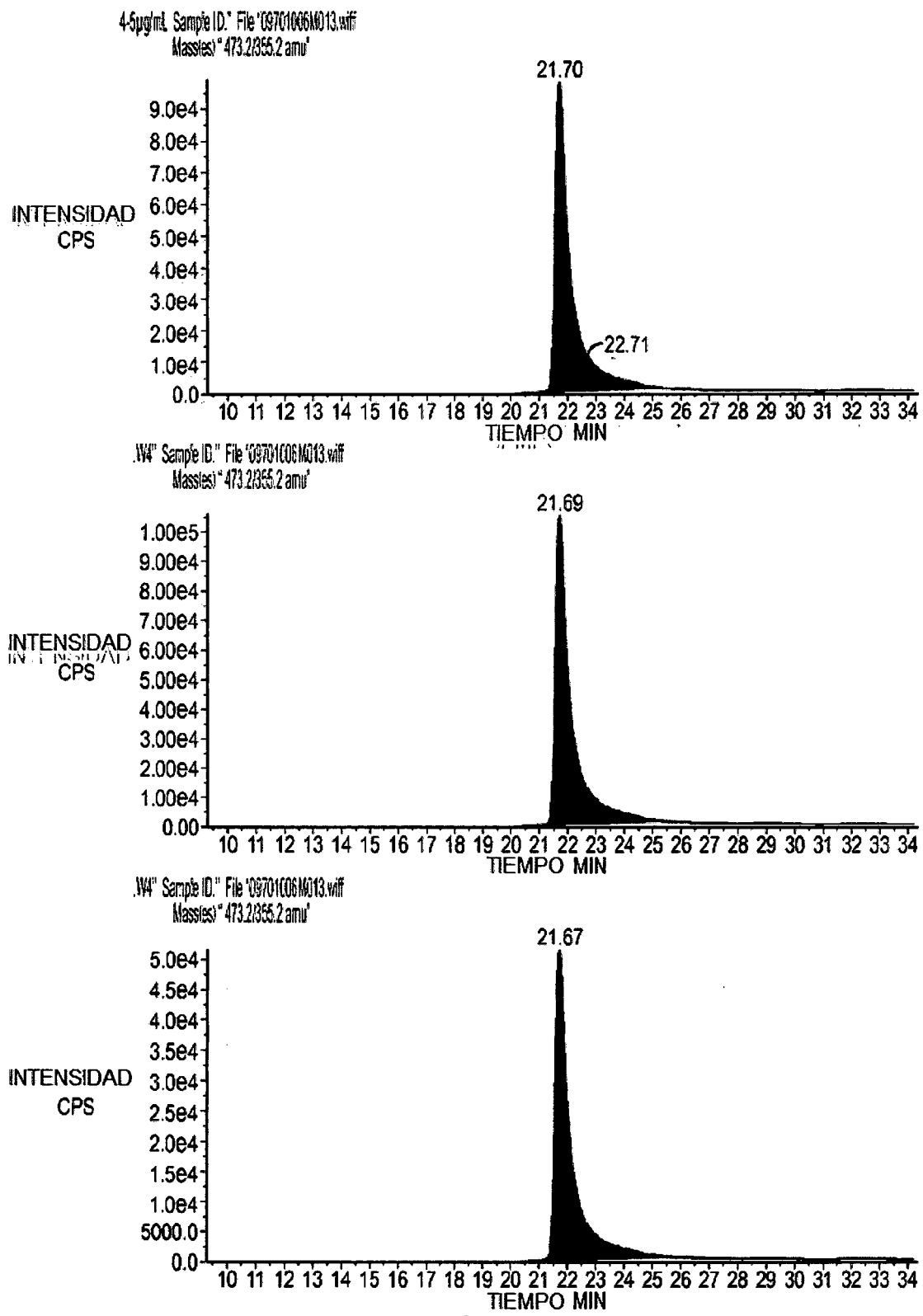
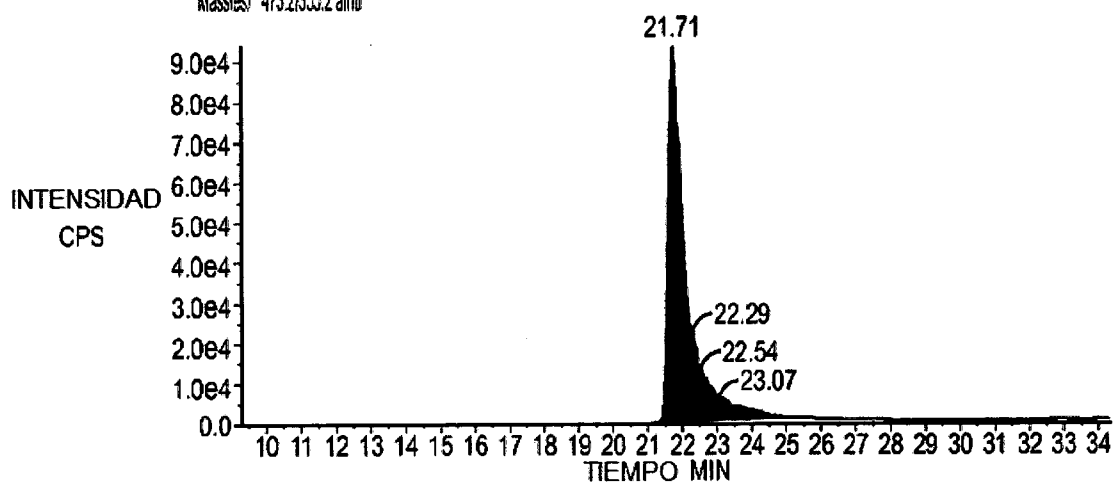


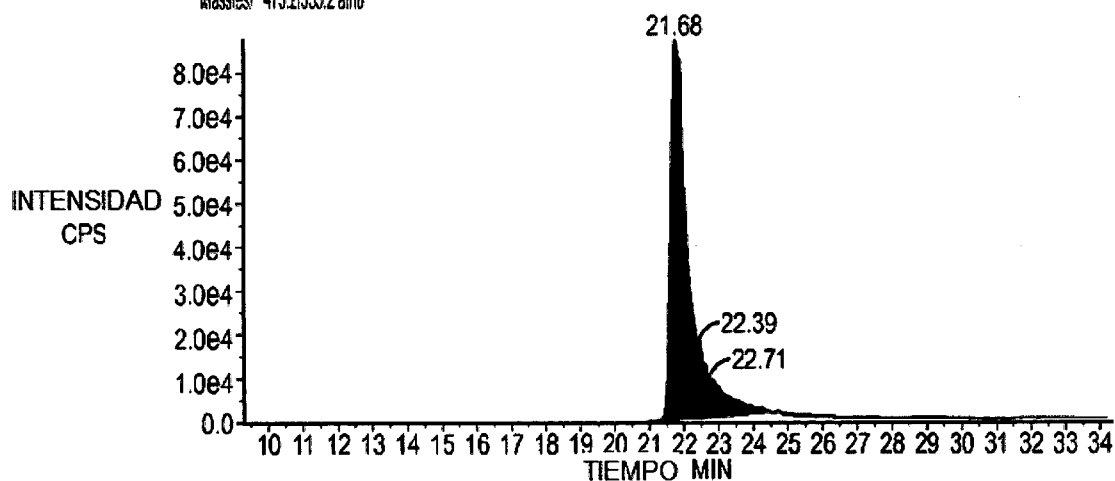
FIG. 15

cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del fosfato de dexametasona sodio en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I

4.5 µg/ml Sample ID: " File '09701006M014.wif'
Mass(es) " 473.2/355.2 amu"



.W4" Sample ID: " File '09701006M012.wif'
Mass(es) " 473.2/355.2 amu"



.W4" Sample ID: " File '09701006M012.wif'
Mass(es) " 473.2/355.2 amu"

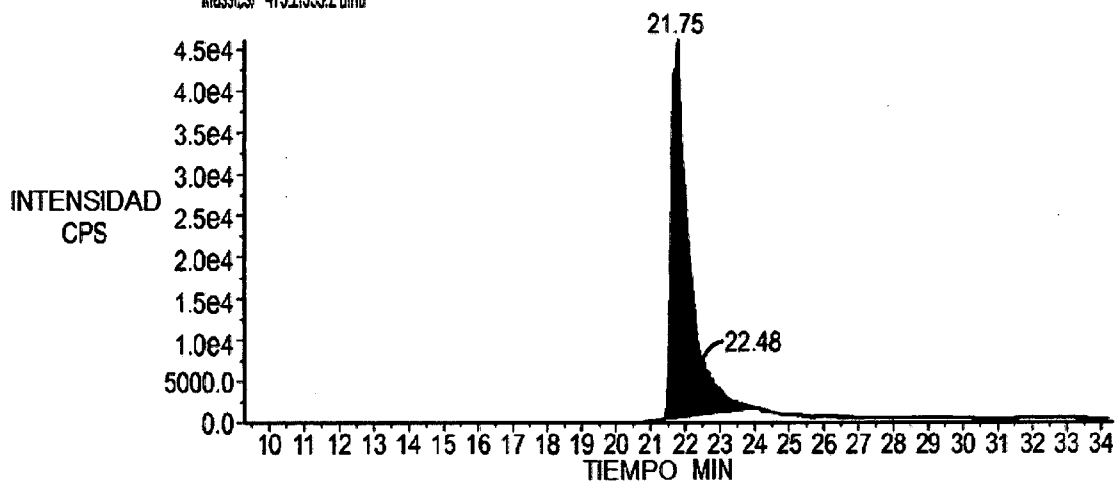


FIG. 16

cromatogramas HPLC-UV del PVP-I en una concentración de 20 µg/mL para el acetato de prednisolona

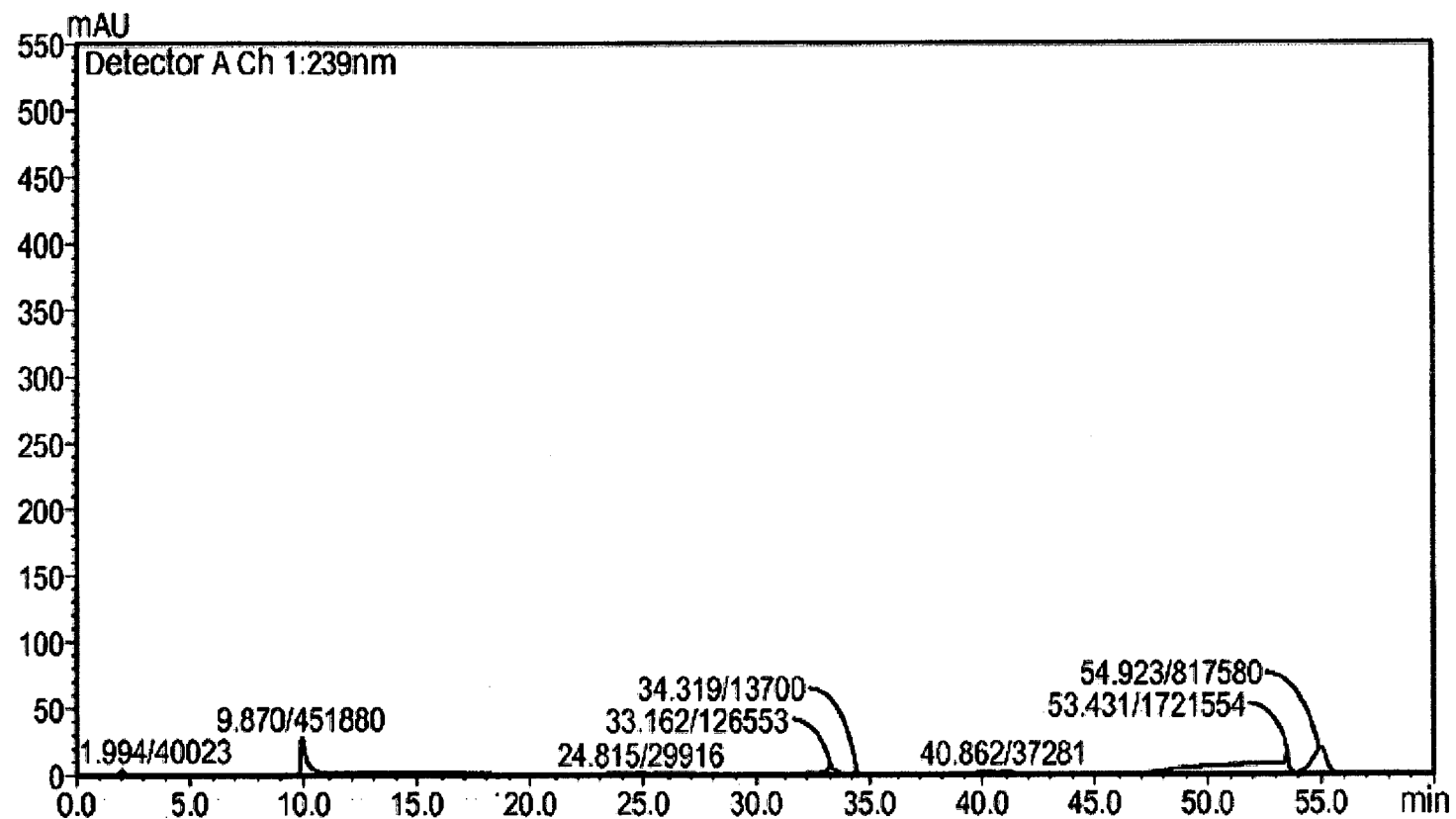


FIG. 17

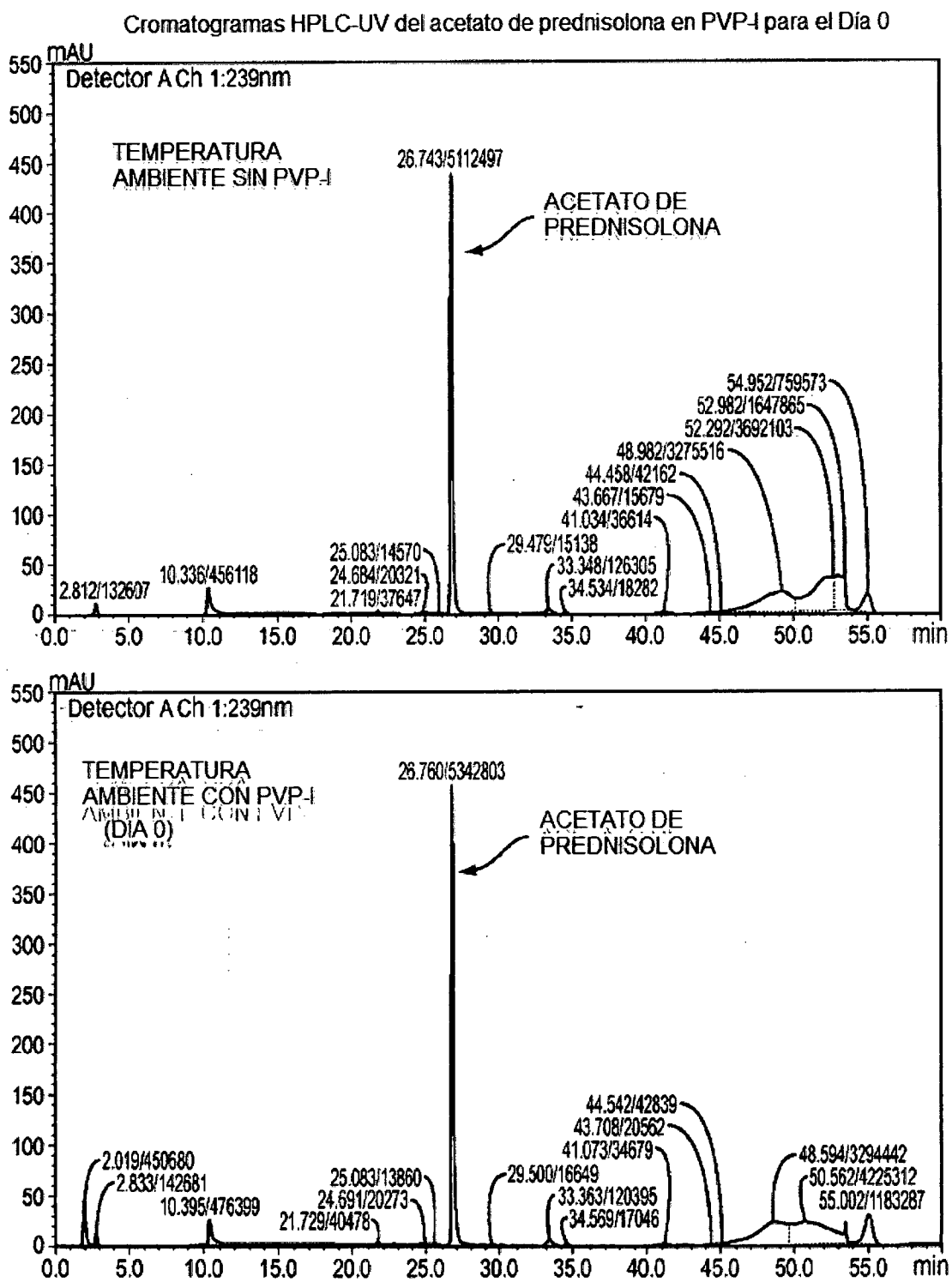


FIG. 18

Cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para el Día 0

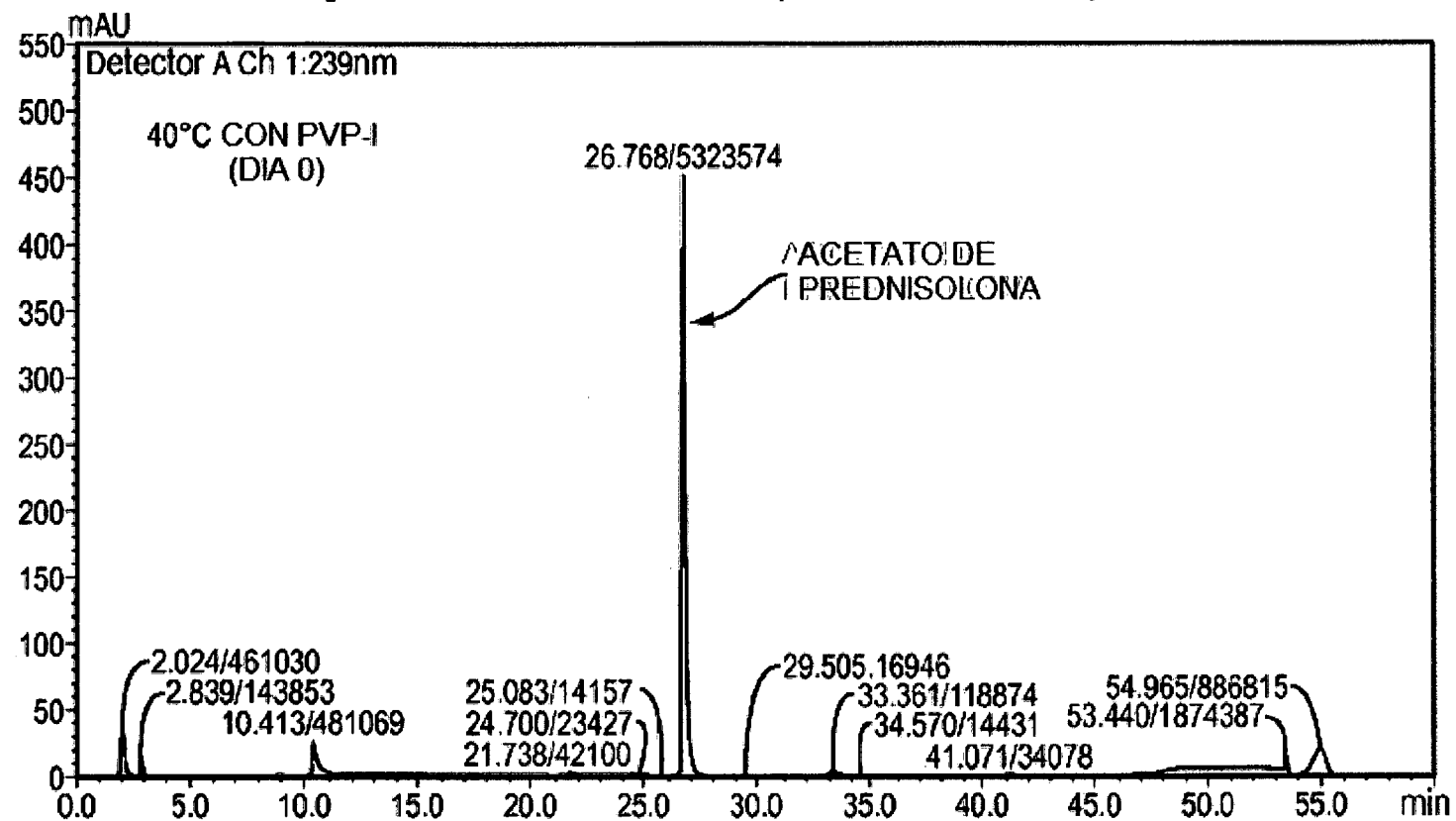


FIG. 19

Cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para dos semanas

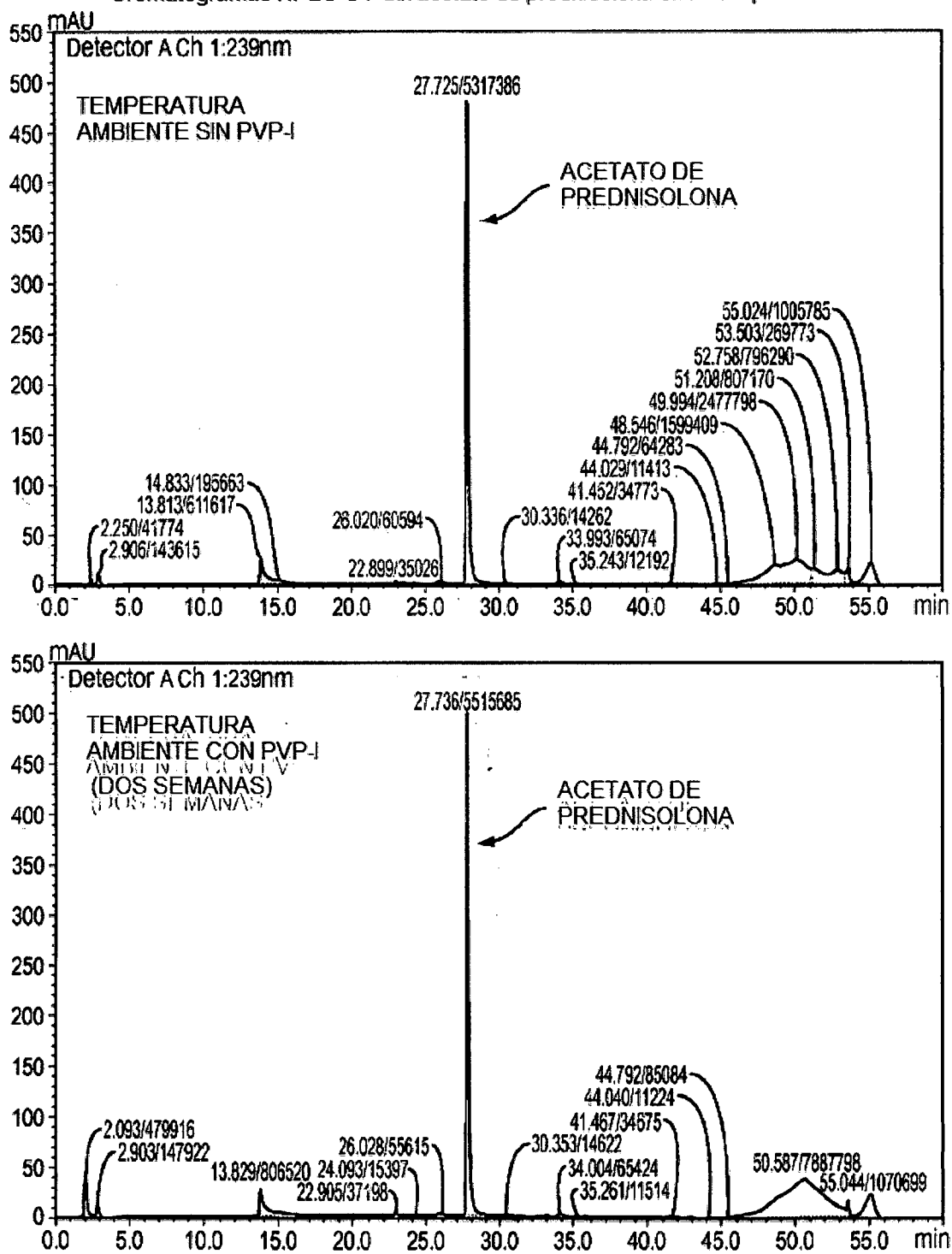


FIG. 20

cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para dos semanas

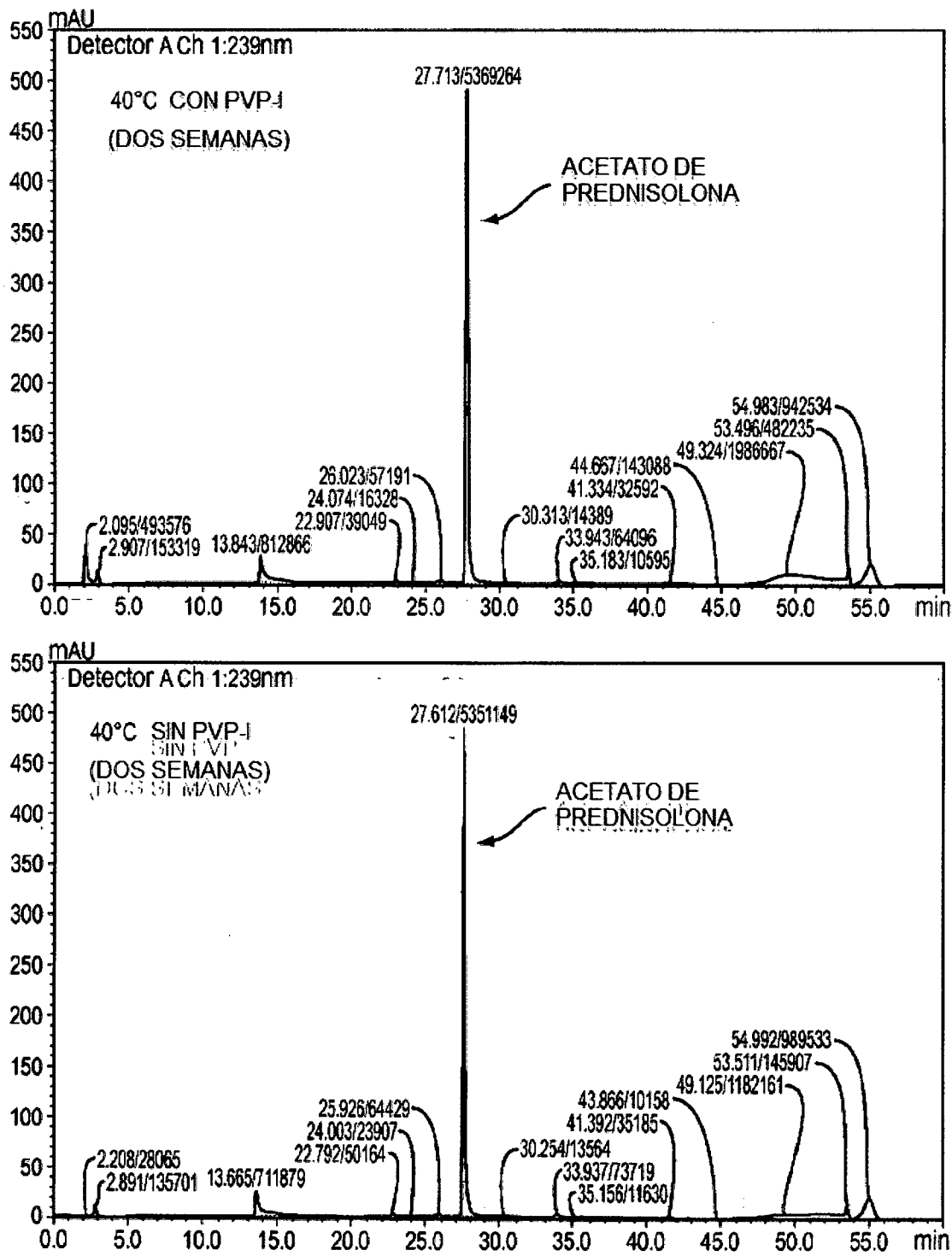


FIG. 21

cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para un mes

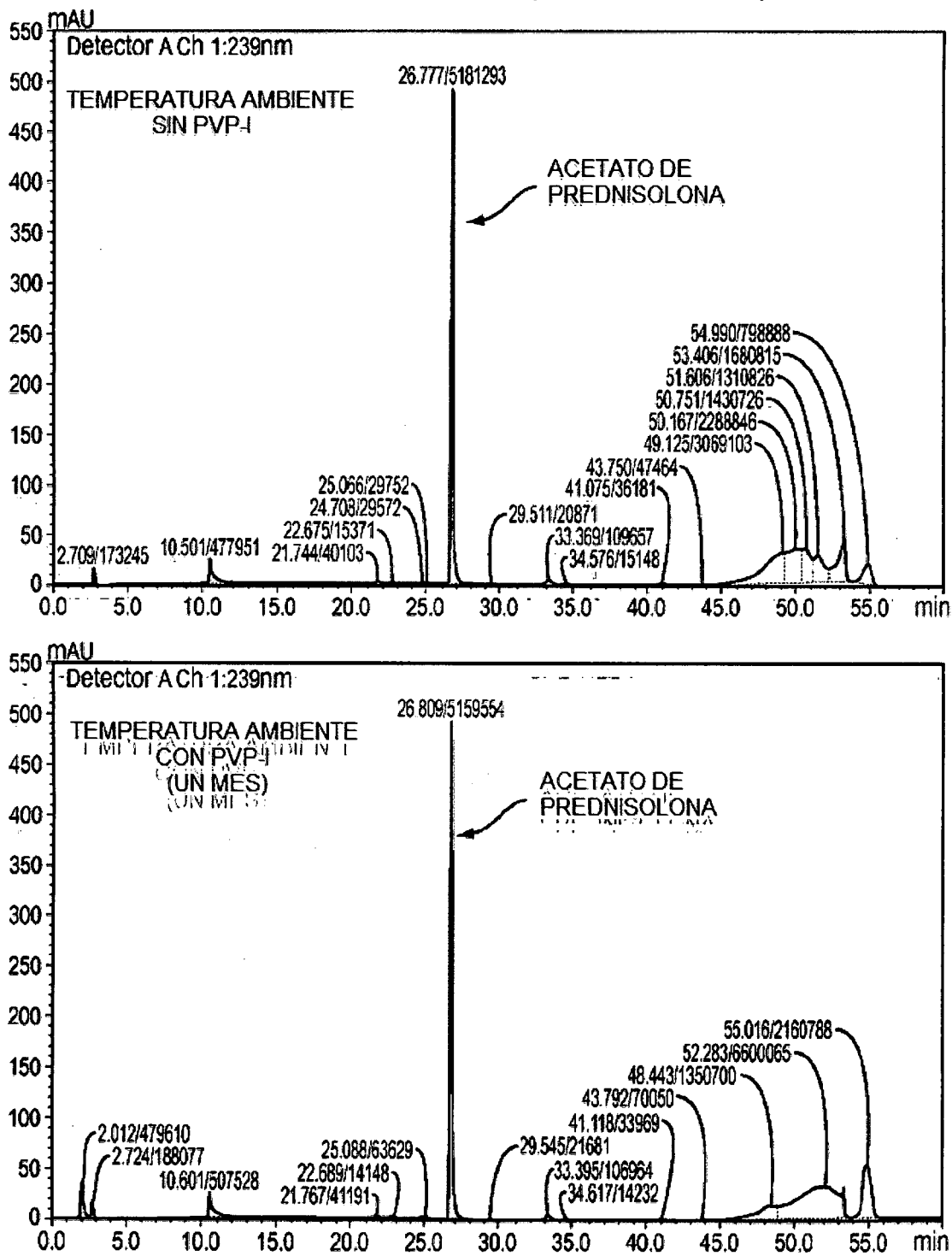


FIG. 22

Cromatogramas HPLC-UV del acetato de prednisolona en PVP-I para un mes

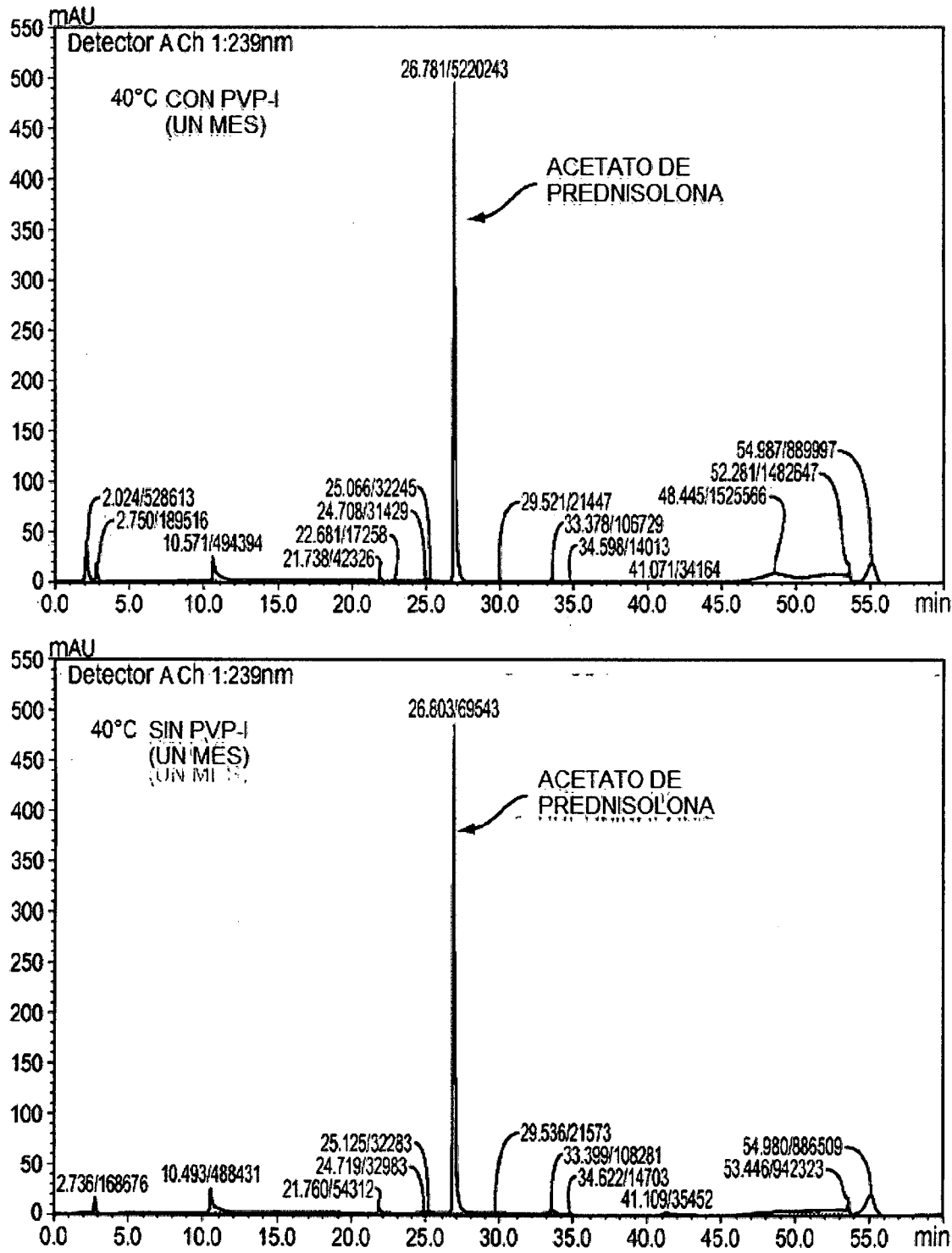


FIG. 23

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del acetato de prednisolona en referencia a muestras estándar

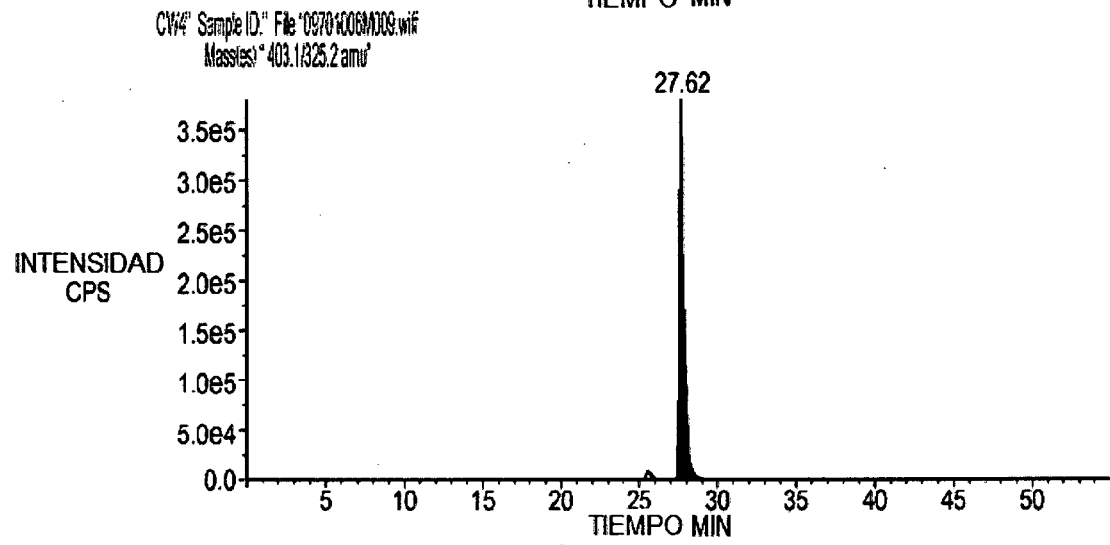
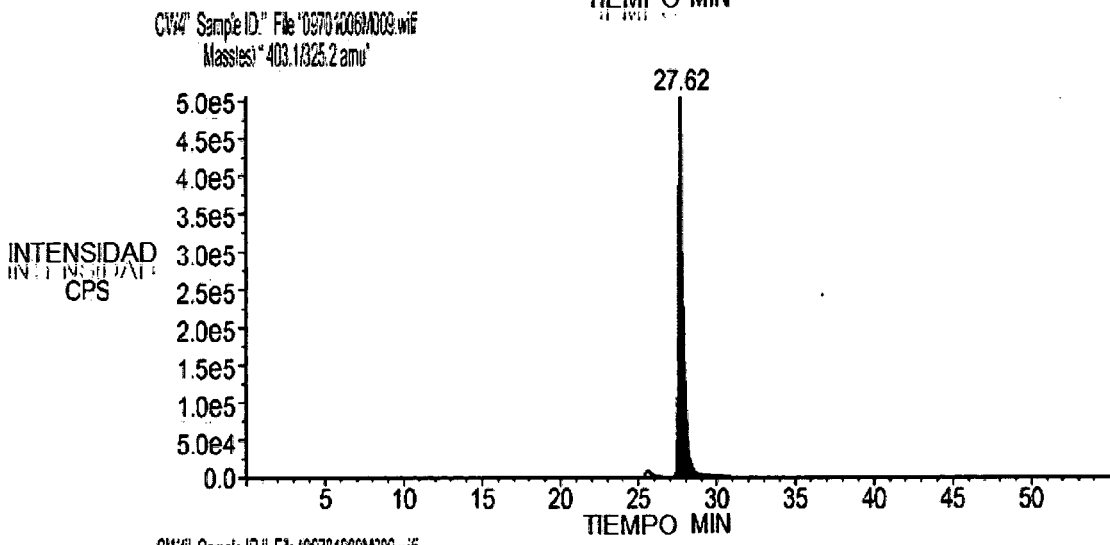
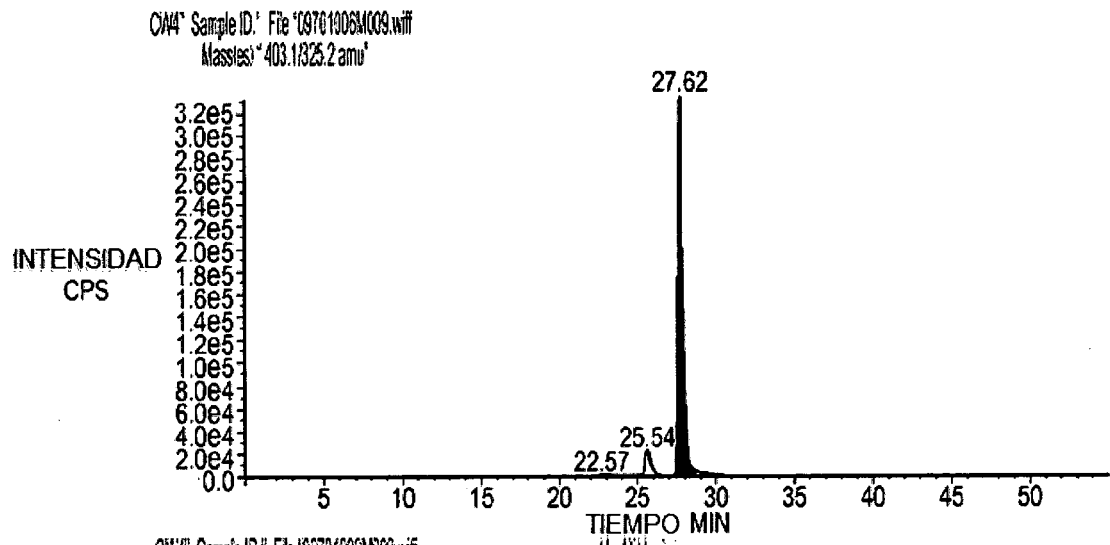
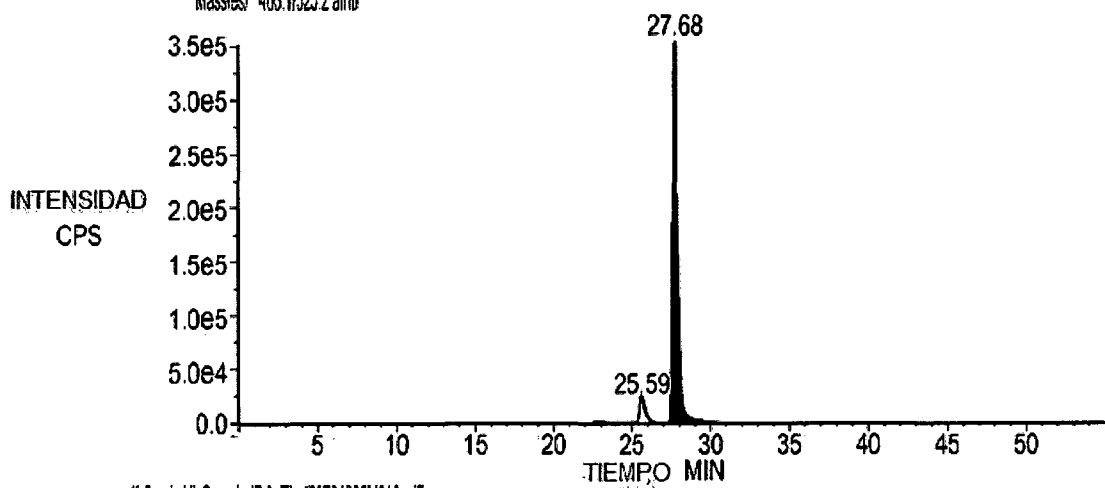


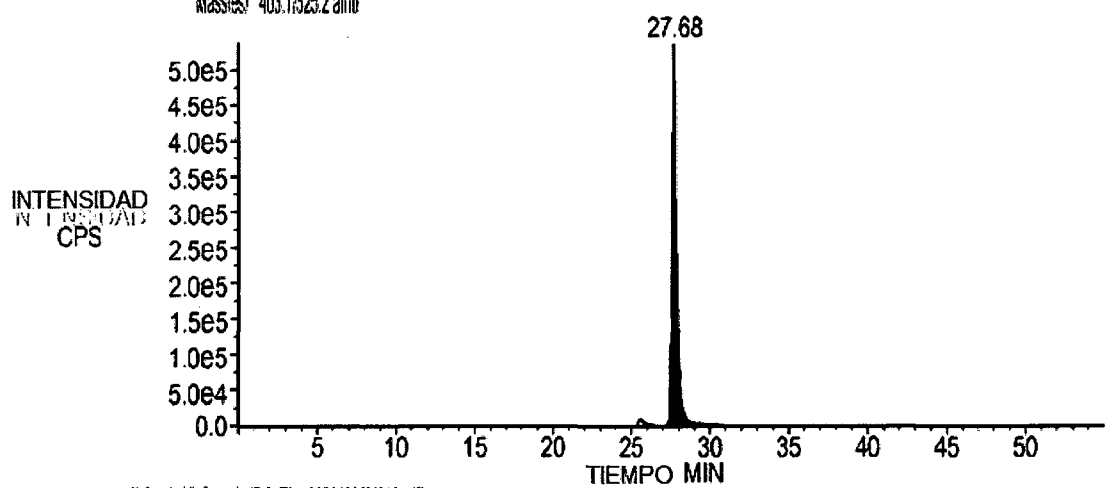
FIG. 24

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del acetato de prednisolona en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I

4-5 µg/mL Sample ID: File "09701006M010.wiff"
Mass(es) "403.11325.2 amu"



4-5 µg/mL Sample ID: File "09701006M010.wiff"
Mass(es) "403.11325.2 amu"



4-5 µg/mL Sample ID: File "09701006M010.wiff"
Mass(es) "403.11325.2 amu"

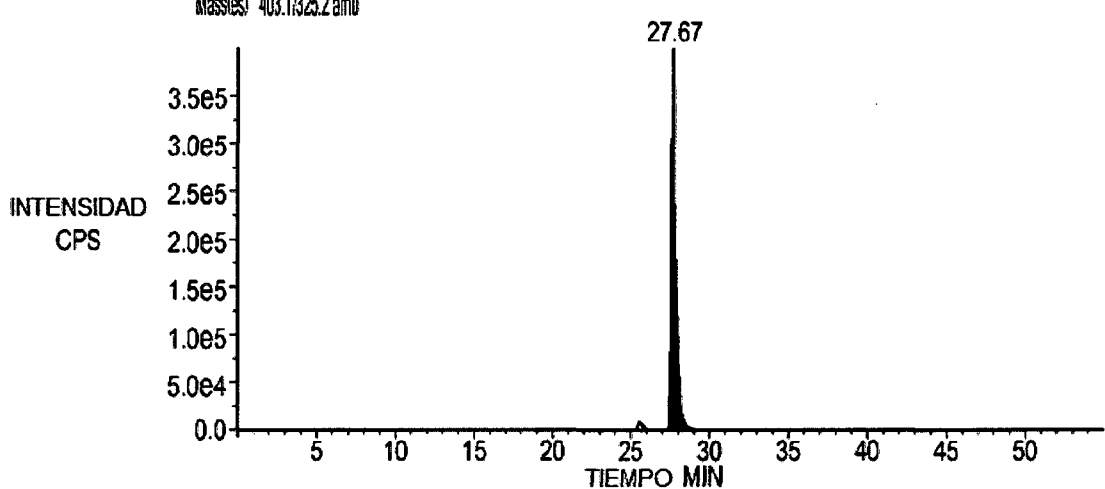
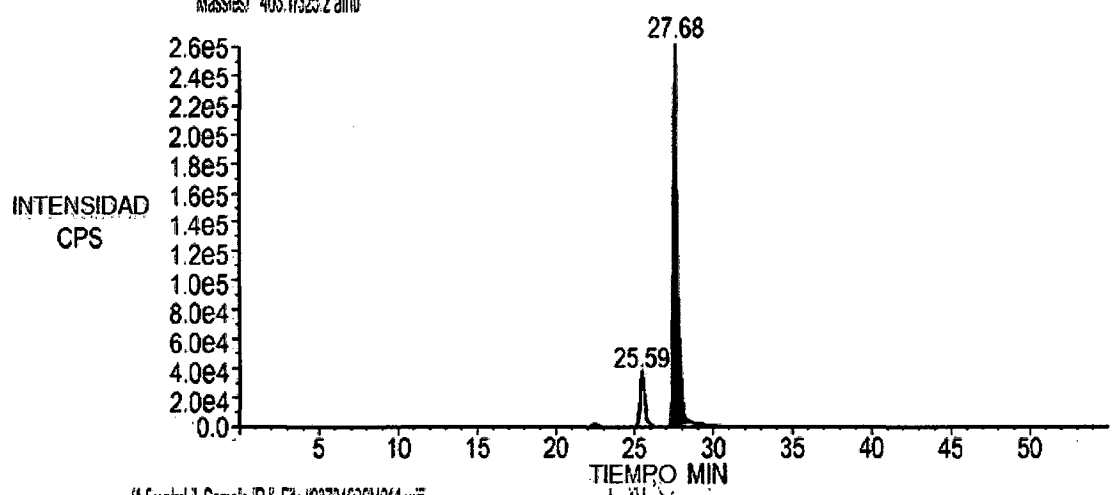


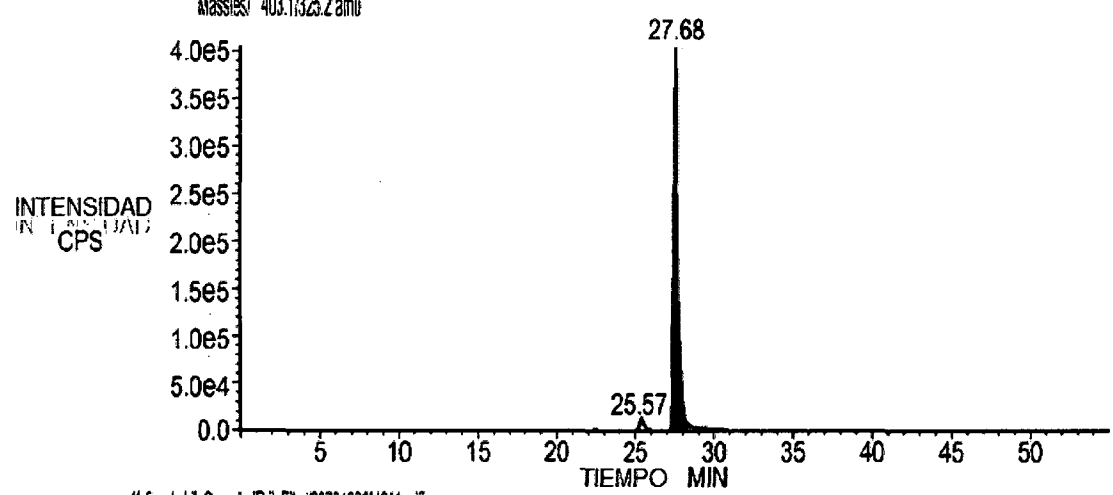
FIG. 25

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del acetato de prednisolona en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I

4-5 µg/mL Sample ID: File '09701006M011.vi' Mass(es): 403.1325.2 amu



4-5 µg/mL Sample ID: File '09701006M011.vi' Mass(es): 403.1325.2 amu



4-5 µg/mL Sample ID: File '09701006M011.vi' Mass(es): 403.1325.2 amu

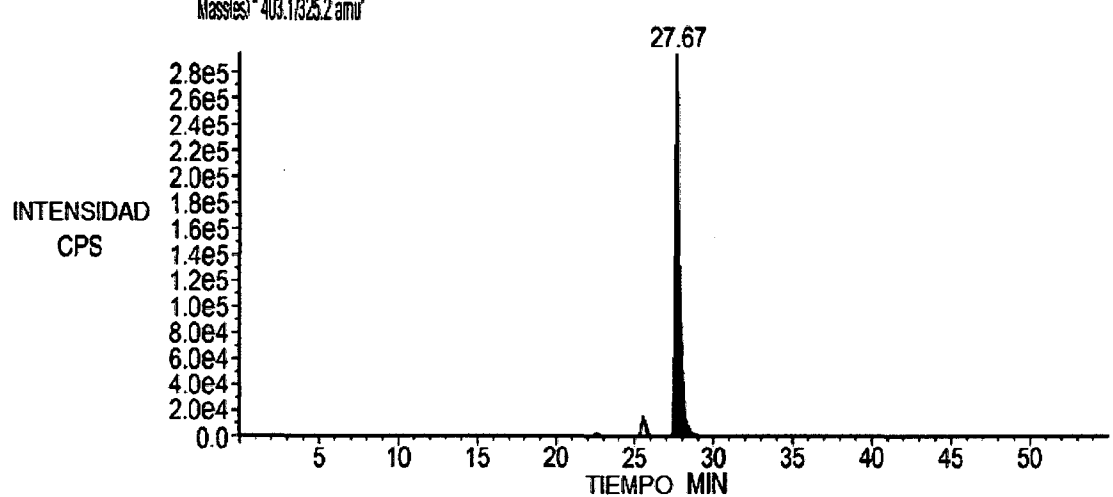


FIG. 26

Cromatogramas HPLC-UV del PVP-I en una concentración de 40 µg/mL
para el etabonato de loteprednol

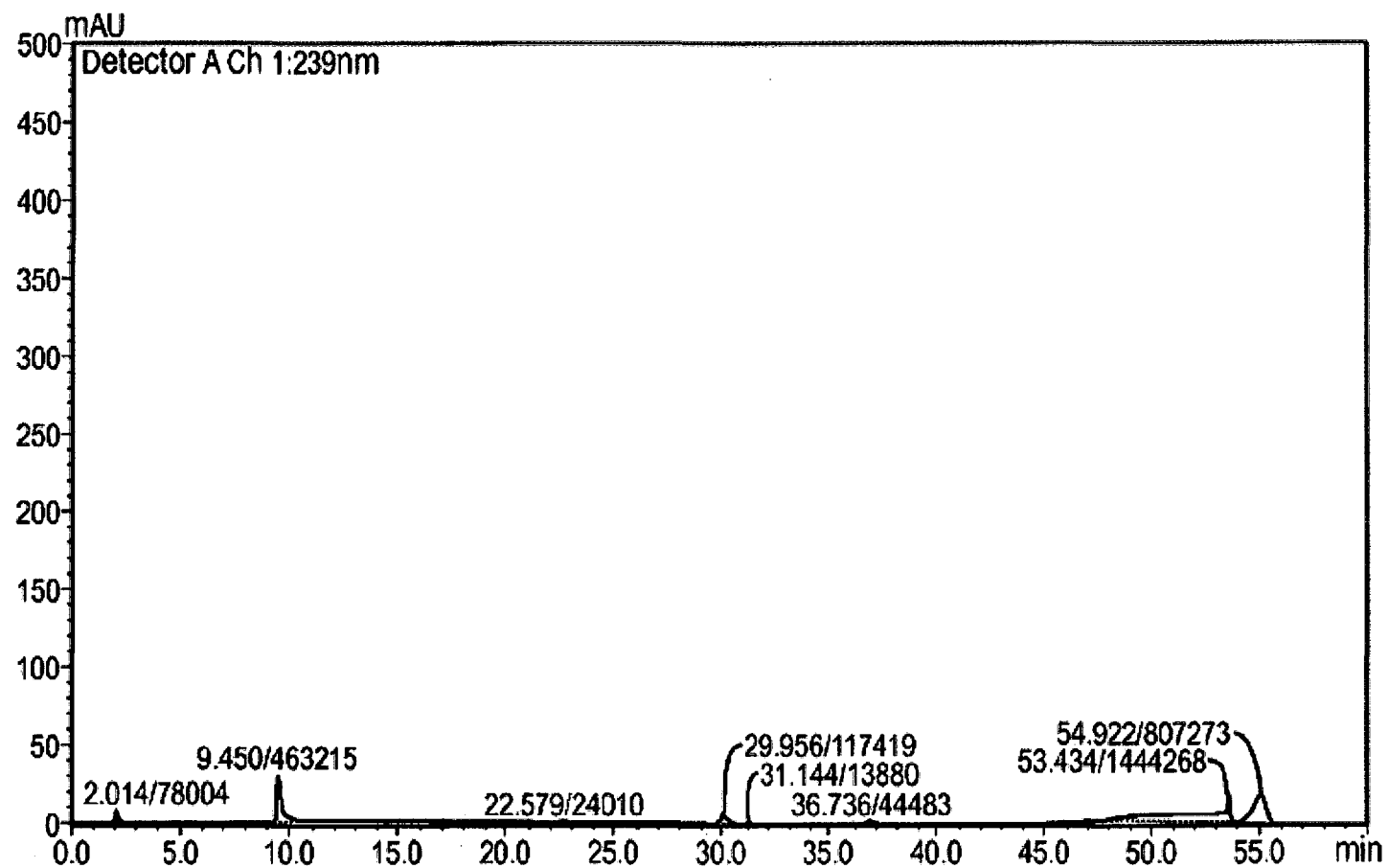


FIG. 27

Cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para el Día 0

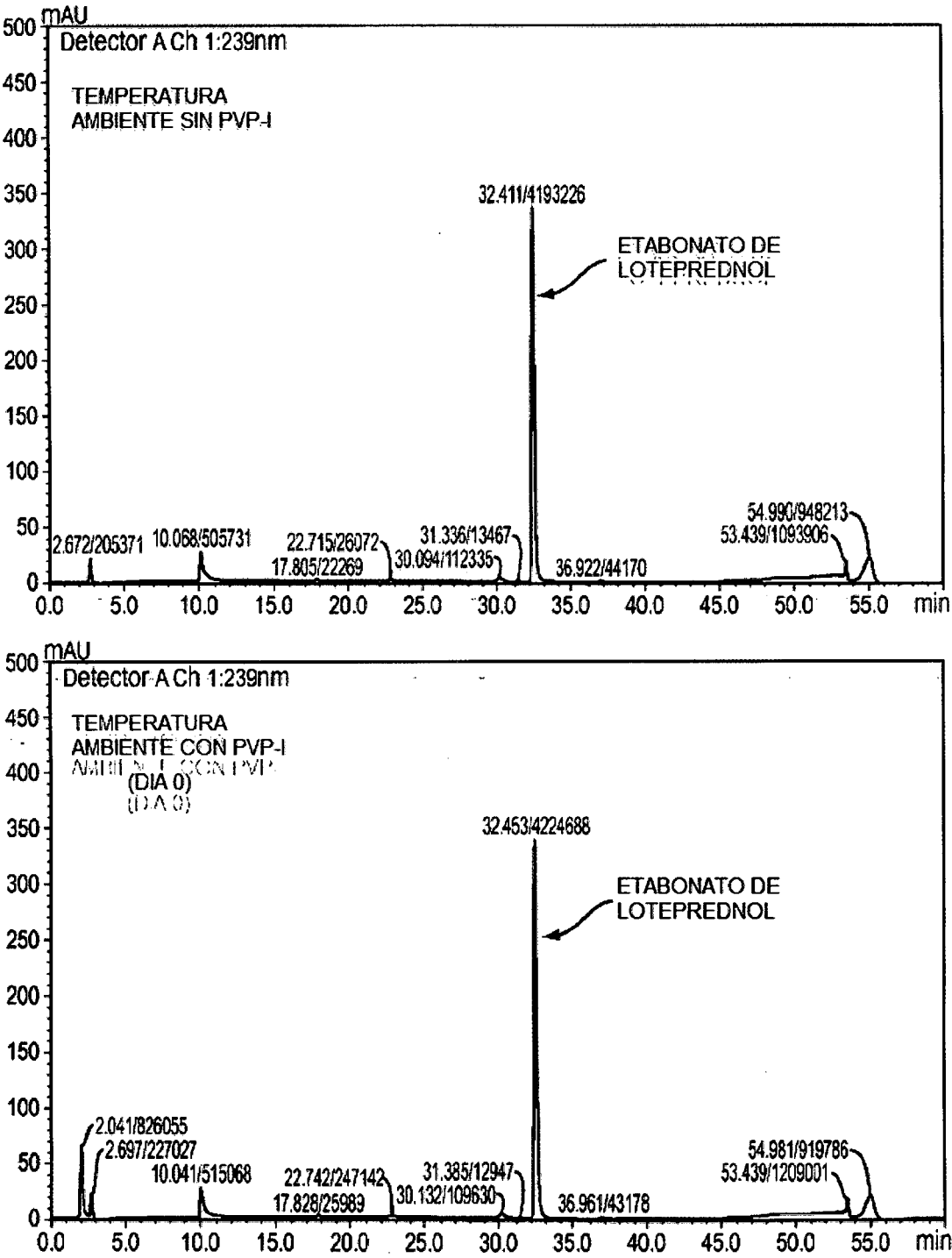


FIG. 28

Cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para el Día 0

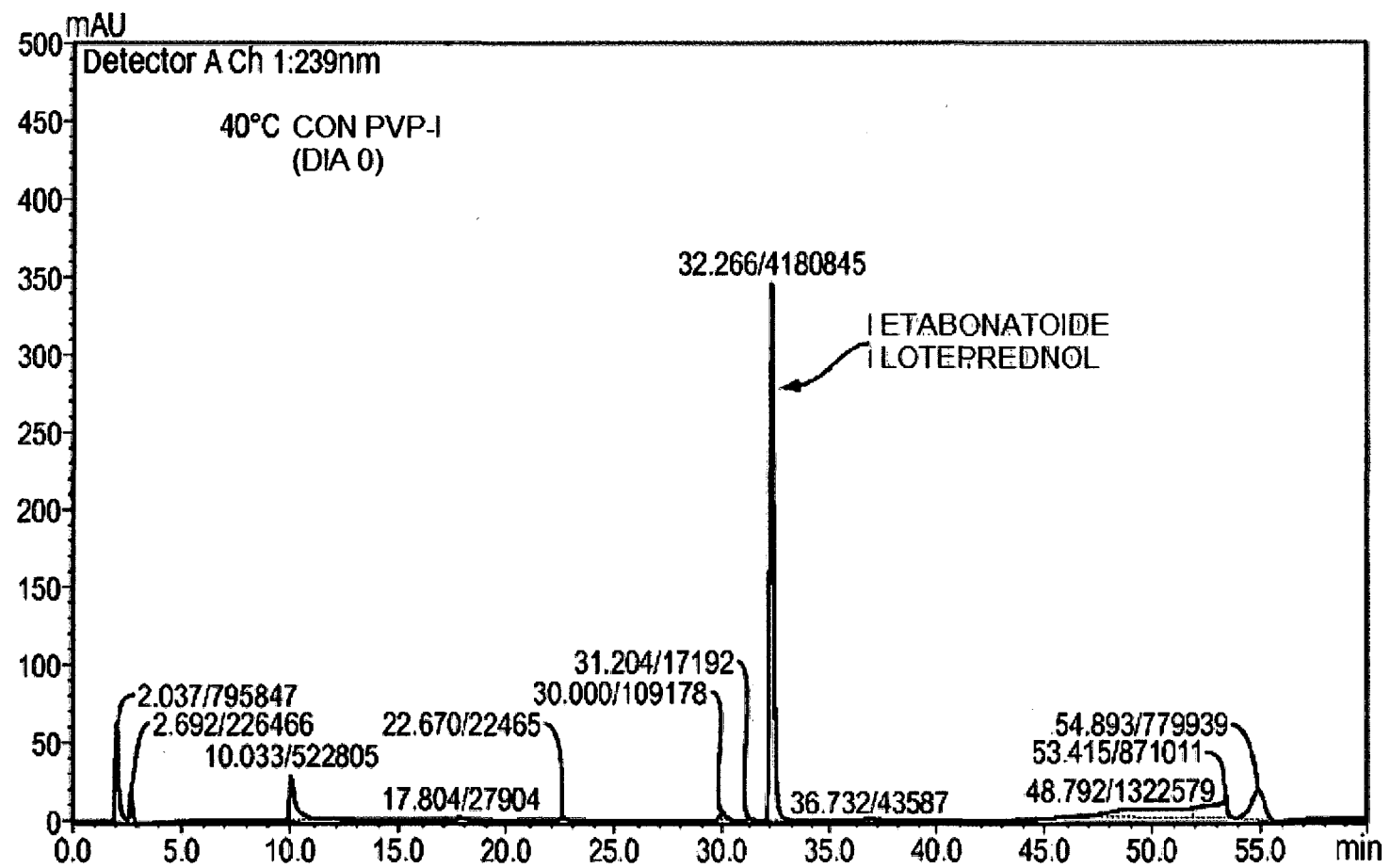


FIG. 29

Cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para dos semanas

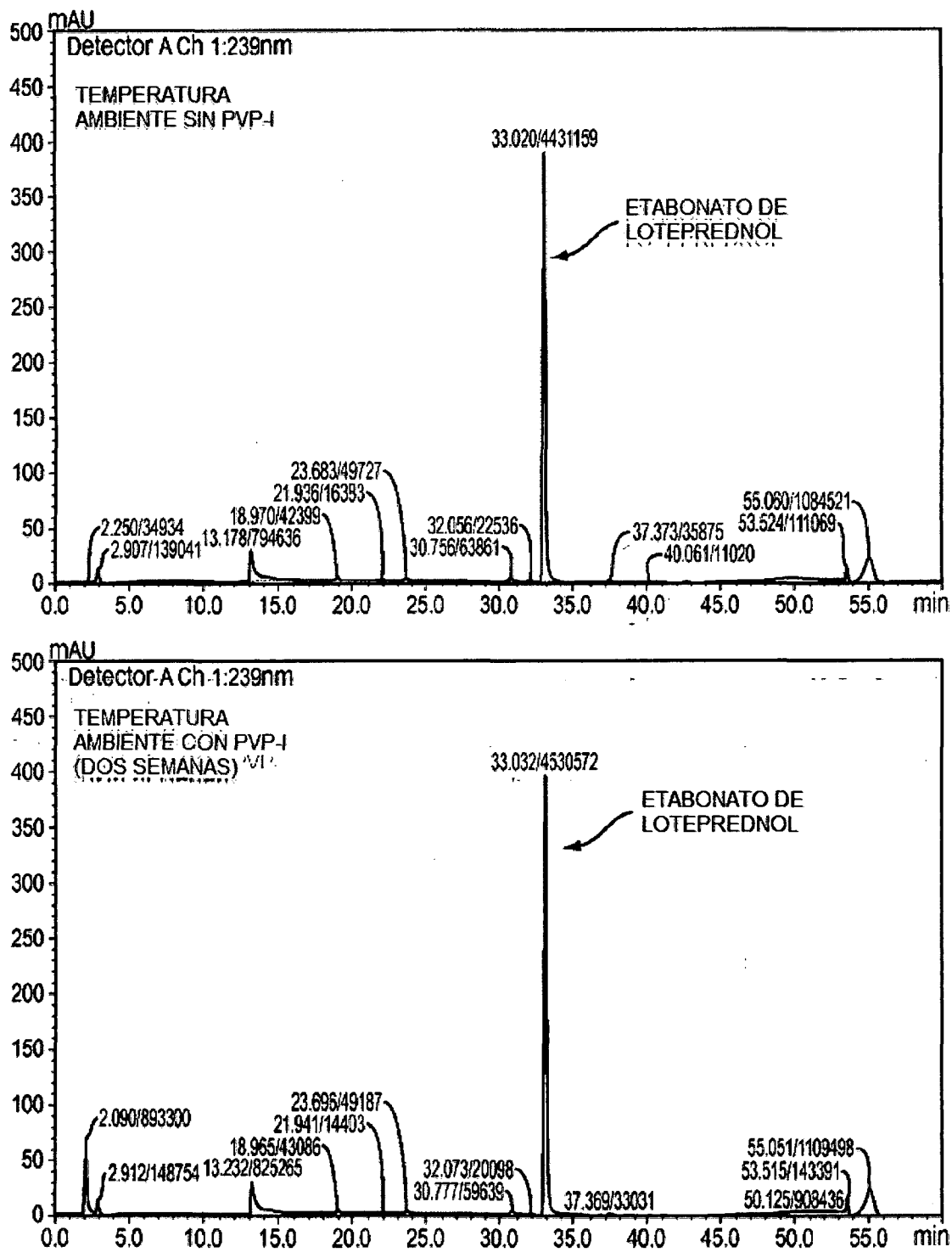


FIG. 30

Cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para dos semanas

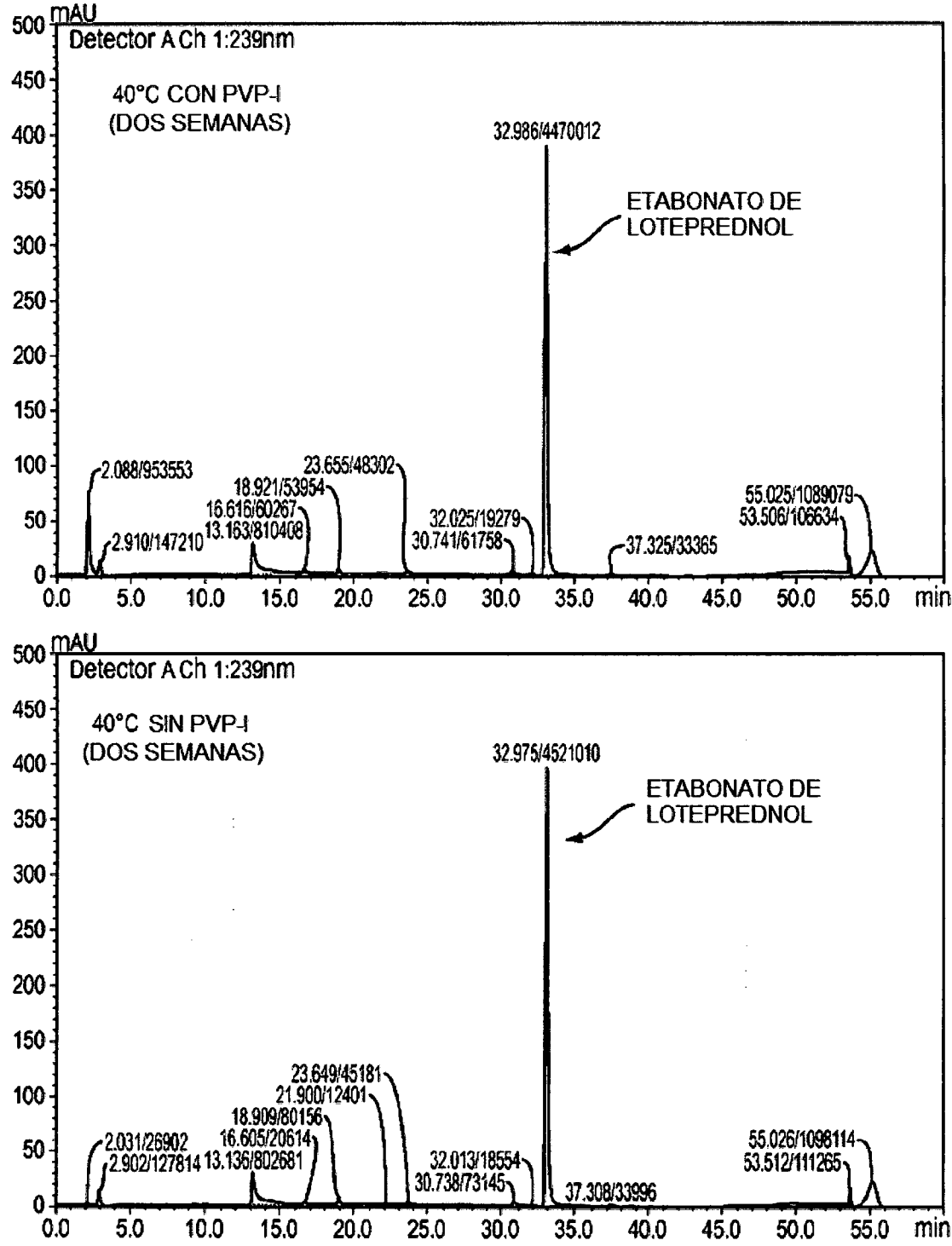


FIG. 31

Cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para un mes

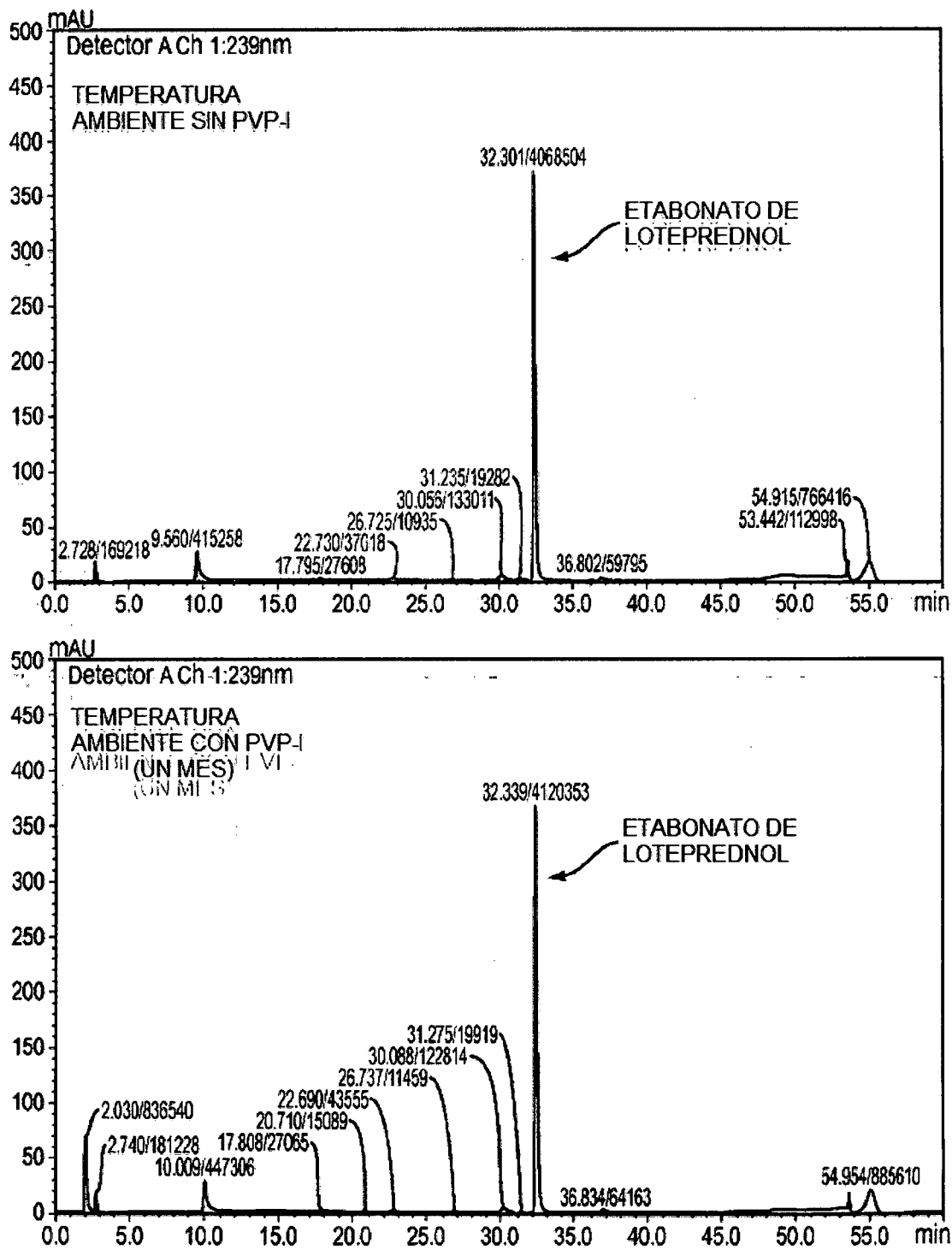


FIG. 32

111

Cromatogramas HPLC-UV del etabonato de loteprednol en PVP-I para un mes

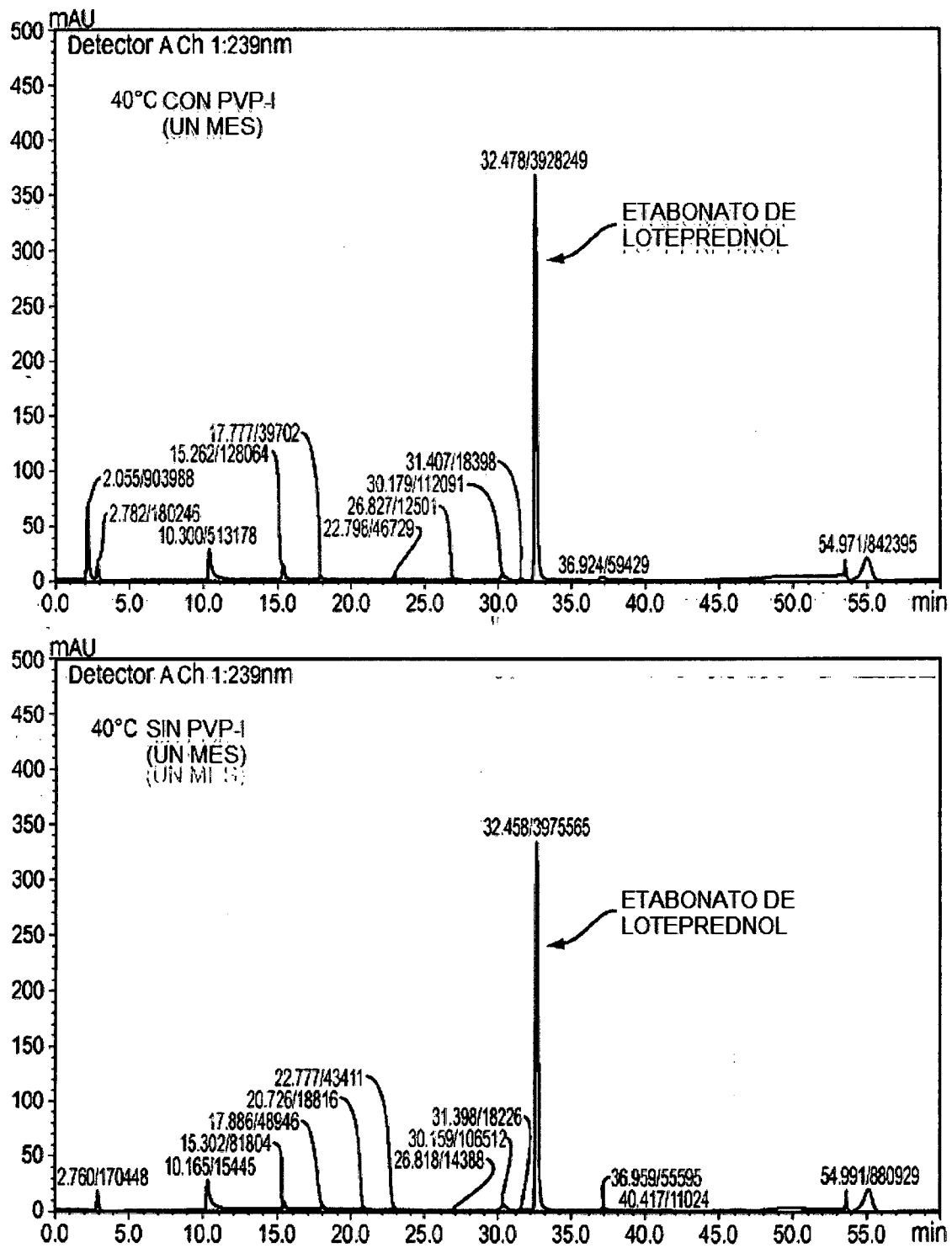


FIG. 33

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del etabonato de loteprednol
en referencia a muestras estándar

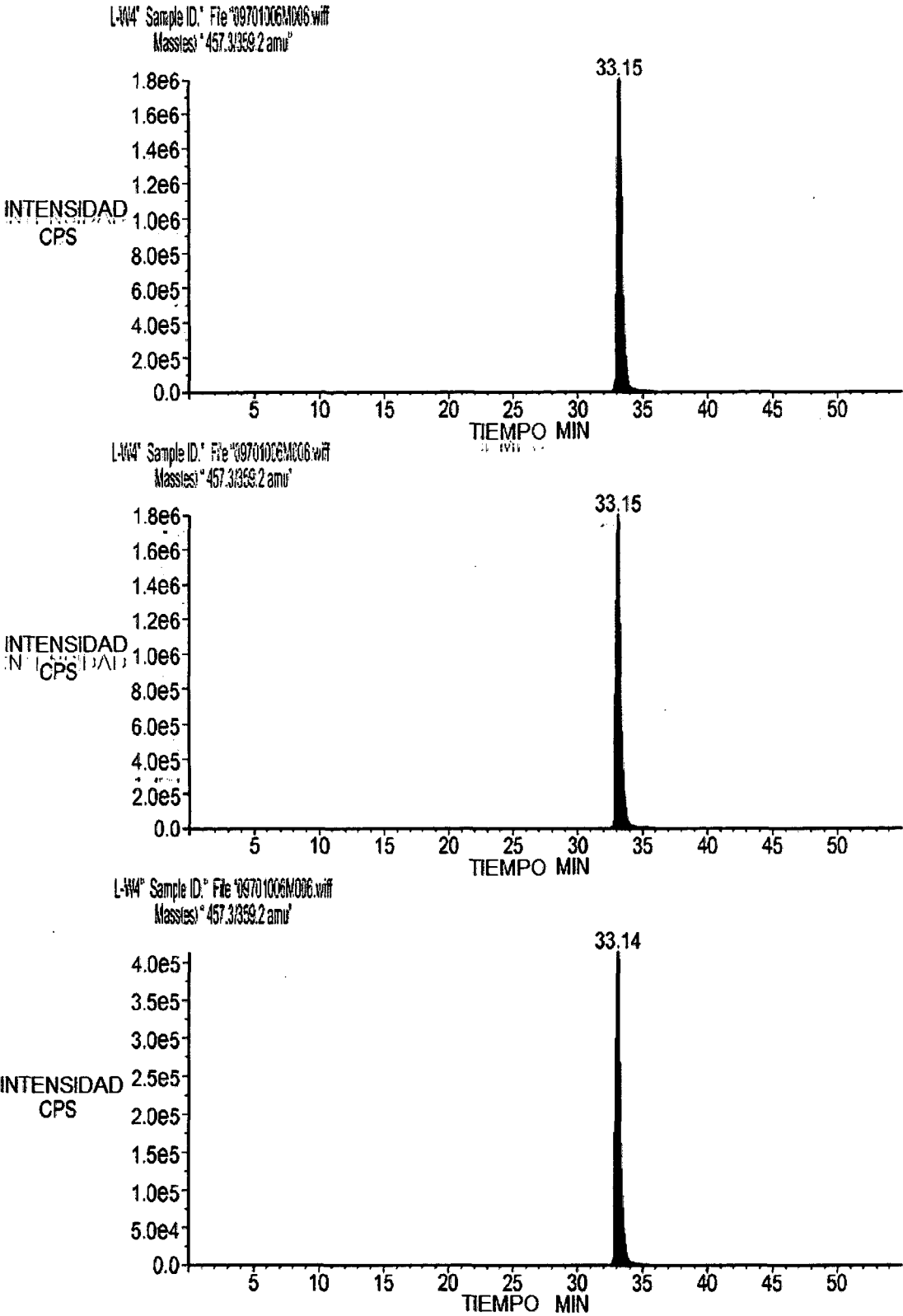


FIG. 34

cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del etabonato de loteprednol en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I

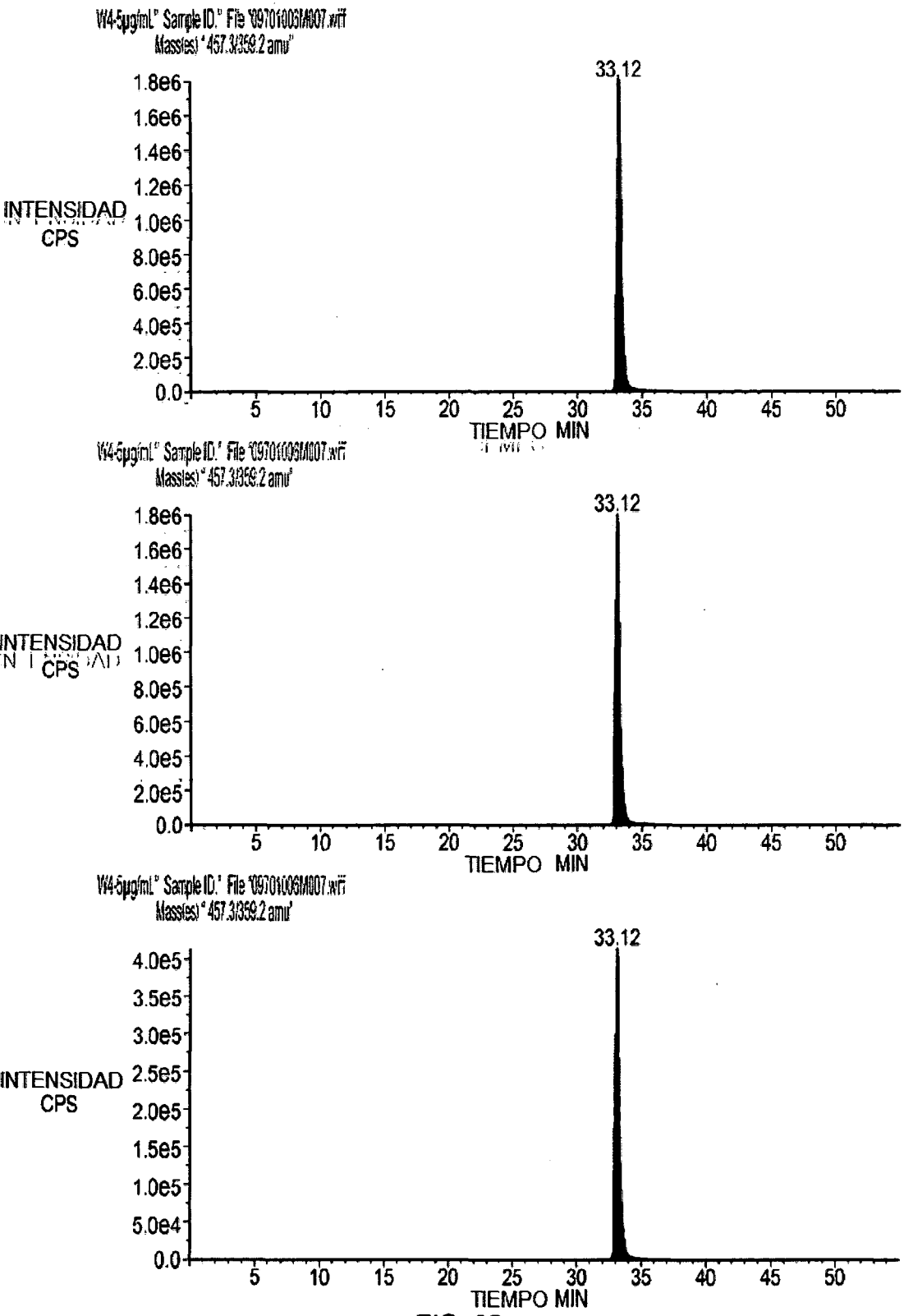
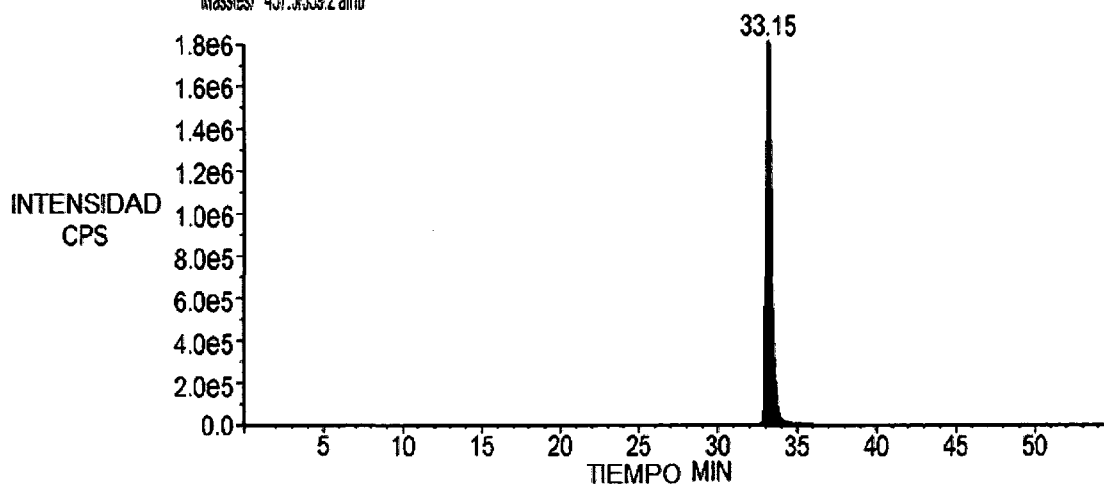


FIG. 35

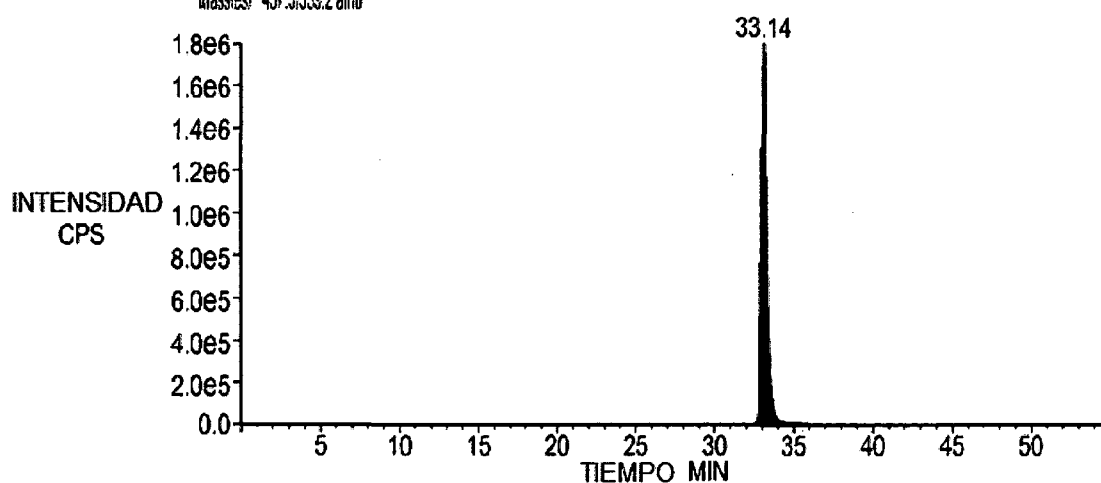
114

cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del etabonato de lomeprednol en una muestra para estabilidad de un mes a 40°C en la presencia de PVP-I

VIA-5µg/mL Sample ID: File 09701003M008.wiff
Mass(es): 457.31359.2 amu



VIA-5µg/mL Sample ID: File 09701003M008.wiff
Mass(es): 457.31359.2 amu



VIA-5µg/mL Sample ID: File 09701003M008.wiff
Mass(es): 457.31359.2 amu

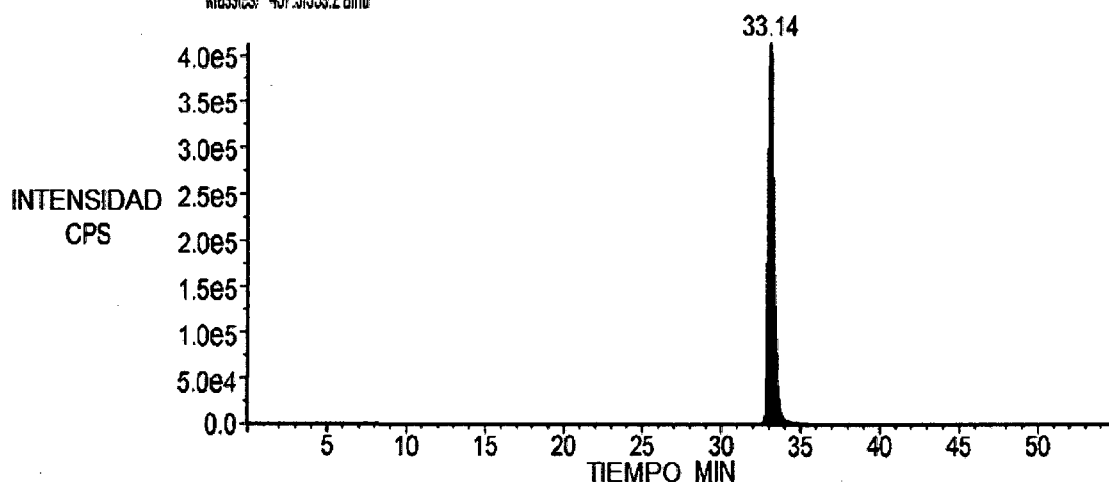


FIG. 36

cromatogramas HPLC-UV del PVP-I en una concentración de 400 µg/mL para el difluprednato

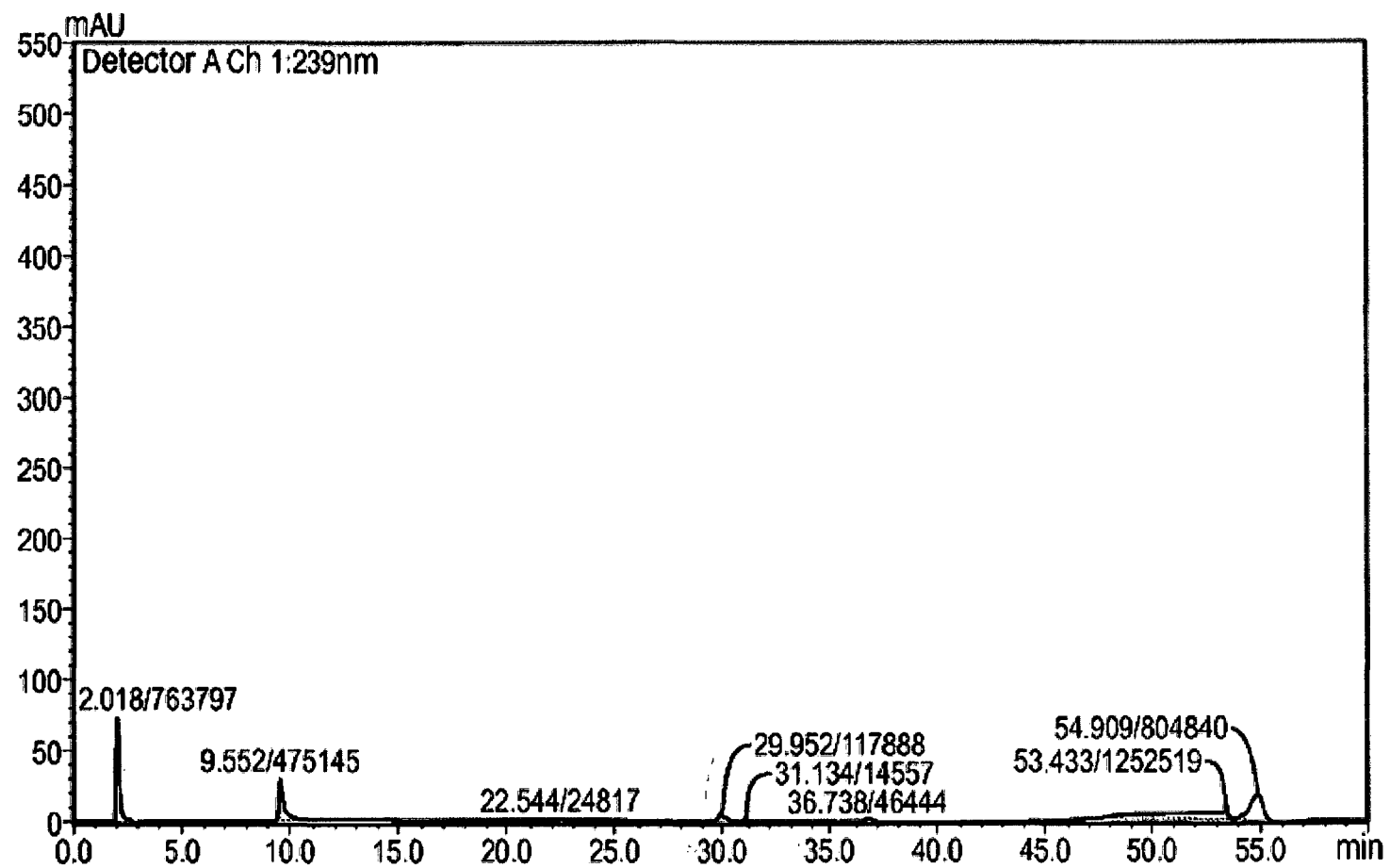


FIG. 37

215

Cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para el Día 0

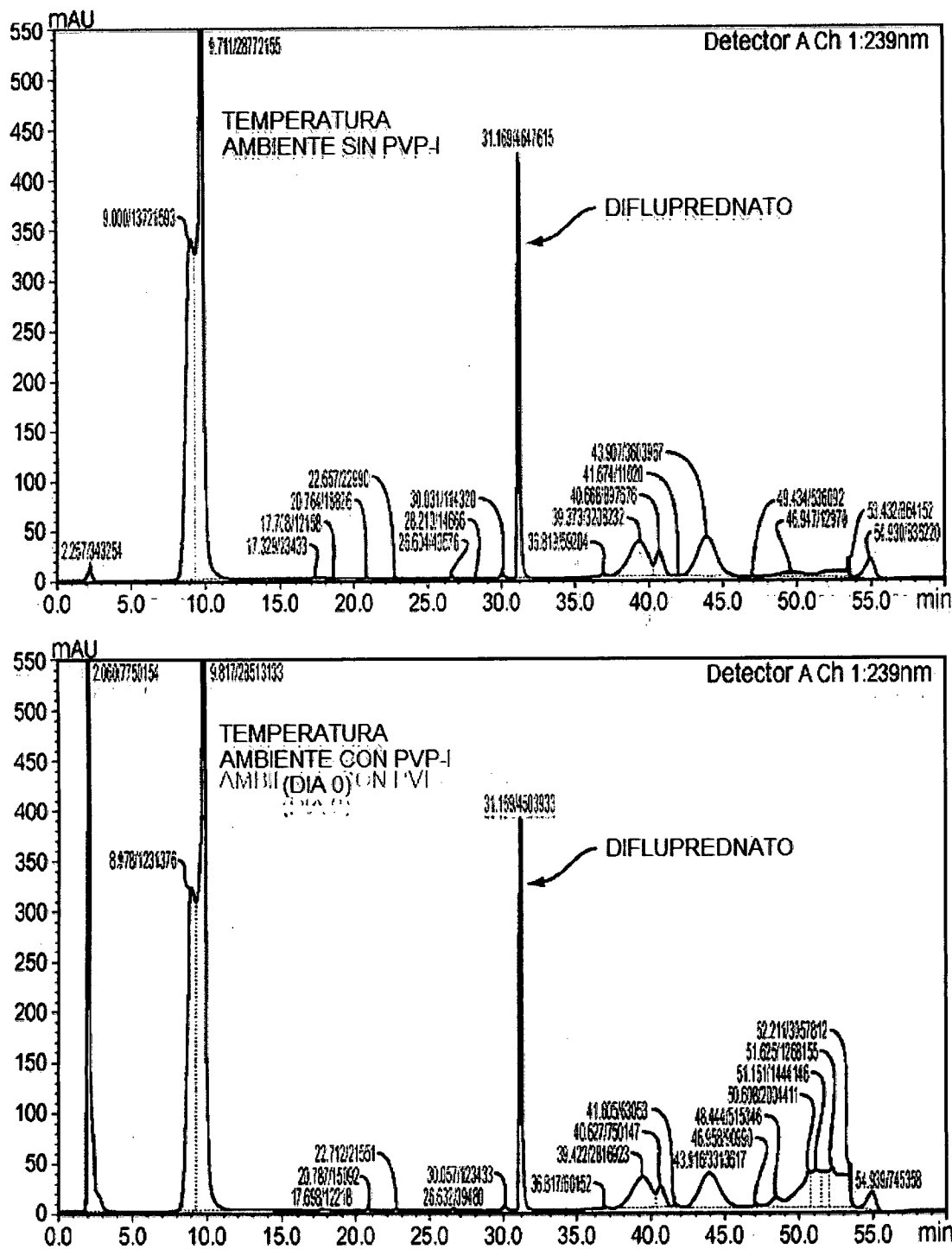


FIG. 38

cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para el Día 0

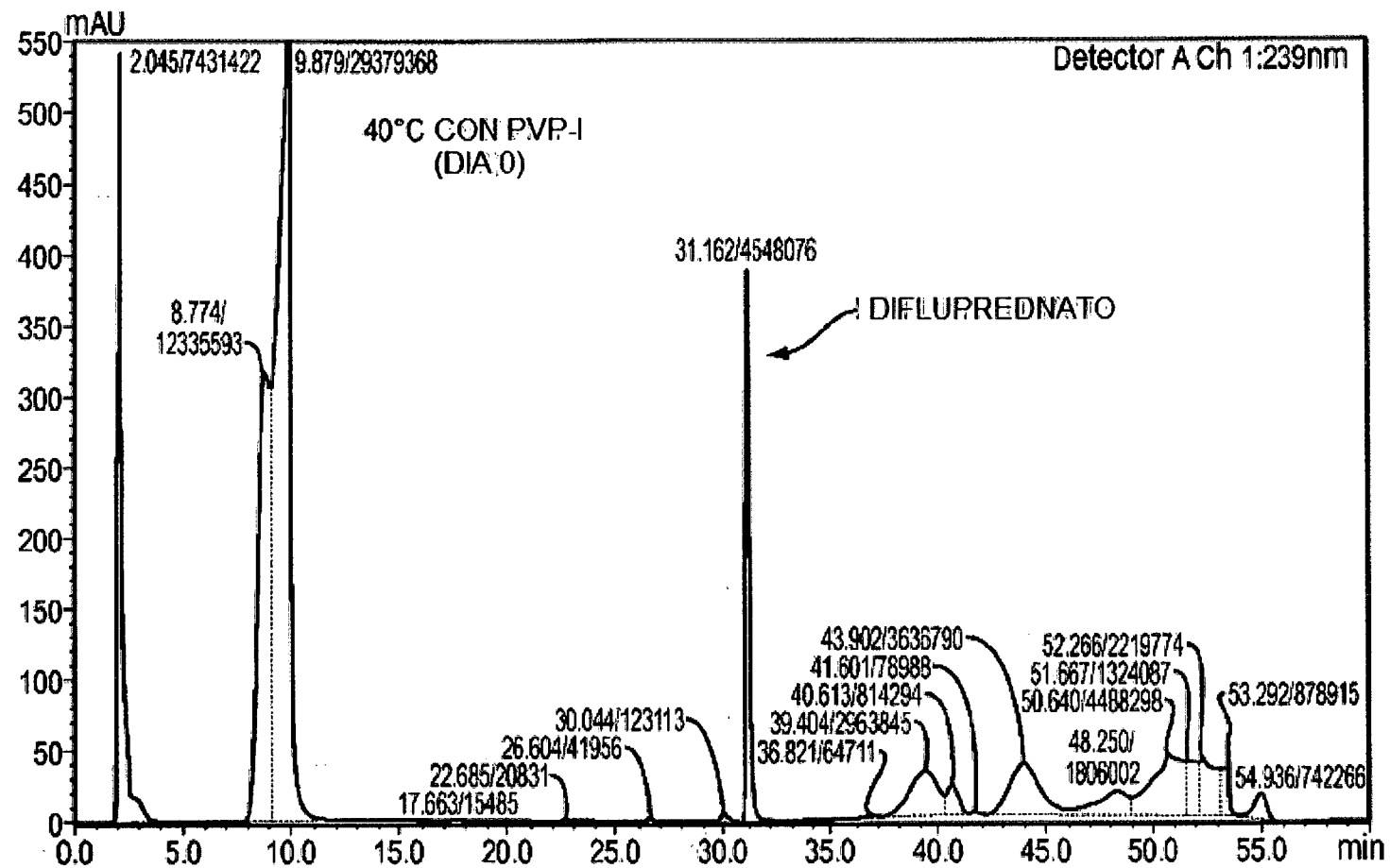


FIG. 39

Cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para dos semanas

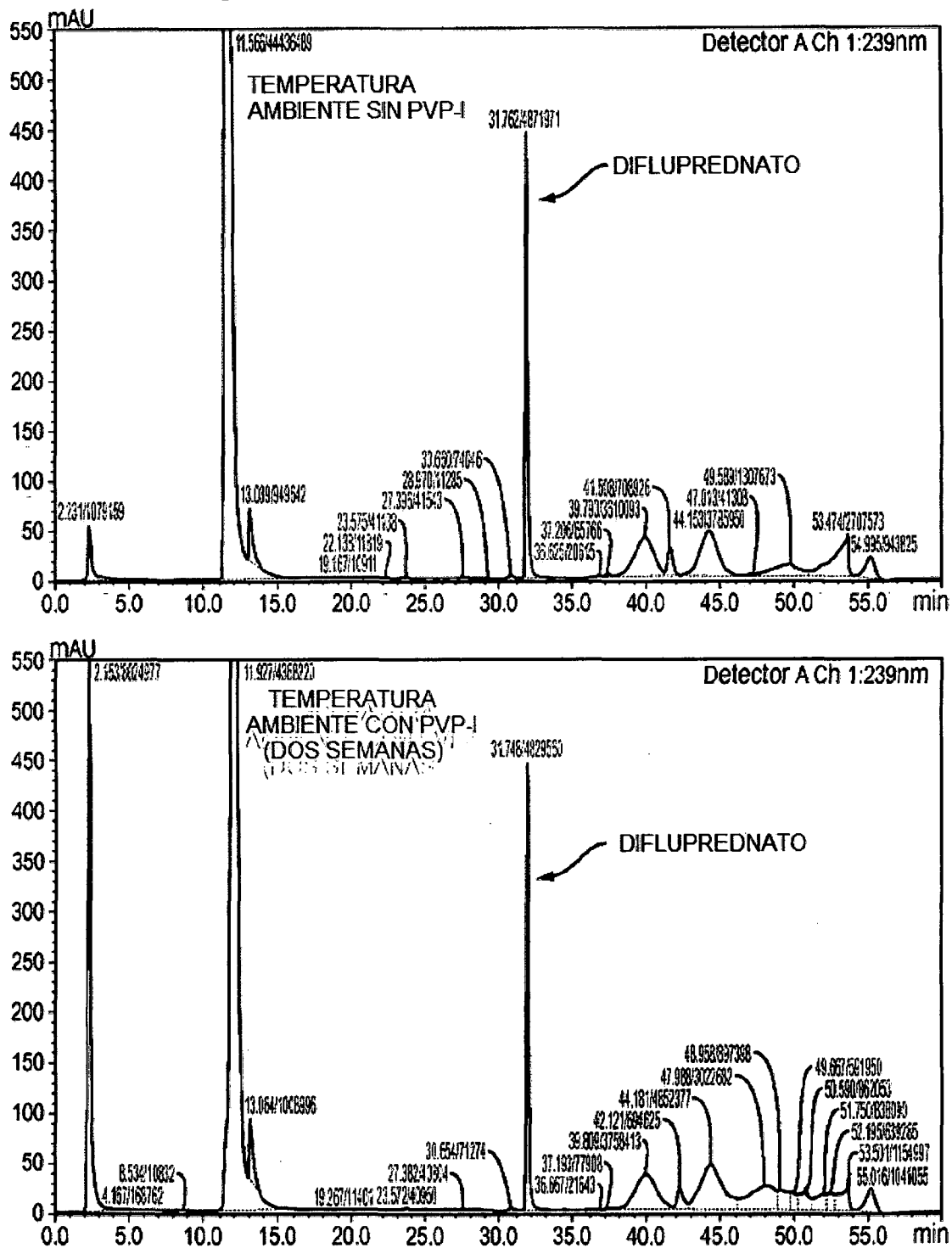


FIG. 40

cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para dos semanas

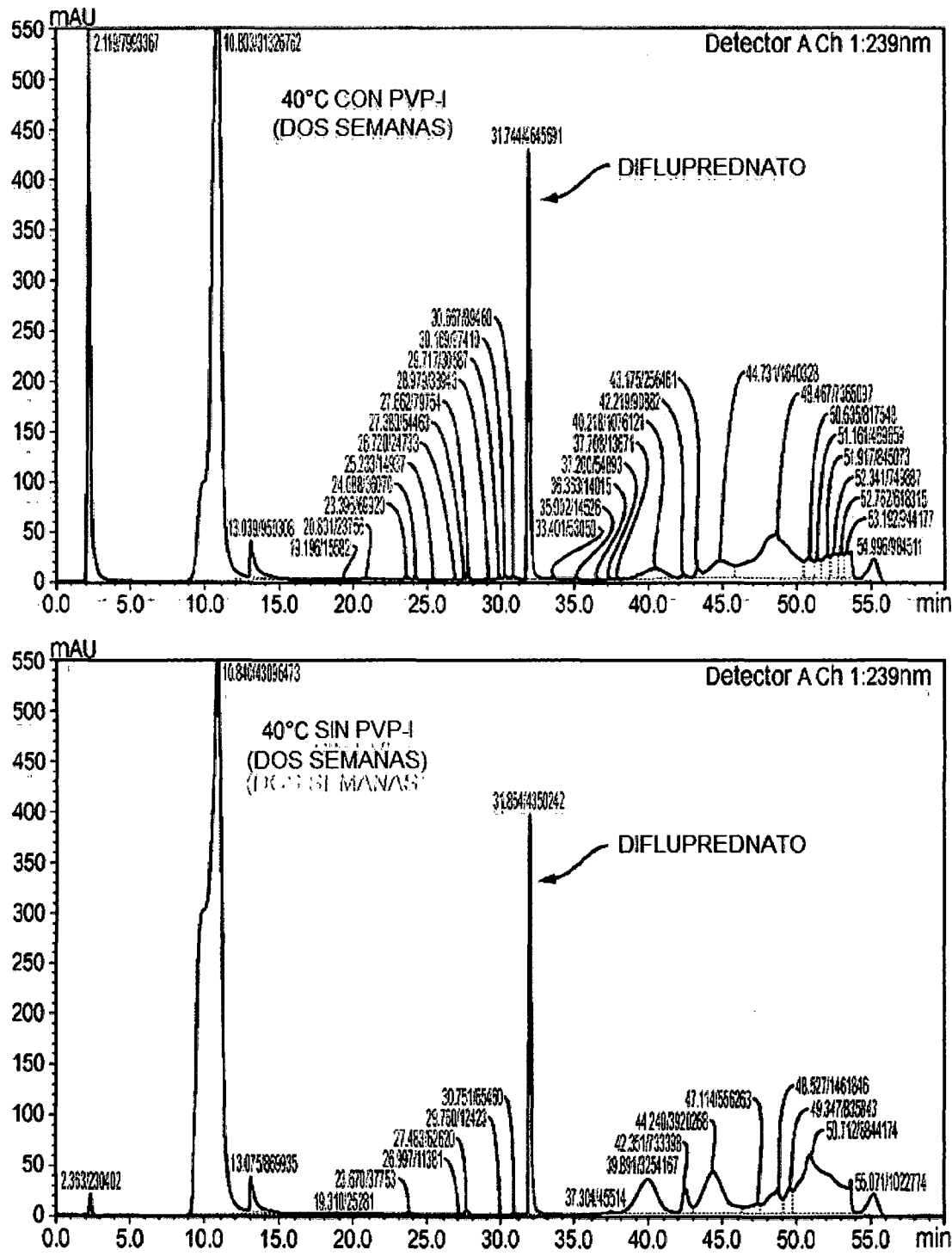


FIG. 41

cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para un mes

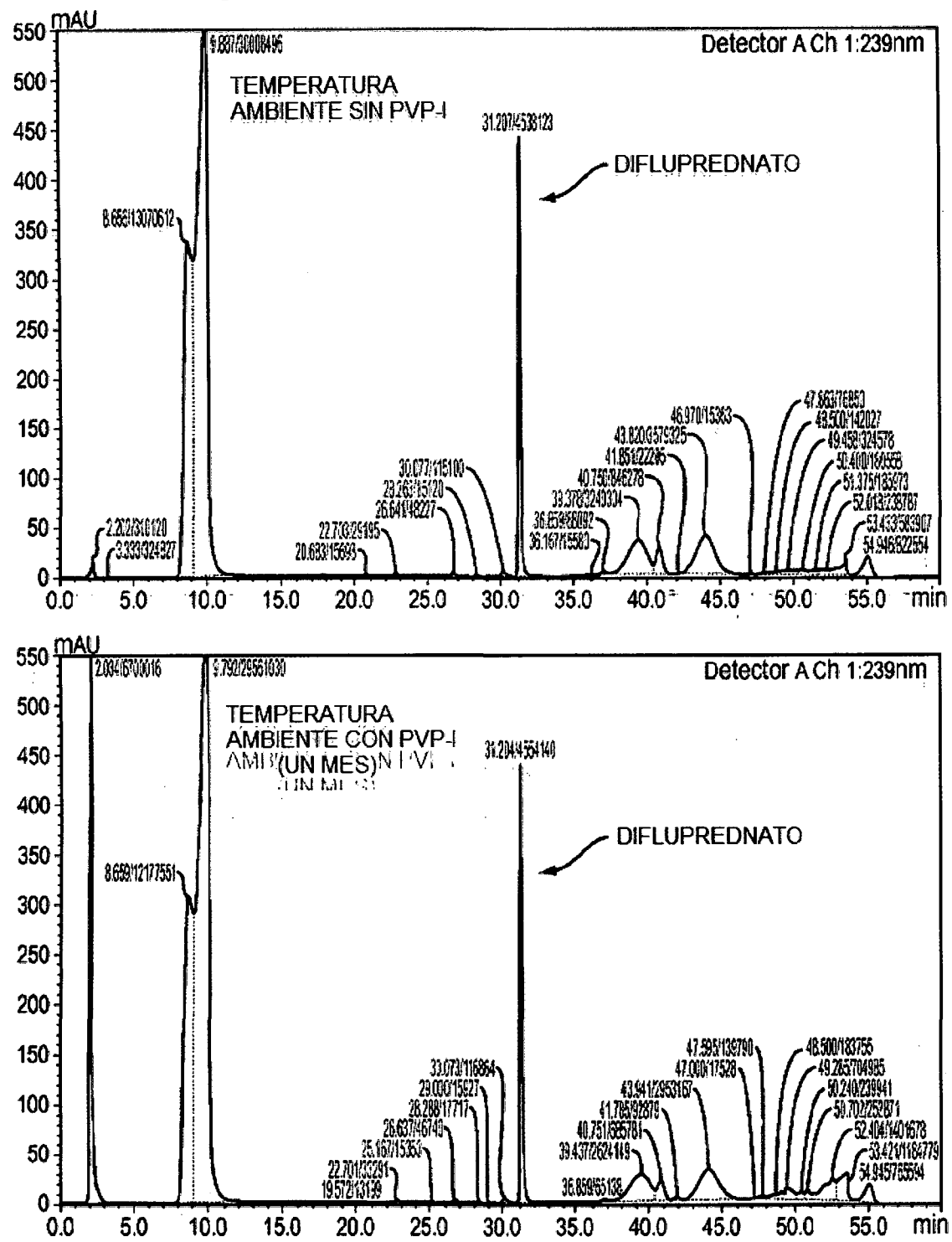


FIG. 42

Cromatogramas HPLC-UV del difluprednato en PVP-I para un mes

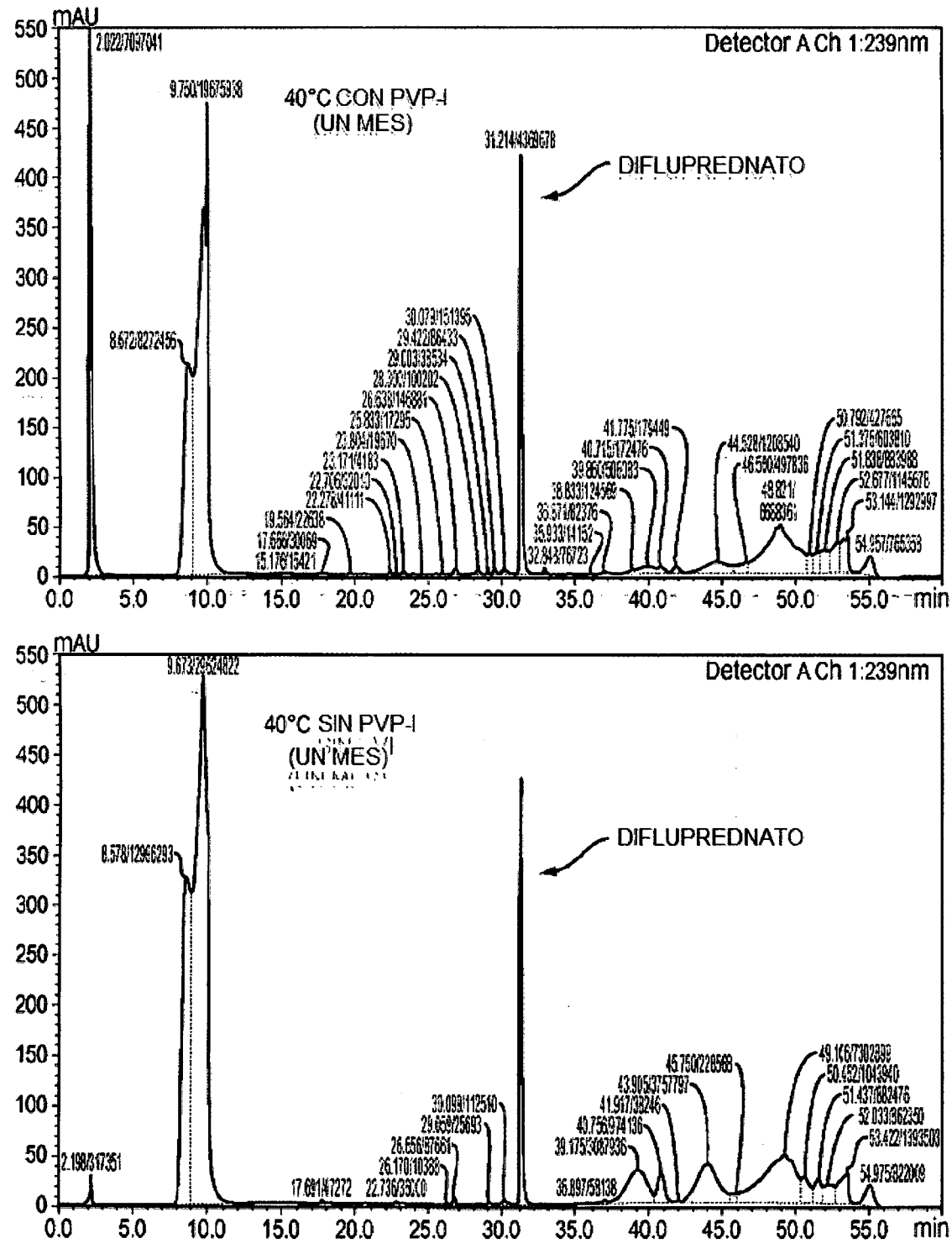
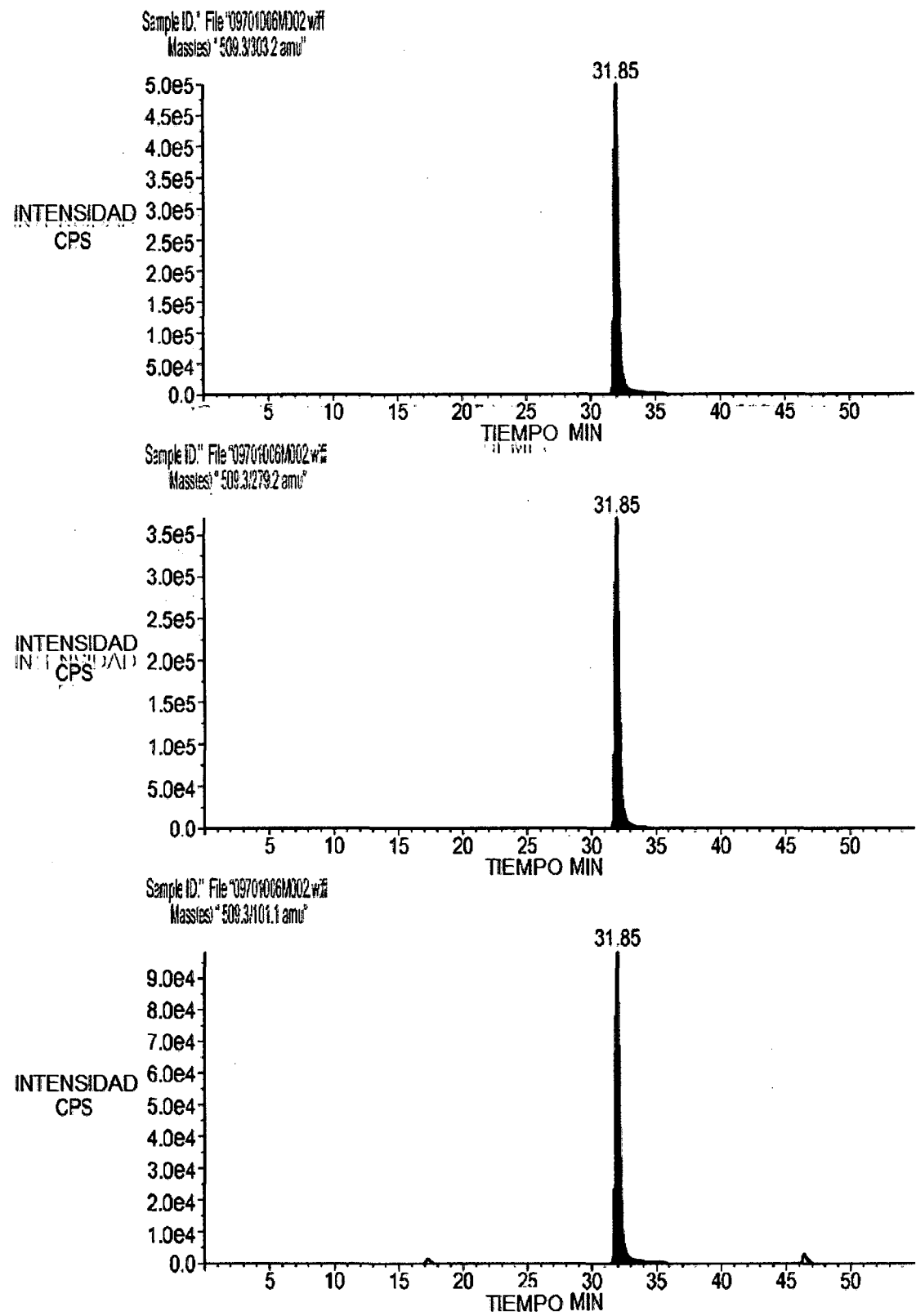
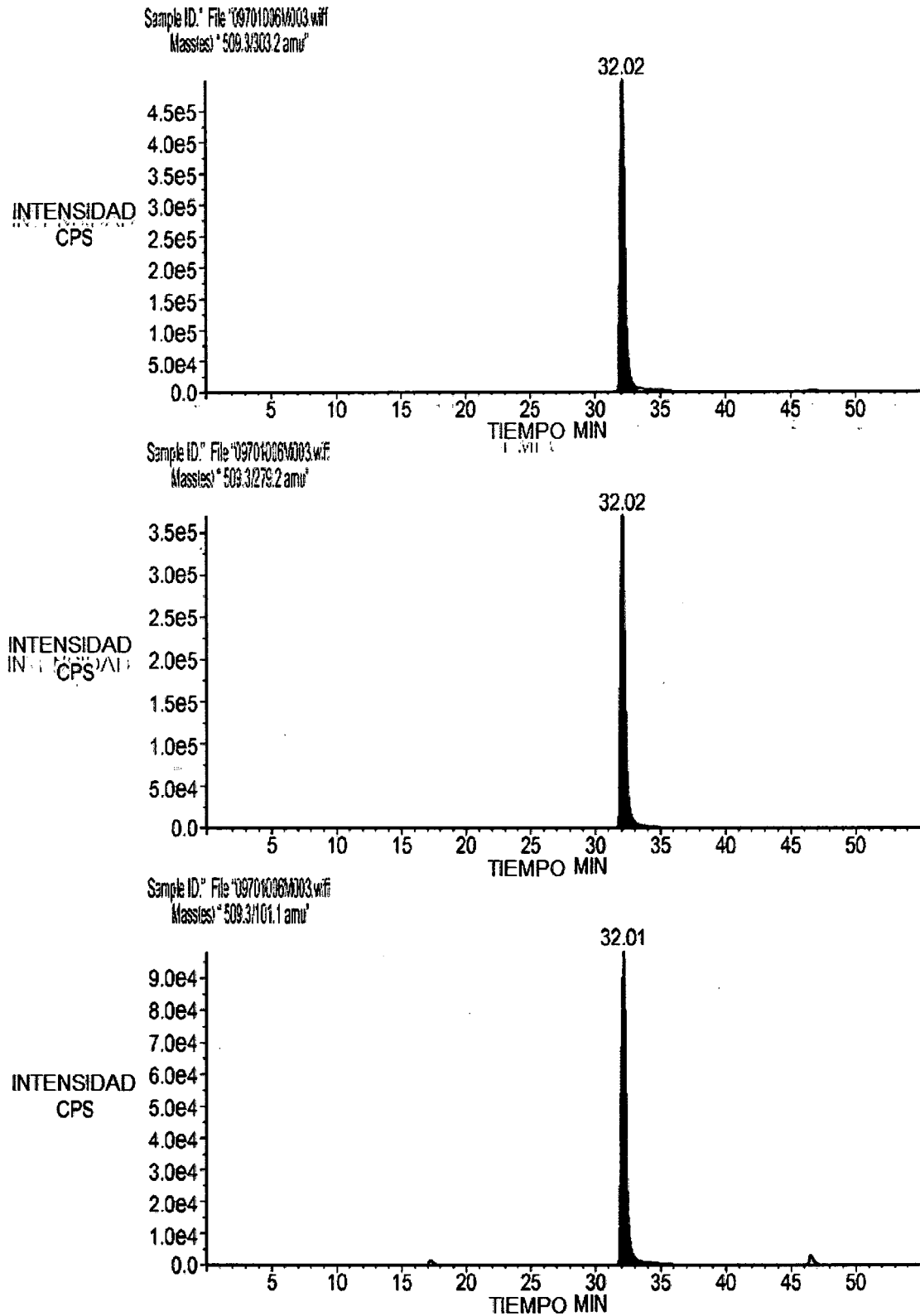


FIG. 43

Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del difluprednato en referencia a muestras estándar



Cromatogramas de masa ion (Modo MRM) del difluprednato en una muestra para estabilidad durante un mes a temperatura ambiente en la presencia de PVP-I

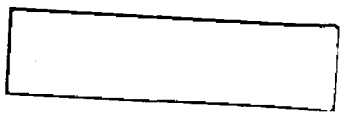


- (51) International Patent Classification:
A61K 31/74 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/US2012/037563
- (22) International Filing Date:
11 May 2012 (11.05.2012)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
61:485,475 12 May 2011 (12.05.2011) US
- (71) Applicant (for all designated States except US):
FORESIGHT BIOTHERAPEUTICS, INC. [US/US]; 50 W. 57th Street, 15th Floor, New York, NY 10019 (US).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): STEIN, Jason [US/US]; 500 E. 77th St, Apt. 1035, New York, NY 10162 (US). WEISER, Michael [US/US]; 1020 Park Ave, Apt. 3c, New York, NY 10028 (US). CAPRIOTTI, Joseph [US/US]; 6002 Diamond Ruby, Suite 3, PMB 137, Christiansted, Usvi 00820 (VI). LIANG, Bo [US/US]; Bromley Place, East Brunswick, NJ 08816 (US). SAMSON, C. Michael [US/US]; 630 1st Ave., 25K, New York, NY 10016 (US).
- (74) Agents: SOSSONG, Thomas, M., Jr. et al.; Morgan, Lewis & Bockius LLP, 1701 Market Street, Philadelphia, PA 19103 (US).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— with international search report (Art. 21(3))

WO 2012/155062 A1

(54) Title: STABLE POVIDONE-IODINE COMPOSITIONS WITH STEROIDS OR NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORIES

(57) Abstract: Disclosed are stable compositions comprising povidone-iodine and a steroid, and methods of making and using such compositions. Also disclosed herein are stable compositions comprising povidone-iodine and an NS AID, and methods of making and using such compositions.



125

TITLE

Stable Povidone-Iodine Compositions with Steroids or Non-Steroidal Anti-Inflammatories

BACKGROUND

Topical corticosteroids are routinely used to control ocular inflammation. Their mechanism of action involves the inhibition of the immune response and the subsequent tissue destruction that exuberant inflammation may cause. Corticosteroid has the undesirable side effect of limiting the body's intrinsic ability to fight infection. In fact, inopportune steroids usage can worsen the course of an infection secondary to mycobacteria, virus, or fungus. Thus, the use of a combined antimicrobial-steroid medication in ocular infections is recommended only under careful observation of a trained ophthalmologist because of these significant risks. In fact, TOBRADEX (Alcon), the most commonly prescribed combination ophthalmic antimicrobial-steroid drug, specifically lists 'viral disease of the cornea and conjunctiva, mycobacteria infection, and fungal infection' as absolute contraindications to its use. Clearly, these combination drugs were not intended to be used in the face of infectious conjunctivitis in which bacterial infection cannot be confirmed.

In U.S. Patent 7,767,217, it is shown that under certain specific conditions, dexamethasone can be combined with povidone-iodine (PVP-I) to form an effective antimicrobial-steroid pharmaceutical composition. However, it is also shown that most preparations which combine PVP-I (or iodine) with a steroid suffer from instability due, in part, to reactivity of the iodine with the steroid. In fact, U.S. Patent 3,886,268 demonstrates the well-known instability of steroid-iodine combinations.

BRIEF SUMMARY

In an embodiment, disclosed herein is an ophthalmic composition suitable for topical administration to an eye, effective for treatment and/or prophylaxis of a microorganism infection or a disorder of at least one tissue of the eye, comprising povidone-iodine in a concentration between 0.01% and 10%, and a steroid selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, hydrocortisone acetate, and combinations thereof.

In an embodiment, the povidone-iodine is between 0.1% and 2.5% by weight. In an embodiment, the povidone-iodine is between 0.5% and 2% by weight. In an embodiment, the total weight of the povidone-iodine and the steroid is between 0.1% and 4.5% in the solution. In an embodiment, the steroid is at a concentration of between 0.01 and 2%. In an embodiment, the steroid is at a concentration of between 0.05 and 1%.

In an embodiment, disclosed herein is a pharmaceutical composition comprising povidone-iodine in a concentration between 0.01% and 10%, and a steroid selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, and combinations thereof, wherein the steroid is at a concentration of between 0.05 and 1%. In an embodiment, the PVP-I is at a concentration of about 0.4%. In an embodiment, the steroid is at a concentration selected from the group consisting of about 0.1%, about 0.05% and about 0.005%.

In an embodiment, an ophthalmic composition further comprises a topical anesthetic which relieves pain. In an embodiment, a topical anesthetic is selected from the group consisting of proparacaine, lidocaine, tetracaine and a combination thereof.

In an embodiment, an ophthalmic composition further comprises a penetration enhancer which enhances the penetration of povidone-iodine into the tissues of the eye. In an embodiment, a penetration enhancer is a topical anesthetic.

In an embodiment, an ophthalmic composition further comprises an antimicrobial preservative. In an embodiment, the antimicrobial preservative is selected from the group consisting of benzalkonium chloride, thimerosal, chlorobutanol, methyl paraben, propyl paraben, phenylethyl alcohol, EDTA, sorbic acid, Onamer M and a combination thereof. In an embodiment, the antimicrobial preservative is at a concentration of about 0.001% to 1.0% by weight in said solution.

In an embodiment, an ophthalmic composition further comprises a co-solvent/surfactant. In an embodiment, the co-solvent/surfactant is selected from the group consisting of polysorbate 20, polysorbate 60, polysorbate 80, Pluronic F-68, Pluronic F-84, Pluronic P-103, cyclodextrin, tyloxapol and a combination thereof. In an embodiment, the co-solvent/surfactant is at a concentration of about 0.01% to 2% by weight in said composition.

In an embodiment, an ophthalmic composition further comprises viscosity increasing agent. In an embodiment, the viscosity increasing agent is selected from the group consisting of

polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrrolidone, methyl cellulose, hydroxy propyl methylcellulose, hydroxyethyl cellulose, carboxymethyl cellulose, hydroxy propyl cellulose, and a combination thereof. In an embodiment, the viscosity increasing agent is at a concentration of about 0.01% to 2% by weight in said solution.

In an embodiment, an ophthalmic composition suitable for topical administration to an eye, effective for treatment and/or prophylaxis of a microorganism infection or a disorder of at least one tissue of the eye, comprises povidone-iodine in a concentration between 0.01% and 10%, and bromfenac. In an embodiment, an ophthalmic composition comprises:

0.3 to 1% (w/w) polyvinylpyrrolidinone-iodine complex;

0.05 to 2% (w/w) bromfenac;

0.005% to 0.02% (w/w) EDTA;

0.01 to 0.5% (w/w) sodium chloride;

0.02 to 0.1% (w/w) tyloxapol;

0.5% to 2% (w/w) sodium sulfate; and

0.1 to 0.5% (w/w) hydroxyethylcellulose.

In an embodiment, an ophthalmic composition is in the form of a solution, suspension, emulsion, ointment, cream, gel, or a controlled-release/sustain-release vehicle.

In an embodiment, a microorganism treated or prevented by prophylaxis using a composition encompassed herein is selected from the group consisting of bacteria, viruses, fungi, and amoebae. In an aspect, bacteria is mycobacteria.

In an embodiment, a disorder treated using an ophthalmic composition encompassed herein is selected from the group consisting of a microorganism infection of at least one tissue of the eye, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis and herpesvirus-related keratitis.

In an embodiment, an ophthalmic composition is used for prophylaxis of infection following corneal abrasion or ocular surgery.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprises:

0.3 to 1% (w/w) polyvinylpyrrolidinone-iodine complex;

0.05 to 2% (w/w) steroid;

0.005% to 0.02% (w/w) EDTA;

128

0.01 to 0.5% (w/w) sodium chloride;
0.02 to 0.1% (w/w) tyloxapol;
0.5% to 2% (w/w) sodium sulfate; and
0.1 to 0.5% (w/w) hydroxyethylcellulose;

wherein the steroid is selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, hydrocortisone acetate, and combinations thereof.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprises:

0.4% (w/w) polyvinylpyrrolidinone-iodine complex;
0.1% (w/w) steroid;
0.01% (w/w) EDTA;
0.3% (w/w) sodium chloride salt;
0.05% (w/w) tyloxapol;
0.2% (w/w) sodium sulfate; and
0.25% (w/w) hydroxyethylcellulose;

wherein the steroid is selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, hydrocortisone acetate, and combinations thereof.

In an embodiment, an ophthalmic composition retains 95% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 95% of its steroid after a period of 1 month. In an embodiment, an ophthalmic composition retains 90% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 90% of its steroid after a period of 3 months. In an embodiment, an ophthalmic composition retains 90% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 90% of its steroid after a period of 1 month.

In an embodiment, an ophthalmic composition retains 95% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 95% of its NSAID after a period of 1 month. In an embodiment, an ophthalmic composition retains 90% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 90% of its NSAID after a period of 3 months. In an embodiment, an ophthalmic composition retains 90% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 90% of its NSAID after a period of 1 month.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising polyvinylpyrrolidinone-iodine (PVP-I) and at least one steroid retains about 89% of its PVP-I after a period of 1 month, about 90% of its PVP-I after a period of 1 month, about 91% of its PVP-I after a period of 1 month, about 92% of its PVP-I after a period of 1 month, about 93% of its PVP-I after a period of 1

month, about 94% of its PVP-I after a period of 1 month, about 94% of its PVP-I after a period of 1 month, about 95% of its PVP-I after a period of 1 month, about 96% of its PVP-I after a period of 1 month, about 97% of its PVP-I after a period of 1 month, about 98% of its PVP-I after a period of 1 month, or about 99% of its PVP-I after a period of 1 month.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising polyvinylpyrrolidinone-iodine (PVP-I) and at least one NSAID retains about 89% of its PVP-I after a period of 1 month, about 90% of its PVP-I after a period of 1 month, about 91% of its PVP-I after a period of 1 month, about 92% of its PVP-I after a period of 1 month, about 93% of its PVP-I after a period of 1 month, about 94% of its PVP-I after a period of 1 month, about 94% of its PVP-I after a period of 1 month, about 95% of its PVP-I after a period of 1 month, about 96% of its PVP-I after a period of 1 month, about 97% of its PVP-I after a period of 1 month, about 98% of its PVP-I after a period of 1 month, or about 99% of its PVP-I after a period of 1 month.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising polyvinylpyrrolidinone-iodine (PVP-I) and at least one steroid retains about 89% of its PVP-I after a period of 3 months, about 90% of its PVP-I after a period of 3 months, about 91% of its PVP-I after a period of 3 months, about 92% of its PVP-I after a period of 3 months, about 93% of its PVP-I after a period of 3 months, about 94% of its PVP-I after a period of 3 months, about 94% of its PVP-I after a period of 3 months, about 95% of its PVP-I after a period of 3 months, about 96% of its PVP-I after a period of 3 months, about 97% of its PVP-I after a period of 3 months, about 98% of its PVP-I after a period of 3 months, or about 99% of its PVP-I after a period of 3 months.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising polyvinylpyrrolidinone-iodine (PVP-I) and at least one NSAID retains about 89% of its PVP-I after a period of 3 months, about 90% of its PVP-I after a period of 3 months, about 91% of its PVP-I after a period of 3 months, about 92% of its PVP-I after a period of 3 months, about 93% of its PVP-I after a period of 3 months, about 94% of its PVP-I after a period of 3 months, about 94% of its PVP-I after a period of 3 months, about 95% of its PVP-I after a period of 3 months, about 96% of its PVP-I after a period of 3 months, about 97% of its PVP-I after a period of 3 months, about 98% of its PVP-I after a period of 3 months, or about 99% of its PVP-I after a period of 3 months.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising PVP-I and at least one steroid retains about 89% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 90% of its at least

one steroid after a period of 1 month, about 91% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 92% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 93% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 94% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 94% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 95% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 96% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 97% of its at least one steroid after a period of 1 month, about 98% of its at least one steroid after a period of 1 month, or about 99% of its at least one steroid after a period of 1 month.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising PVP-I and at least one NSAID retains about 89% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 90% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 91% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 92% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 93% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 94% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 94% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 95% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 96% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 97% of its at least one NSAID after a period of 1 month, about 98% of its at least one NSAID after a period of 1 month, or about 99% of its at least one NSAID after a period of 1 month.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising PVP-I and at least one steroid retains about 89% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 90% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 91% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 92% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 93% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 94% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 94% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 95% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 96% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 97% of its at least one steroid after a period of 3 months, about 98% of its at least one steroid after a period of 3 months, or about 99% of its at least one steroid after a period of 3 months.

In an embodiment, an ophthalmic composition comprising PVP-I and at least one NSAID retains about 89% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 90% of its at least

131

one NSAID after a period of 3 months, about 91% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 92% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 93% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 94% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 94% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 95% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 96% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 97% of its at least one NSAID after a period of 3 months, about 98% of its at least one NSAID after a period of 3 months, or about 99% of its at least one NSAID after a period of 3 months.

In an embodiment, an ophthalmic composition is an aqueous solution.

In an embodiment, a method is provided for treating and/or prophylaxis of an eye disorder or a microorganism infection of at least one tissue of the eye comprising the step of administering one of more doses of an ophthalmic composition encompassed herein to the eye. In an embodiment, the prophylaxis is prophylaxis of infection following corneal abrasion or ocular surgery. In an embodiment, the eye disorder is selected from the group consisting of a microorganism infection of at least one tissue of the eye, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis and herpesvirus-related keratitis. In an embodiment, the microorganism is a bacteria, virus, fungi, or amoebac. In an embodiment, the bacteria is mycobacteria.

In an embodiment, in a method of treatment, the sum of the povidone-iodine and the steroid is between 0.001 mg to 5 mg per dose. In an embodiment, in a method of treatment, each dose is between 10 microliters to 200 microliters. In an embodiment, in a method of treatment, each dose is between 50 microliters to 80 microliters. In an embodiment, in a method of treatment, the administering step comprises administering a composition encompassed herein to an eye one to four times a day. In an embodiment, in a method of treatment, the administering step comprises administering a composition encompassed herein to an eye one to twenty-four times a day. In an embodiment, in a method of treatment, the method includes storing the composition for at least one month, at least three months, at least six months, or at least 1 year before the administration step.

132

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

Figure 1 is an image depicting the HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS spectral data of dexamethasone phosphate.

Figure 2 is an image depicting the HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS spectral data of prednisolone acetate.

Figure 3 is an image depicting the HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS spectral data of loteprednol etabonate.

Figure 4 is an image depicting the HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS spectral data of difluprednate.

Figure 5 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of PVP-I at the concentration of 200 µg/mL for dexamethasone sodium phosphate.

Figure 6 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for Day 0.

Figure 7 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of dexamethasone sodium phosphate.

Figure 8 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for two weeks.

Figure 9 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for two weeks.

Figure 10 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for one month.

Figure 11 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for one month.

Figure 12 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms (expanded) of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for one month.

Figure 13 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms (expanded) of dexamethasone sodium phosphate in PVP-I for one month.

Figure 14 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of dexamethasone sodium phosphate in reference standard samples.

Figure 15 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of dexamethasone sodium phosphate in one month room temperature stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 16 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of dexamethasone sodium phosphate in one month 40°C stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 17 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of PVP-I at the concentration of 20 µg/mL for prednisolone acetate.

Figure 18 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of prednisolone acetate in PVP-I for Day 0.

Figure 19 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of prednisolone acetate in PVP-I for Day 0.

Figure 20 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of prednisolone acetate in PVP-I for two weeks.

Figure 21 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of prednisolone acetate in PVP-I for two weeks.

Figure 22 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of prednisolone acetate in PVP-I for one month.

Figure 23 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of prednisolone acetate in PVP-I for one month.

Figure 24 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of prednisolone acetate in reference standard samples.

Figure 25 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of prednisolone acetate in one month room temperature stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 26 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of prednisolone acetate in one month 40°C stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 27 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of PVP-I at the concentration of 40 µg/mL for loteprednol etabonate.

Figure 28 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of loteprednol etabonate in PVP-I for Day 0.

Figure 29 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of loteprednol etabonate in PVP-I for Day 0.

Figure 30 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of loteprednol etabonate in PVP-I for two weeks.

Figure 31 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of loteprednol etabonate in PVP-I for two weeks.

Figure 32 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of loteprednol etabonate in PVP-I for one month.

Figure 33 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of loteprednol etabonate in PVP-I for one month.

Figure 34 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of loteprednol etabonate in reference standard samples.

Figure 35 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of loteprednol etabonate in one month room temperature stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 36 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of loteprednol etabonate in one month 40°C stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 37 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of PVP-I at the concentration of 400 µg/mL for difluprednate.

Figure 38 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of difluprednate in PVP-I for Day 0.

Figure 39 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of difluprednate in PVP-I for Day 0.

Figure 40 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of difluprednate in PVP-I for two weeks.

Figure 41 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of difluprednate in PVP-I for two weeks.

Figure 42 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of difluprednate in PVP-I for one month.

Figure 43 is an image depicting the HPLC/UV chromatograms of difluprednate in PVP-I for one month.

Figure 44 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of difluprednate in reference standard samples.

Figure 45 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of difluprednate in one month room temperature stability sample in the presence of PVP-I.

Figure 46 is an image depicting the mass ion chromatograms (MRM Mode) of difluprednate in one month 40°C stability sample in the presence of PVP-I.

DETAILED DESCRIPTION

It is known that iodine, including preparations of PVP-I, reacts chemically with various steroids when combined with a steroid, resulting in an unstable composition, due in part to reactivity of the iodine with the steroid. U.S. Patent 3,886,268 demonstrates the well-known instability of steroid-iodine combinations. It is also known that certain non-steroidal anti-inflammatory compounds ("NSAIDS") also react with iodine. However, U.S. Patent 7,767,217, incorporated herein by reference in its entirety, illustrates that under certain specific conditions, dexamethasone, for example, can be combined with PVP-I to form an effective antimicrobial-steroid pharmaceutical composition. U.S. Provisional Patent Application No. 61/485,475, to which the present application claims priority, is also incorporated herein by reference in its entirety.

Compositions

In an embodiment, compositions disclosed herein comprise PVP-I and a steroid. In an embodiment, compositions disclosed herein comprise PVP-I and an NSAID. In another embodiment, a composition disclosed herein is a pharmaceutical composition. In another embodiment, a composition disclosed herein is an ophthalmic composition.

The invention provides, in part, compositions comprising PVP-I in the range of about 0.01% to about 10% (weight/weight or weight/volume) and a steroid at a concentration of about 0.001% to about 10%. The invention also provides, in part, ophthalmic compositions comprising povidone-iodine in the range of about 0.01% to about 10% (weight/weight or weight/volume) and a therapeutically effective amount of a steroid at a concentration of about 0.001% to about

10%. The invention provides, in part, compositions comprising PVP-I in the range of about 0.01% to about 10% (weight/weight or weight/volume) and an NSAID at a concentration of about 0.001% to about 10%. The invention also provides, in part, ophthalmic compositions comprising povidone-iodine in the range of about 0.01% to about 10% (weight/weight or weight/volume) and a therapeutically effective amount of an NSAID at a concentration of about 0.001% to about 10%.

The affinity of free iodine for reaction with --OH, --SH and --NH functional groups is well described in the literature and forms the basis for the anti-microbial activity of iodine-containing solutions (Rackur H. J. Hosp. Infect., 1985; 6: 13-23, and references therein). Dexamethasone, (9-Fluoro-11.beta., 17, 21-trihydroxy-16.alpha.-methylpregna-1, 4-diene-3, 20-dione) for example, contains three such moieties (--OH) at the 11, 17 and 21 positions. The skilled artisan would conclude that these hydroxyl groups would be prone to covalent substitution reactions by the free iodine generated in the solution equilibrium reaction described above for PVP-I.

In preparing the present compositions, experiments of combinations of various steroids and PVP-I, as well as combinations of various NSAIDS and PVP-I, were performed. It was observed that many formulations were unsuccessful because of the rapid reaction between PVP-I and the added steroid. It was surprising to discover that separate solutions of PVP-I and prednisolone acetate, PVP-I and loteprednol etabonate, PVP-I and hydrocortisone acetate, and PVP-I and difluprednate demonstrate unexpected stability, based on what was previously known in the art. It was also surprising to discover that solutions of PVP-I and bromfenac demonstrate unexpected stability, based on what was previously known in the art. In an embodiment, a combination of PVP-I and one of the steroids or NSAIDS identified above each remains stable for a month or longer.

In an embodiment, a composition comprises PVP-I and prednisolone acetate. In another embodiment, a composition is a pharmaceutical composition comprising PVP-I and prednisolone acetate. In another embodiment, a composition is an ophthalmic preparation comprising PVP-I and prednisolone acetate.

In an embodiment, a composition comprises PVP-I and loteprednol etabonate. In another embodiment, a composition is a pharmaceutical composition comprising PVP-I and loteprednol etabonate. In another embodiment, a composition is an ophthalmic preparation comprising PVP-I and loteprednol etabonate.

In an embodiment, a composition comprises PVP-I and hydrocortisone acetate. In another embodiment, a composition is a pharmaceutical composition comprising PVP-I and hydrocortisone acetate. In another embodiment, a composition is an ophthalmic preparation comprising PVP-I and hydrocortisone acetate.

In an embodiment, a composition comprises PVP-I and difluprednate. In another embodiment, a composition is a pharmaceutical composition comprising PVP-I and difluprednate. In another embodiment, a composition is an ophthalmic preparation comprising PVP-I and difluprednate.

In an embodiment, a composition comprises PVP-I and bromfenac. In another embodiment, a composition is a pharmaceutical composition comprising PVP-I and bromfenac. In another embodiment, a composition is an ophthalmic preparation comprising PVP-I and bromfenac.

Percentages for components of compositions are provided herein as weight/weight (w/w), unless otherwise indicated. For example, 0.6% PVP-I indicates 0.6% PVP-I by weight, with respect to the total weight of 100% for a composition.

In an embodiment, a composition comprises povidone-iodine (PVP-I) at a concentration in the range of about 0.1% to about 2.5%. In another embodiment, a composition comprises povidone-iodine (PVP-I) at a concentration in the range between 0.2 and 1.5%, and in yet another embodiment, between 0.3% and 1.0%. In an embodiment, a composition comprises PVP-I at a concentration in the range of about 0.2 to about 2.0%, about 0.3% to about 1.5%, about 0.36% to about 1.0%, and about 0.4% to about 0.75%. In an embodiment, a composition comprises PVP-I at a concentration of about 0.05%, about 0.1%, about 0.2%, about 0.3%, about 0.4%, about 0.5%, about 0.6%, about 0.7%, about 0.8%, about 0.9% or about 1.0%. In an

embodiment, a composition comprises povidone-iodine PVP-I at a concentration of 0.05%, 0.1%, 0.15%, 0.2%, 0.25%, 0.3%, 0.35%, 0.4%, 0.45%, 0.5%, 0.55%, 0.6%, 0.65%, 0.7%, 0.75%, 0.8%, 0.85%, 0.9%, 0.95%, or 1.0%. In another embodiment, a composition comprises PVP-I at a concentration of about 2%, about 3%, about 4%, about 5%, about 6%, about 7%, about 8%, about 9% or about 10%. In another embodiment, a composition comprises PVP-I at a concentration of about 2% or less, about 3% or less, about 4% or less, about 5% or less, about 6% or less, about 7% or less, about 8% or less, about 9% or less or about 10% or less. In another embodiment, a composition comprises PVP-I at a concentration of about 1% or more, about 2% or more, about 3% or more, about 4% or more, about 5% or more, about 6% or more, about 7% or more, about 8% or more, about 9% or more or about 10% or more. In another embodiment, a composition comprises PVP-I at a concentration of 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% or 10%.

Compositions disclosed herein may comprise one or more steroids. Steroids include, but are not limited to, dexamethasone, dexamethasone alcohol, dexamethasone sodium phosphate, fluomethalone acetate, fluormethalone acetate, fluomethalone alcohol, lotoprednol etabonate, medrysone, prednisolone acetate, prednisolone sodium phosphate, difluprednate, rimexolone, hydrocortisone, hydrocortisone acetate, lodoxamide tromethamine, and any combinations thereof. In an embodiment, a steroid is present in the composition at a level of about 0.001% to about 10%. In an embodiment, a steroid is present in the composition or preparation at a level of 0.001%, 0.002%, 0.003%, 0.004%, 0.005%, 0.006%, 0.007%, 0.008%, 0.009%, 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1.0%, 1.1%, 1.2%, 1.3%, 1.4%, 1.5%, 1.6%, 1.7%, 1.8%, 1.9%, or 2.0%. In an embodiment, a steroid is present in the composition or preparation at a level of about 0.001%, about 0.002%, about 0.003%, about 0.004%, about 0.005%, about 0.006%, about 0.007%, about 0.008%, about 0.009%, about 0.01%, about 0.02%, about 0.03%, about 0.04%, about 0.05%, about 0.06%, about 0.07%, about 0.08%, about 0.09%, about 0.1%, about 0.2%, about 0.3%, about 0.4%, about 0.5%, about 0.6%, about 0.7%, about 0.8%, about 0.9%, about 1.0%, about 1.1%, about 1.2%, about 1.3%, about 1.4%, about 1.5%, about 1.6%, about 1.7%, about 1.8%, about 1.9%, or about 2.0%. In an embodiment, a steroid is present in the composition or preparation at a level of about 0.001% or less, about 0.002% or less, about 0.003% or less, about 0.004% or less, about 0.005% or less, about 0.006% or less, about 0.007%

or less, about 0.008% or less, about 0.009% or less, about 0.01% or less, about 0.02% or less, about 0.03% or less, about 0.04% or less, about 0.05% or less, about 0.06% or less, about 0.07% or less, about 0.08% or less, about 0.09% or less, about 0.1% or less, about 0.2% or less, about 0.3% or less, about 0.4% or less, about 0.5% or less, about 0.6% or less, about 0.7% or less, about 0.8% or less, about 0.9% or less, about 1.0% or less, about 1.1% or less, about 1.2% or less, about 1.3% or less, about 1.4% or less, about 1.5% or less, about 1.6% or less, about 1.7% or less, about 1.8% or less, about 1.9% or less, or about 2.0% or less. In an embodiment, a steroid is present in the composition or preparation at a level of about 0.001% or more, about 0.002% or more, about 0.003% or more, about 0.004% or more, about 0.005% or more, about 0.006% or more, about 0.007% or more, about 0.008% or more, about 0.009% or more, about 0.01% or more, about 0.02% or more, about 0.03% or more, about 0.04% or more, about 0.05% or more, about 0.06% or more, about 0.07% or more, about 0.08% or more, about 0.09% or more, about 0.1% or more, about 0.2% or more, about 0.3% or more, about 0.4% or more, about 0.5% or more, about 0.6% or more, about 0.7% or more, about 0.8% or more, about 0.9% or more, about 1.0% or more, about 1.1% or more, about 1.2% or more, about 1.3% or more, about 1.4% or more, about 1.5% or more, about 1.6% or more, about 1.7% or more, about 1.8% or more, about 1.9% or more, or about 2.0% or more.

Compositions disclosed herein may comprise one or more NSAIDS. NSAIDS include, but are not limited to, bromfenac, ketorolac, nepafenac, ketotifen fumarate, diclofenac sodium, flurbiprofen sodium, ketorlac tromethamine, suprofen, celecoxib, naproxen, rofecoxib, and any combinations thereof. In an embodiment, an NSAID is present in the composition at a level of about 0.001% to about 10%. In an embodiment, an NSAID is present in the composition or preparation at a level of 0.001%, 0.002%, 0.003%, 0.004%, 0.005%, 0.006%, 0.007%, 0.008%, 0.009%, 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%, 0.8%, 0.9%, 1.0%, 1.1%, 1.2%, 1.3%, 1.4%, 1.5%, 1.6%, 1.7%, 1.8%, 1.9%, or 2.0%. In an embodiment, an NSAID is present in the composition or preparation at a level of about 0.001%, about 0.002%, about 0.003%, about 0.004%, about 0.005%, about 0.006%, about 0.007%, about 0.008%, about 0.009%, about 0.01%, about 0.02%, about 0.03%, about 0.04%, about 0.05%, about 0.06%, about 0.07%, about 0.08%, about 0.09%, about 0.1%, about 0.2%, about 0.3%, about 0.4%, about 0.5%, about 0.6%,

about 0.7%, about 0.8%, about 0.9%, about 1.0%, about 1.1%, about 1.2%, about 1.3%, about 1.4%, about 1.5%, about 1.6%, about 1.7%, about 1.8%, about 1.9%, or about 2.0%. In an embodiment, an NSAID is present in the composition or preparation at a level of about 0.001% or less, about 0.002% or less, about 0.003% or less, about 0.004% or less, about 0.005% or less, about 0.006% or less, about 0.007% or less, about 0.008% or less, about 0.009% or less, about 0.01% or less, about 0.02% or less, about 0.03% or less, about 0.04% or less, about 0.05% or less, about 0.06% or less, about 0.07% or less, about 0.08% or less, about 0.09% or less, about 0.1% or less, about 0.2% or less, about 0.3% or less, about 0.4% or less, about 0.5% or less, about 0.6% or less, about 0.7% or less, about 0.8% or less, about 0.9% or less, about 1.0% or less, about 1.1% or less, about 1.2% or less, about 1.3% or less, about 1.4% or less, about 1.5% or less, about 1.6% or less, about 1.7% or less, about 1.8% or less, about 1.9% or less, or about 2.0% or less. In an embodiment, an NSAID is present in the composition or preparation at a level of about 0.001% or more, about 0.002% or more, about 0.003% or more, about 0.004% or more, about 0.005% or more, about 0.006% or more, about 0.007% or more, about 0.008% or more, about 0.009% or more, about 0.01% or more, about 0.02% or more, about 0.03% or more, about 0.04% or more, about 0.05% or more, about 0.06% or more, about 0.07% or more, about 0.08% or more, about 0.09% or more, about 0.1% or more, about 0.2% or more, about 0.3% or more, about 0.4% or more, about 0.5% or more, about 0.6% or more, about 0.7% or more, about 0.8% or more, about 0.9% or more, about 1.0% or more, about 1.1% or more, about 1.2% or more, about 1.3% or more, about 1.4% or more, about 1.5% or more, about 1.6% or more, about 1.7% or more, about 1.8% or more, about 1.9% or more, or about 2.0% or more.

The compositions disclosed herein can be administered as solutions, suspensions, emulsions (dispersions), gels, creams, or ointments in a suitable ophthalmic vehicle. In any of the compositions of this disclosure for topical administration, such as topical administration to the eye, the mixtures are preferably formulated as aqueous solutions at a pH of 3.5 to 6.5. Preferentially the pH is adjusted to between 4 and 5. This pH range may be achieved by the addition of acids/bases to the solution.

In an embodiment, an ophthalmic composition may comprise an optional co-solvent. In another embodiment, the solubility of the components of the present compositions may be enhanced by a surfactant or other appropriate co-solvent in the composition. Such co-solvents or

141

surfactants include polysorbate -20, -60, and -80, a polyoxyethylene/polyoxypropylene surfactant (e.g. Pluronic F-68, F-84 and P-103), cyclodextrin, tyloxapol, PEG 35 Castor oil (Cremophor EL), polyoxyl 40 Stearate (Myrj 52), other agents known to those skilled in the art, or a combination thereof. Typically, such co-solvents are present at a level of from about 0.01% to about 2% by weight. In an embodiment, a co-solvent is present at a level of about 0.01%, about 0.02%, about 0.03%, about 0.04%, about 0.05%, about 0.06%, about 0.07%, about 0.08%, about 0.09%, about 0.1%, about 0.2%, about 0.3%, about 0.4%, about 0.5%, about 0.6%, about 0.7%, about 0.8%, about 0.9%, about 1.0%, about 1.1%, about 1.2%, about 1.3%, about 1.4%, about 1.5%, about 1.6%, about 1.7%, about 1.8%, about 1.9%, or about 2.0%.

In an embodiment, a composition may comprise an optional agent that can increase viscosity. As will be understood by the skilled artisan when armed with the present disclosure, it may be desirable to increase viscosity above that of a simple aqueous solution in order to increase ocular absorption of the active compound, to decrease variability in dispensing the formulation, to decrease physical separation of components of a suspension or emulsion of the formulation and/or to otherwise improve the ophthalmic formulation. Such viscosity-enhancing agents include, but are not limited to, polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrrolidone, methyl cellulose, hydroxypropylmethyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, carboxymethyl cellulose, hydroxypropyl cellulose, other agents known to those skilled in the art, or any combination thereof. Such agents are typically employed at a level of from about 0.01% to about 2% by weight. In an embodiment, such optional agents are present at about 0.01%, about 0.02%, about 0.03%, about 0.04%, about 0.05%, about 0.06%, about 0.07%, about 0.08%, about 0.09%, about 0.1%, about 0.2%, about 0.3%, about 0.4%, about 0.5%, about 0.6%, about 0.7%, about 0.8%, about 0.9%, about 1.0%, about 1.1%, about 1.2%, about 1.3%, about 1.4%, about 1.5%, about 1.6%, about 1.7%, about 1.8%, about 1.9%, or about 2.0%.

In another aspect, bioadhesive agents may comprise the compositions, in order to increase the retention time of the drug gradient over a biological substrate. The bioadhesive agents include, but are not limited to, polyvinylpyrrolidone (PVP), xanthan gum, locust bean gum, acacia gum, hydroxypropyl methylcellulose (HPMC), sodium alginate, pectin, gelatin, carbomer, polyvinylalcohol, gellan gum, tragacanth, acacia, and sodium carboxymethyl cellulose, as well as other agents known to those skilled in the art, or any combination thereof.

In yet another embodiment, compositions of the invention may comprise viscoelastic agents such as methyl cellulose, carboxymethyl cellulose, hydroxyethyl cellulose, polyvinyl alcohol, dextran, chondroitin sulfate and salts thereof, and hyaluronic acid and salts thereof.

In an embodiment, an ophthalmic composition may further comprise one or more of (1) a penetration enhancer which enhances the penetration of povidone-iodine into the tissues of the eye (this may be a topical anesthetic) (2) a co-solvent or a nonionic surface agent - surfactant, which, for example, may be about 0.01% to 2% by weight; (3) a viscosity increasing agent, which, for example, may be about 0.01% to 2% by weight; and (4) a suitable ophthalmic vehicle.

The ophthalmic composition may be in the form of a solution, a suspension, an emulsion, a preparation, an ointment, a cream, a gel, or a controlled-release/sustain-release vehicle. By way of a non-limiting example, the composition may be in the form of a contact lens solution, eyewash, eyedrop, and the like.

Methods

In an embodiment, compositions disclosed herein are useful for preparation of and use as pharmaceutical compositions. In another embodiment, compositions disclosed herein are useful for preparation of and use as compositions other than pharmaceutical compositions.

In an embodiment, compositions disclosed herein are useful for preparation of and use as ophthalmic compositions. In an aspect, a composition of the invention is useful in the treatment of infections of the conjunctiva and cornea. In another aspect, the broad spectrum antimicrobial activity of povidone-iodine enables a composition of the invention to be used to treat ocular conjunctival or corneal infection caused by mycobacteria, viruses, fungi, and amoeba. Additionally the composition is useful in the infectious prophylaxis of patients recovering from ophthalmic surgery.

In an embodiment, an ophthalmic composition is provided that is suitable for topical administration to an eye, effective for treatment and/or prophylaxis of a microorganism infection or a disorder of at least one tissue of the eye. Prophylaxis may be, for example, prophylaxis from infection following surgery, prophylaxis from infection after birth for the newborn, or

prophylaxis from accidental contact with contaminating material. Accidental contact with contaminating material may occur, for example, during surgery or during food processing.

In an aspect, the ophthalmic composition may be used for treatment and/or prophylaxis of a microorganism infection. The microorganism may be a bacterium, a virus, a fungus, or an amoeba, a parasite, or a combination thereof. In an embodiment, the bacteria may be a mycobacterium.

In an aspect, an ophthalmic composition may be used to treat a disorder such as, but not limited to, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis, herpesvirus-related keratitis, ocular surface irregularity, tear deficiency, dry syndrome, meibomian gland dysfunction, blepharitis and uveitis. In another aspect, an ophthalmic composition may be used for prophylaxis of disorders such as conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis, herpesvirus-related keratitis, ocular surface irregularity, tear deficiency, dry syndrome, meibomian gland dysfunction, blepharitis and uveitis.

In another embodiment, the invention is directed to a method for treating and/or prophylaxis of an eye disorder or a microorganism infection of at least one tissue of the eye comprising the step of administering one or more doses of an ophthalmic composition, discussed above, to the eye. The eye disorder may be, for example, a microorganism infection of at least one tissue of the eye, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis, herpes virus-related keratitis, ocular surface irregularity, tear deficiency, dry syndrome, meibomian gland dysfunction, and blepharitis. The microorganism may be bacteria (e.g., mycobacteria), virus, fungi, or amoebae.

In an embodiment, the dose volume administered to a subject may be between about 10 microliters and about 200 microliters, in another embodiment, between about 20 microliters and 100 microliters, and in another embodiment, between about 50 microliters and about 80 microliters, or about one drop per eye. Two or more drops may be added to an eye. Treatment of an eye may be effected by adding a single drop of composition disclosed herein, or by adding two or more drops, as required to achieve the desired result.

In an embodiment, administration frequency may be between 1 and 24 times a day. In an embodiment, administration frequency may be between 1 and 48 times a day. In another

144

embodiment, administration frequency may be between 2 and 24 times a day. In another embodiment, administration frequency may be between 2 and 4 times a day. In another embodiment, administration frequency may be twice a day. In another embodiment, administration frequency may be once a day. In another embodiment, administration frequency may be less frequent than once a day. In another embodiment, administration frequency may be on demand, as therapeutic treatment is required or desired. In another embodiment, administration frequency may be 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 48, or 96 times a day.

In an embodiment, a composition disclosed herein is used for prophylaxis and/or treatment of a non-ophthalmic tissue by contacting the tissue with the composition.

The invention is further described by the following examples. It should be recognized that variations based on the inventive features are within the skill of the ordinary artisan, and that the scope of the invention should not be limited by the examples. To properly determine the scope of the present disclosure, an interested party should consider the claims herein, and any equivalent thereof. All patents, patent applications, and references cited herein are hereby incorporated by reference in their entirety.

EXAMPLES

The invention is now described with reference to the following Examples. These Examples are provided for the purpose of illustration only and the invention should in no way be construed as being limited to these Examples, but rather should be construed to encompass any and all variations which become evident as a result of the teaching provided herein.

Example 1: Stability Testing For Steroids Combined With Povidone Iodine

The objective of this study was to determine whether povidone iodine (PVP-I) at the concentration of 4 mg/mL (0.4%) reacts with any of four different steroids (dexamethasone sodium phosphate, prednisolone acetate, loteprednol etabonate, and difluprednate), the active ingredients, in pharmaceutical formulations under both room temperature and 40 °C for a time period of one month.

145

Dexamethasone sodium phosphate ophthalmic solution (USP, 0.1%) from Alcon Laboratories, prednisolone acetate ophthalmic suspension (USP, 1%) from Alcon Laboratories, loteprednol etabonate ophthalmic suspension (0.5%) from Baush & Lomb, and difluprednate ophthalmic emulsion (0.05%) from Sirion Therapeutics were used for this study. PVP-I was prepared in water at the concentration of 100 mg/mL (10%). One milliliter of the solution, suspension, or emulsion was mixed with 40 μ L of 10% PVP-I in 1.5 mL amber glass vials, followed by storage under both room temperature and 40 °C for 2 weeks and one month. The resultant samples in the presence of PVP-I were analyzed using HPLC. The four steroid levels were measured against the reference standard samples stored under room temperature in the absence of PVP-I (0.4%). The One Month stability test samples were analyzed with the reference standard sample using LC-MS/MS Method in MRM mode with three characteristic ion transitions to confirm the identity of four steroids in stability testing samples. The presence of each of the four steroids in the respective pharmaceutical formulations tested was confirmed by LC/UV-MS and MS/MS. Thus, the four pharmaceutical formulations can be used in the study.

After storage under room temperature and 40 °C at the presence of PVP-I (0.4%), the levels of dexamethasone phosphate in two week samples were only 83.04% and 84.57% of those in room temperature and 40 °C Day 0 samples, respectively. The respective data are 84.24% and 84.09% for one month testing, indicating that dexamethasone phosphate was not stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions. Three degradation products (D1, D2, and D3) were observed.

After storage under room temperature and 40 °C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of prednisolone acetate in two week testing samples were 99.24% and 96.60% of those in room temperature and 40 °C Day 0 samples, respectively. The respective data are 95.66% and 96.79% for one month testing. Identical mass ion chromatograms and same intensities of mass ion response were observed in the reference standard and one month stability testing samples. The results from both HPLC/UV and LC-MS/MS analysis indicate that prednisolone acetate was stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

After storage under room temperature and 40 °C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of loteprednol etabonate in two week testing samples were 101.43% and 100.07% of those in room temperature and 40 °C Day 0 samples, respectively. The respective data are 100.72%

146

and 96.02% for one month testing. Identical mass ion chromatograms and same intensities of mass ion response were observed in the reference standard and one month stability testing samples. The results from both HPLC/UV and LC-MS/MS analysis indicate that loteprednol etabonate was stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

After storage under room temperature and 40 °C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of difluprednate in two week testing samples were 103.23% and 99.30% of those in room temperature and 40 °C Day 0 samples, respectively. The respective data are 104.47% and 100.24% for one month testing. Identical mass ion chromatograms and same intensities of mass ion response were observed in the reference standard and one month stability testing samples. The results from both HPLC/UV and LC-MS/MS analysis indicate that difluprednate was stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

1. MATERIALS

1.1 Test Pharmaceutical Formulations

The four steroids and their related pharmaceutical formulations are listed in Table I and Table II.

1.2 Povidone Iodine

Povidone iodine (USP) was obtained from Spectrum Chemicals. Lot No. and expiration date are YQ0429 and January 31, 2011, respectively.

1.3 Solvents, Reagents, and Supplies

OmniSolv[®] Water was obtained from EM Science. Acetonitrile, methanol, and ammonium acetate were purchased from Sigma-Aldrich.

1.4 Suppliers and Equipment

1.4.1 Supplies

- Serological Pipettes, Kimble Glass Inc
- Wiretrol Micropipettes, Drummond[®] Scientific Company
- Autosampler Vials, Sun International
- Automatic Pipettes, Gilson

1.4.2 Equipment

- Sartorius Balances, BP301S, Sartorius Corporation

2. METHODS

2.1 Preparation of Stability Test Samples

2.1.1 Preparation of PVP-I Solution (10%, 100mg/mL)

Weigh 1 g of PVP-I and dissolve in 10 mL of water.

2.1.2 Preparation of Stability Test Samples

2.1.2.1 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate Stability Test Samples

Aliquot 1 mL of ophthalmic solution (USP, 0.1%) into eight amber HPLC vials to give the following samples:

Dexamethasone Sodium Phosphate-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9.

Added 40 μ L of PVP-I stock solution (10%) into Dexamethasone Sodium Phosphate-3, 4, 5, and 6, and mixed well to give the following samples:

Dexamethasone Sodium Phosphate+ PVP-I-3, 4, 5, and 6

Store Dexamethasone Sodium Phosphate+PVP-I-3 and 4 on the lab bench at room temperature and store Dexamethasone Sodium Phosphate+PVP-I -5 and 6 in a stability test chamber at 40 °C.

Added 40 μ L of water into Dexamethasone Sodium Phosphate-7, 8, and 9, and mixed well to give the following samples:

Dexamethasone Sodium Phosphate+H₂O-7, 8, and 9

Stored Dexamethasone Sodium Phosphate+H₂O-9 on the lab bench at room temperature and store Dexamethasone Sodium Phosphate+H₂O-7 and 8 in a stability test chamber at 40 °C.

Used Dexamethasone Sodium Phosphate+ PVP-I-3 and -5 and Dexamethasone Sodium Phosphate+H₂O-7 for two week stability test. Used Dexamethasone Sodium Phosphate+ PVP-I-4 and -6 and Dexamethasone Sodium Phosphate+H₂O-8 for one month stability test. Used Dexamethasone Sodium Phosphate+H₂O-9 to prepare reference standard.

Stored Dexamethasone Sodium Phosphate-1 and 2 on the lab bench at room temperature. On Week 4, added 40 μ L of PVP-I (10%, freshly prepared) and mix well to give Dexamethasone Sodium Phosphate+PVP-I-1 and 2. Used the resultant samples as time zero samples for HPLC analysis.

2.1.2.2 Preparation of Prednisolone Acetate Stability Test Samples

Aliquot ted 1 mL of ophthalmic suspension (USP, 1%) into eight amber HPLC vials to give the following samples:

Prednisolone Acetate-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9

Added 40 μ L of PVP-I stock solution (10%) into Prednisolone Acetate -3, 4, 5, and 6, and mixed well to give the following samples:

Prednisolone Acetate + PVP-I-3, 4, 5, and 6

Stored Prednisolone Acetate +PVP-I-3 and 4 on the lab bench at room temperature and stored Prednisolone Acetate +PVP-I -5 and 6 in a stability test chamber at 40 °C.

Added 40 μ L of water into Prednisolone Acetate -7, 8, and 9, and mixed well to give the following samples:

Prednisolone Acetate +H₂O-7, 8, and 9

Stored Prednisolone Acetate +H₂O-9 on the lab bench at room temperature and stored Prednisolone Acetate +H₂O-7 and 8 in a stability test chamber at 40 °C.

Used Prednisolone Acetate + PVP-I-3 and -5 and Prednisolone Acetate +H₂O-7 for two week stability test. Used Prednisolone Acetate + PVP-I-4 and -6 and Prednisolone Acetate +H₂O-8 for one month stability test. Used Prednisolone Acetate +H₂O-9 to prepare reference standard.

Stored Prednisolone Acetate -1 and 2 on the lab bench at room temperature. On Week 4, added 40 μ L of PVP-I (10%, freshly prepared) and mixed well to give Prednisolone Acetate +PVP-I-1 and 2. Used the resultant samples as time zero samples for HPLC analysis.

2.1.2.3 Preparation of Difluprednate Stability Test Samples

Aliquotted 1 mL of Ophthalmic emulsion (0.05%) into eight amber HPLC vials to give the following samples:

Difluprednate-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9

Added 40 μ L of PVP-I stock solution (10%) into Difluprednate-3, 4, 5, and 6, and mixed well to give the following samples:

Difluprednate+ PVP-I-3, 4, 5, and 6

Stored Difluprednate+PVP-I-3 and 4 on the lab bench at room temperature and stored Difluprednate+PVP-I -5 and 6 in a stability test chamber at 40 °C.

Added 40 μ L of water into Difluprednate-7, 8, and 9, and mixed well to give the following samples:

Difluprednate+H₂O-7, 8, and 9

Stored Difluprednate+H₂O-9 on the lab bench at room temperature and stored Difluprednate+H₂O-7 and 8 in a stability test chamber at 40 °C.

Used Difluprednate+ PVP-I-3 and -5 and Difluprednate+H₂O-7 for two week stability test. Used Difluprednate+ PVP-I-4 and -6 and Difluprednate+H₂O-8 for one month stability test. Used Difluprednate+H₂O-9 to prepare reference standard.

Stored Difluprednate-1 and 2 on the lab bench at room temperature. On Week 4, added 40 μ L of PVP-I (10%, freshly prepared) and mix well to give Difluprednate+PVP-I-1 and 2. Used the resultant samples as time zero samples for HPLC analysis.

2.1.2.4 Preparation of Loteprednol Etabonate Stability Test Samples

Aliquoted 1 mL of ophthalmic solution (USP, 0.1%) into eight amber HPLC vials to give the following samples:

Loteprednol Etabonate-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, and 9

Added 40 μ L of PVP-I stock solution (10%) into Loteprednol Etabonate-3, 4, 5, and 6, and mix well to give the following samples:

Loteprednol Etabonate+ PVP-I-3, 4, 5, and 6

Stored Loteprednol Etabonate+PVP-I-3 and 4 on the lab bench at room temperature and stored Loteprednol Etabonate+PVP-I -5 and 6 in a stability test chamber at 40 °C.

Added 40 μ L of water into Loteprednol Etabonate-7, 8, and 9, and mixed well to give the following samples:

Loteprednol Etabonate+H₂O-7, 8, and 9

Stored Loteprednol Etabonate+H₂O-9 on the lab bench at room temperature and stored Loteprednol Etabonate+H₂O-7 and 8 in a stability test chamber at 40 °C.

Used Loteprednol Etabonate+ PVP-I-3 and -5 and Loteprednol Etabonate+H₂O-7 for two week stability test. Used Loteprednol Etabonate+ PVP-I-4 and -6 and Loteprednol Etabonate+H₂O-8 for one month stability test. Used Loteprednol Etabonate+H₂O-9 to prepare reference standard.

150

Stored Loteprednol Etabonate-1 and 2 on the lab bench at room temperature. On Week 4, added 40 μ L of PVP-I (10%, freshly prepared) and mix well to give Loteprednol Etabonate+PVP-I-1 and 2. Used the resultant samples as time zero samples for HPLC analysis.

2.2 Preparation of Stability Test Samples for HPLC/UV Analysis

2.2.1 Preparation of PVP-I Solution for HPLC/UV Analysis

2.2.1.1 Preparation of PVP-I-4 mg/mL

Mixed 40 μ L of PVP-I (10%) with 1 mL of water to give PVP-I-4 mg/mL.

2.2.1.2 Preparation of PVP-I Solution for Dexamethasone Sodium Phosphate Testing

Mixed 100 μ L of PVP-I-4 mg/mL with 1.9 mL of water to give PVP-I-200 μ g/L for HPLC analysis.

2.2.1.3 Preparation of PVP-I Solution for Prednisolone Acetate Testing

Mixed 100 μ L of PVP-I-4 mg/mL with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give PVP-I-40 μ g/L.

Mixed 750 μ L of PVP-I-40 μ g/L with 750 μ L of acetonitrile:water (1:1) to give PVP-I-20 μ g/L for HPLC analysis.

2.2.1.4 Preparation of PVP-I Solution for Difluprednate Testing

Mixed 100 μ L of PVP-I-4 mg/mL with 0.9 mL of methanol to give PVP-I-400 μ g/L for HPLC analysis.

2.2.1.5 Preparation of PVP-I Solution for Loteprednol Etabonate Testing

Mixed 100 μ L of PVP-I-4 mg/mL with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give PVP-I-40 μ g/L for HPLC analysis.

2.2.2 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate for HPLC/UV Analysis

2.2.2.1 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate Standard

Mixed 100 μ L of Dexamethasone Sodium Phosphate +H₂O-9 with 1.9 mL of H₂O in an HPLC vial to give Dexamethasone Sodium Phosphate+ H₂O-9-50 μ g/mL.

2.2.2.2 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate Stability Test Samples

Mixed 100 μ L of Dexamethasone Sodium Phosphate+PVP-1, 2, 3, 4, 5, or 6 with 1.9 mL of H₂O in an HPLC vial to give Dexamethasone Sodium Phosphate+PVP-1, 2, 3, 4, 5, or 6-50 μ g/mL for HPLC analysis.

2.2.2.3 Preparation of Control Dexamethasone Sodium Phosphate Stability Test Samples

Mixed 100 μL of Dexamethasone Sodium Phosphate+ H_2O -7, or 8 with 1.9 mL of H_2O in an HPLC vial to give Dexamethasone Sodium Phosphate+ H_2O -7, or 8-50 $\mu\text{g/mL}$ for HPLC analysis.

2.2.3 Preparation of Prednisolone Acetate for HPLC/UV Analysis

2.2.3.1 Preparation of Prednisolone Acetate Standard

Mixed 100 μL of Prednisolone Acetate+ H_2O -9 with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give Prednisolone Acetate+ H_2O -9-100 $\mu\text{g/mL}$.

Mixed 750 μL of Prednisolone Acetate+ H_2O -9-100 $\mu\text{g/mL}$ with 750 μL of acetonitrile: H_2O (1:1) in HPLC vial to give Prednisolone Acetate+ H_2O -9-50 $\mu\text{g/mL}$ for HPLC analysis.

2.2.3.2 Preparation of Prednisolone Acetate Stability Test Samples

Mixed 100 μL of Prednisolone Acetate+PVP-I-1, 2, 3, 4, 5, or 6 with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give Prednisolone Acetate+PVP-I-1, 2, 3, 4, 5, or 6-100 $\mu\text{g/mL}$.

Mixed 750 μL of give Prednisolone Acetate+PVP-I-1, 2, 3, 4, 5, or 6-100 $\mu\text{g/mL}$ with 750 μL of acetonitrile: H_2O (1:1) in HPLC vial to give Prednisolone Acetate+PVP-I-1, 2, 3, 4, 5, or 6-50 $\mu\text{g/mL}$ for HPLC analysis.

2.2.3.3 Preparation of Control Prednisolone Acetate Stability Test Samples

Mixed 100 μL of Prednisolone Acetate+ H_2O -7, or 8 with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give Prednisolone Acetate+ H_2O -7, or 8-100 $\mu\text{g/mL}$.

Mixed 750 μL of give Prednisolone Acetate+ H_2O -7, or 8-100 $\mu\text{g/mL}$ with 750 μL of acetonitrile: H_2O (1:1) in HPLC vial to give Prednisolone Acetate+ H_2O -7, or 8-50 $\mu\text{g/mL}$ for HPLC analysis.

2.2.4 Preparation of Loteprednol Etabonate for HPLC/UV Analysis

2.2.4.1 Preparation of Loteprednol Etabonate Standard

Mixed 100 μL of Loteprednol Etabonate+ H_2O -9 with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give Loteprednol Etabonate+ H_2O -9-50 $\mu\text{g/mL}$.

2.2.4.2 Preparation of Loteprednol Etabonate Stability Test Samples

Mixed 100 μL of Loteprednol Etabonate+PVP-I-1, 2, 3, 4, 5, or 6 with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give Loteprednol Etabonate+PVP-I-1, 2, 3, 4, 5, or 6-50 $\mu\text{g/mL}$.

152

2.2.4.3 Preparation of Control Loteprednol Etabonate Stability Test Samples

Mixed 100 μ L of Loteprednol Etabonate+H₂O-7, or 8 with 9.9 mL of acetonitrile:water (1:1) to give Loteprednol Etabonate+H₂O-7, or 8-50 μ g/mL.

2.2.5 Preparation of Difluprednate for HPLC/UV Analysis

2.2.5.1 Preparation of Difluprednate Standard

Mixed 100 μ L of Difluprednate +H₂O-9 with 0.9 mL of methanol in an HPLC vial to give Difluprednate+ H₂O-9-50 μ g/mL.

2.2.5.2 Preparation of Difluprednate Stability Test Samples

Mixed 100 μ L of Difluprednate+PVP-1, 2, 3, 4, 5, or 6 with 0.9 mL of methanol in an HPLC vial to give Difluprednate+PVP-1, 2, 3, 4, 5, or 6-50 μ g/mL for HPLC analysis.

2.2.5.3 Preparation of Control Difluprednate Stability Test Samples

Mixed 100 μ L of Difluprednate+H₂O-7, or 8 with 0.9 mL of methanol in an HPLC vial to give Difluprednate+H₂O-7, or 8-50 μ g/mL for HPLC analysis.

2.3 Preparation of Stability Test Samples for LC-MS/MS Analysis

2.3.1 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate for LC-MS/MS Analysis

2.3.1.1 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate Standard

Mixed 100 μ L of Dexamethasone Sodium Phosphate+ H₂O-9-50 μ g/mL with 0.9 mL of water in an HPLC vial.

2.3.1.2 Preparation of Dexamethasone Sodium Phosphate Stability Test Samples

Mixed 100 μ L of Dexamethasone Sodium Phosphate+PVP-4, or 6-50 μ g/mL with 0.9 mL of water in an HPLC vial.

2.3.2 Preparation of Prednisolone Acetate for HPLC Analysis

2.3.2.1 Preparation of Prednisolone Acetate Standard

Mixed 100 μ L of Prednisolone Acetate+H₂O-9-50 μ g/mL with 0.9 mL of acetonitrile:water (1:1) in an HPLC vial.

2.3.2.2 Preparation of Prednisolone Acetate Stability Test Samples

Mixed 100 μ L of Prednisolone Acetate+PVP-1-4, or 6-50 μ g/ with 0.9 mL of acetonitrile:water (1:1) in an HPLC vial.

153

2.3.3 Preparation of Loteprednol Etabonate for HPLC Analysis

2.3.3.1 Preparation of Loteprednol Etabonate Standard

Mixed 100 µL of Loteprednol Etabonate+H₂O-9-50 µg/mL with 0.9 mL of acetonitrile:water (1:1) in an HPLC vial.

2.3.3.2 Preparation of Loteprednol Etabonate Stability Test Samples

Mixed 100 µL of Loteprednol Etabonate+PVP-I-4, or 6-50 µg/mL with 0.9 mL of acetonitrile:water (1:1) in an HPLC vial.

2.3.4 Preparation of Difluprednate for HPLC Analysis

2.3.4.1 Preparation of Difluprednate Standard

Mixed 100 µL of Difluprednate+ H₂O-9-50 µg/mL with 0.9 mL of methanol in an HPLC vial.

2.3.4.2 Preparation of Difluprednate Stability Test Samples

Mixed 100 µL of Difluprednate+PVP-4, or 6-50µg/mL for HPLC analysis with 0.9 mL of methanol in an HPLC vial.

2.4 HPLC/UV Chromatography

2.4.1 HPLC Method 1 (for Dexamethasone Sodium Phosphate)

HPLC System:	SHIMADZU HPLC system (Pump: LC-10ADVP; Autosampler: SIL-HTC)
UV:	SPD-10AVvp @239 and 210nm
Column:	Waters XTerra MS C18 3.5µm, 2.1x150mm, S/N 019435216117
Column Temperature:	Room Temperature
Autosampler Temperature:	Room Temperature
Injection Vol.:	10 µL
Mobile Phase A:	0.01M NH ₄ OAc in H ₂ O
Mobile Phase B:	ACN
Gradient:	

154

Time (min)	Flow (mL/min)	A	B
Initial	0.2	100	0
40	0.2	40	60
45	0.2	2	98
50	0.2	2	98
51	0.2	100	100
70	0.2	Stop	

2.4.2 HPLC Method 2 (for Prednisolone Acetate)

The same as Method 1 except the gradient was changed as follows:

Time (min)	Flow (mL/min)	A	B
Initial	0.2	100	0
40	0.2	30	70
45	0.2	2	98
50	0.2	2	98
51	0.2	100	100
70	0.2	Stop	

2.4.3 HPLC Method 3 (for Loteprednol Etabonate and Difluprednate)

The same as Method 1 except the gradient was changed as follows:

Time (min)	Flow (mL/min)	A	B
Initial	0.2	100	0
40	0.2	20	80
45	0.2	2	98
50	0.2	2	98
51	0.2	100	100
70	0.2	Stop	

155

2.4.4 Date Integration and Calculation

The software provided with the HPLC system (LCSolution™ software, version 1.23, installed by SHIMADZU) was used to integrate the peak area.

The measured peak area was converted into concentrations (µg/mL) using the following equation:

$$C_x = A_x \times C_s \div A_s$$

where,

C_x = Concentration (µg/mL) of analyte in stability samples

A_x = Peak area from analyte in stability samples

C_s = Concentration (µg/mL) of analyte in standard samples

A_s = Peak area from analyte in standard samples

2.5 Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

HPLC Methods: The same as HPLC Method 1,2, and 3 under Section 2.4.

MS Conditions:

Mass Spectrometer:	API 3000 LC/MS/MS System
Ionization Mode:	ESI in Positive mode
ESI:	5,000 V
Temperature:	350 °C
Nebulizer Gas Flow (NEB):	12 psi
Curtain Gas Flow (CUR):	12 units
Turbo-Ion Spray Gas Flow:	7,000-8,000 mL/min
Collision Gas (CAD):	6 units
DP:	30
FP:	80
EP:	8
CXP:	10

156

Precursor Ion, Product Ion, Collision Energy, and HPLC Retention Time

Compound	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Collision Energy (eV)	Retention Time (min)
Dexamethasone Phosphate	473.3	355.2	20	~21.82
	473.3	337.2	20	~21.82
	473.3	237.2	35	~21.82
Prednisolone Acetate	403.1	325.2	20	~27.62
	403.1	307.2	20	~27.62
	403.1	147.1	30	~27.62
Loteprednol Etabonate	467.3	359.2	20	~33.15
	467.3	265.2	30	~33.15
	467.3	147.1	35	~33.15
Difluprednate	509.3	303.2	20	~31.85
	509.3	279.2	20	~31.85
	509.3	101.1	30	~31.85

3. RESULTS

3.1 LC/MS and MS/MS Analyses of Four Formulations

The four formulations used in this study were analyzed by HPLC –UV and MS and MS/MS. The HPLC-UV chromatograms and ESI-MS and MS/MS spectral data were presented in Figure 1 to Figure 4.

The presence of four steroids in the pharmaceutical formulations was confirmed by LC/UV-MS and MS/MS. Thus, the four pharmaceutical formulations can be used for this study.

3.2 HPLC System Suitability Testing

The four standard samples at the concentration of 50 µg/mL were analyzed using HPLC/UV methods developed at PharmaOn. The data are summarized in Table III.

As shown in Table III, the system used in this study was suitable to determine the levels of four steroids in the stability test samples.

157

3.3 HPLC/UV and LC-MS/MS Analysis of Stability Testing Samples

3.3.1 Dexamethasone Sodium Phosphate

3.3.1.1 PVP-I Sample

PVP-I in solvent at the same concentration as in stability test samples of dexamethasone sodium phosphate was analyzed using HPLC Method 1. The HPLC/UV chromatograms are depicted in Figure 5.

No dexamethasone phosphate was observed in PVP-I sample.

3.3.1.2 Dexamethasone Sodium Phosphate Stability Samples

The Day 0, Two Week, and One Month stability test samples were analyzed with reference standard samples (stored at room temperature in the absence of PVP I) using HPLC Method 1. The sample in the absence of PVP-I with the same concentration of dexamethasone phosphate as those stability samples at the presence of PVP-I was stored in the same stability chamber at 40°C for one month as control sample. The control sample was analyzed under the same conditions. The concentrations of dexamethasone phosphate in the stability samples were calculated. The data were summarized in Table IV. The HPLC/UV chromatograms of all reference standards and stability testing samples are depicted in Figure 6 to Figure 13.

The One Month stability test samples were analyzed with the reference standard sample using LC-MS/MS Method in MRM mode with three characteristic ion transitions to confirm the identity of dexamethasone phosphate in stability testing samples. The mass ion chromatograms are presented in Figure 14 to Figure 16.

Identity of dexamethasone phosphate in reference standard sample and two One month stability test samples was confirmed by LC-MS/MS.

After storage at room temperature and 40°C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of dexamethasone phosphate in two weeks samples were only 83.04% and 84.57% of those in room temperature and 40°C Day 0 samples, respectively (Table IV). The respective data are 84.24% and 84.09% for one month testing (Table IV), indicating that dexamethasone phosphate was not stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

As shown in Figure 6 to Figure 13, three additional peaks, Degradation Product 1, 2, and 3 (D1, D2, and D2), were observed in both Two Week and/or One Month stability testing samples at the presence of PVP I.

158

3.3.2 Prednisolone Acetate

3.3.2.1 PVP-I Sample

PVP-I in solvent at the same concentration as in stability test samples of prednisolone acetate was analyzed using HPLC Method 2. The HPLC/UV chromatograms are depicted in Figure 17.

No prednisolone acetate was observed in PVP-I sample.

3.3.2.2 Prednisolone Acetate Stability Samples

The Day 0, Two Week, and One Month stability test samples were analyzed with reference standard samples (stored at room temperature in the absence of PVP I) using HPLC Method 2. The sample in the absence of PVP-I with the same concentration of prednisolone acetate as those stability samples at the presence of PVP-I was stored in the same stability chamber at 40 °C for two week and one month as control samples. The control samples were analyzed under the same conditions. The concentrations of prednisolone acetate in the stability samples were calculated. The data were summarized in Table V. The HPLC/UV chromatograms of all reference standards and stability testing samples are depicted in Figure 18 to Figure 23.

The One Month stability test samples were analyzed with the reference standard sample using LC-MS/MS Method in MRM mode with three characteristic ion transitions to confirm the identity of prednisolone acetate in stability testing samples. The mass ion chromatograms are presented in Figure 24 to Figure 26.

After storage at room temperature and 40°C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of prednisolone acetate in two week testing samples were 99.24% and 96.60% of those in room temperature and 40°C Day 0 samples, respectively (Table V). The respective data are 95.66% and 96.79% for one month testing (Table V). Identical mass ion chromatograms and same intensities of mass ion response were observed in the reference standard and one month stability testing samples. The results from both HPLC/UV and LC-MS/MS analysis indicate that prednisolone acetate was stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

3.3.3 Loteprednol Etabonate

3.3.3.1 PVP-I Sample

159

PVP-I in solvent at the same concentration as in stability test samples of loteprednol etabonate was analyzed using HPLC Method 3. The HPLC/UV chromatograms are depicted in Figure 27.

No loteprednol etabonate was observed in PVP-I sample.

3.3.3.2 Loteprednol Etabonate Stability Samples

The Day 0, Two Week, and One Month stability test samples were analyzed with reference standard samples (stored at room temperature in the absence of PVP I) using HPLC Method 3. The sample in the absence of PVP-I with the same concentration of loteprednol etabonate as those stability samples at the presence of PVP-I was stored in the same stability chamber at 40°C for two week and one month as control samples. The control samples were analyzed under the same conditions. The concentrations of loteprednol etabonate in the stability samples were calculated. The data were summarized in Table VI. The HPLC/UV chromatograms of all reference standards and stability testing samples are depicted in Figure 28 to Figure 33.

The One Month stability test samples were analyzed with the reference standard sample using LC-MS/MS Method in MRM mode with three characteristic ion transitions to confirm the identity of loteprednol etabonate in stability testing samples. The mass ion chromatograms are presented in Figure 34 to Figure 36.

After storage at room temperature and 40°C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of loteprednol etabonate in two week testing samples were 101.43% and 100.07% of those in room temperature and 40°C Day 0 samples, respectively (Table VI). The respective data are 100.72% and 96.02% for one month testing (Table VI). Identical mass ion chromatograms and same intensities of mass ion response were observed in the reference standard and one month stability testing samples. The results from both HPLC/UV and LC-MS/MS analysis indicate that loteprednol etabonate was stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

3.3.4 Difluprednate

3.3.4.1 PVP-I Sample

PVP-I in solvent at the same concentration as in stability test samples of difluprednate was analyzed using HPLC Method 3. The HPLC-UV chromatograms are depicted in Figure 37.

No difluprednate was observed in PVP-I sample.

3.3.4.2 Difluprednate Stability Samples

The Day 0, Two Week, and One Month stability test samples were analyzed with reference standard samples (stored at room temperature in the absence of PVP I) using HPLC Method 3. The sample in the absence of PVP-I with the same concentration of difluprednate as those stability samples at the presence of PVP-I was stored in the same stability chamber at 40°C for two week and one month as control samples. The control samples were analyzed under the same conditions. The concentrations of difluprednate in the stability samples were calculated. The data were summarized in Table VII. The HPLC/UV chromatograms of all reference standards and stability testing samples are depicted in Figure 38 to Figure 43.

The One Month stability test samples were analyzed with the reference standard sample using LC-MS/MS Method in MRM mode with three characteristic ion transitions to confirm the identity of difluprednate in stability testing samples. The mass ion chromatograms are presented in Figure 44 to Figure 46.

After storage at room temperature and 40°C in the presence of PVP-I (0.4%), the levels of difluprednate in two week testing samples were 103.23% and 99.30% of those in room temperature and 40°C Day 0 samples, respectively (Table VII). The respective data are 104.47% and 100.24% for one month testing (Table VII). Identical mass ion chromatograms and same intensities of mass ion response were observed in the reference standard and one month stability testing samples. The results from both HPLC/UV and LC-MS/MS analysis indicate that difluprednate was stable in the presence of PVP-I (0.4%) under the current testing conditions.

164

TABLES

Table I

Four Pharmaceutical Formulations

Steroids Name	Formulation/Product	Manufacture/Vendor	Lot No.
Dexamethasone Sodium Phosphate	Ophthalmic solution USP, 0.1%	Alcon Laboratories	153643F
Prednisolone Acetate	Ophthalmic Suspension USP, 1%	Alcon Laboratories	148757F
Loteprednol Etabonate	Ophthalmic Suspension, 0.5%	Bausch & Lomb	437291
Diffuprednate	Ophthalmic emulsion, 0.05%	Sirion Therapeutics	SIR9F001

Table II
Four Steroids

Name	Structure	MW	Rt (min)
Dexamethasone Sodium Phosphate		516.41	~21.13
Prednisolone Acetate		402.49	~26.51
Loteprednol Etabonate		466.96	~32.15
Difluprednate		508.56	~31.04

163

Table III

Summary of System Suitability Testing

Dexamethasone Sodium Phosphate			
Replicate	HPLC Run No.	R _t (min)	Peak Area
1	09701005_002	21.16	4860116
2	09701005_003	21.12	4887168
3	09701005_004	21.16	4845056
4	09701005_005	21.12	4841633
5	09701005_006	21.11	4815314
Mean		21.13	4849857
SD		0.024	26369
CV (%)		0.11	0.54
Prednisolone Acetate			
Replicate	HPLC Run No.	R _t (min)	Peak Area
1	09701005_012	26.53	5275846
2	09701005_013	26.52	5280425
3	09701005_014	26.54	5197617
4	09701005_015	26.39	5262924
5	09701005_016	26.55	5237854
Mean		26.51	5250933
SD		0.066	34088
CV (%)		0.25	0.65
Loteprednol Etabonate			
Replicate	HPLC Run No.	R _t (min)	Peak Area
1	09701005_017	32.19	4352552
2	09701005_018	32.27	4272956
3	09701005_019	32.11	4368753
4	09701005_020	32.11	4281766
5	09701005_021	32.08	4292832
Mean		32.15	4313772
SD		0.078	43748
CV (%)		0.24	1.01
Difluprednate			
Replicate	HPLC Run No.	R _t (min)	Peak Area
1	09701005_007	31.02	4746034
2	09701005_008	31.02	4715228
3	09701005_009	31.04	4761819
4	09701005_010	31.06	4715455
5	09701005_011	31.07	4728211
Mean		31.04	4733349
SD		0.023	20288
CV (%)		0.07	0.43

Table IV

Analytical Data Summary of Dexamethasone Sodium Phosphate Stability Testing in PVP-I (0.4 %)

Samples	HPLC Run No.	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc. (µg/mL) ^a	Calc Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Day 0
Day 0									
Std1	09701006_002	20.96	4964292						
Std2	09701006_003	21.23	4873676						
Mean			4918984	50	—	20	1.0000	—	—
Room Temp 1	09701006_004	21.17	5084959		51.69	20	1.0337	103.37	—
Room Temp 2	09701006_005	21.20	5093624		51.78	20	1.0355	103.55	—
Mean			5089292		51.73	20	1.0346	103.46	—
2 Weeks									
Std1	09701004_001	23.91	5019426						
Std2	09701004_002	23.07	5004047						
Mean			5011737	50	—	20	1.0000	—	—
Room Temp	09701004_003	23.08	4305845		42.96	20	0.8592	85.92	83.04
40 °C	09701004_004	23.08	4385137		43.75	20	0.8750	87.50	84.57
One Month									
Std1	09701007_023	20.99	4845855						
Std2	09701007_024	21.03	4810095						
Mean			4827975	50	—	20	1.0000	—	—
Room Temp	09701007_025	21.06	4207982		43.58	20	0.8716	87.16	84.24
40 °C	09701007_026	21.08	4216932		43.67	20	0.8734	87.34	84.42
40 °C	09701007_027	21.07	4184100		43.33	20	0.8666	86.66	83.76
Mean			4200516		43.50	20	0.8700	87.00	84.09
40 °C Control ^e	09701007_028	21.11	4471624		46.31	20	0.9262	92.62	92.62

^a: Nominal concentration in HPLC samples; ^b: Calculated concentration in HPLC samples; ^c: Dilution factor; ^d: Calculated concentration in stability samples; ^e: Stored at 40 °C without PVP I.

Table V

Analytical Data Summary of Prednisolone Acetate Stability Testing in PVP-I (0.4 %)

Samples	HPLC Run No.	R _t (min)	Peak Area	Nominal Conc. (µg/mL) ^a	Calc Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Day 0
Day 0									
Std1	09701006_010	26.74	5112497						
Std2	09701006_011	26.75	5081143						
Mean			5096820	50	—	200	10.000	—	—
Room Temp 1	09701006_012	26.76	5342803		52.41	200	10.483	104.83	—
Room Temp 1	09701006_013	26.77	5323574		52.22	200	10.445	104.45	—
Mean			5333189		52.32	20	10.464	104.64	—
2 Weeks									
Std1	09701004_012	27.70	5305927						
Std2	09701004_013	27.73	5317386						
Mean			5311657	50	—	200	10.000	—	—
Room Temp	09701004_014	27.74	5515685		51.92	200	10.384	103.84	99.24
40 °C	09701004_015	27.71	5369264		50.54	200	10.108	101.08	96.60
40 °C Control ^e	09701004_016	27.61	5351149		50.37	200	10.074	100.74	100.74
One Month									
Std1	09701007_012	26.78	5181293						
Std2	09701007_013	26.79	5127543						
Mean			5154418	50	—	200	10.000	—	—
Room Temp	09701007_014	26.81	5159554		50.05	200	10.010	100.10	95.66
40 °C	09701007_015	26.78	5220242		50.64	200	10.128	101.28	96.79
40 °C Control ^e	09701007_016	26.80	5169543		50.15	200	10.029	100.29	100.29

^a Nominal concentration in HPLC samples; ^b Calculated concentration in HPLC samples; ^c Dilution factor; ^d Calculated concentration in stability samples; ^e Stored at 40 °C without PVP-I.

165

Table VI

Analytical Data Summary of Loteprednol Etabonate Testing in PVP-I (0.4 %)

Samples	HPLC Run No.	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc. (µg/mL) ^a	Calc Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Day 0
Day 0									
Std1	09701006_014	32.41	4172610						
Std2	09701006_015	32.41	4193226						
Mean			4182918	50	—	100	5.0000	—	—
Room Temp 1	09701006_016	32.45	4224688		50.50	100	5.0499	101.00	—
Room Temp 2	09701006_017	32.27	4180845		49.98	100	4.9975	99.95	—
Mean	09701006_017	32.27	4202767		50.24	20	5.0237	100.48	—
2 Weeks									
Std1	09701004_017	32.87	4460467						
Std2	09701004_018	33.02	4431159						
Mean			4445813	50	—	100	5.0000	—	—
Room Temp	09701004_019	33.03	4530572		50.95	100	5.0953	101.91	101.43
40 °C	09701004_020	32.99	4470012		50.27	100	5.0272	100.54	100.07
40 °C Control ^e	09701004_021	32.98	4521010		50.85	100	5.0846	101.69	101.69
One Month									
Std1	09701007_017	32.45	4074874						
Std2	09701007_018	32.30	4068504						
Mean			4071689	50	—	100	5.0000	—	—
Room Temp	09701007_019	32.34	4120353		50.60	100	5.0598	101.20	100.72
40 °C	09701007_020	32.48	3928248		48.24	100	4.8239	96.48	96.02
40 °C Control ^e	09701007_021	32.46	3975565		48.82	100	4.8820	97.64	97.64

^a: Nominal concentration in HPLC samples; ^b: Calculated concentration in HPLC samples; ^c: Dilution factor; ^d: Calculated concentration in stability samples; ^e: Stored at 40 °C without PVP-I.

Table VII

Analytical Data Summary of Difluprednate Stability Testing in PVP-I (0.4 %)

Samples	HPLC Run No.	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc. (µg/mL) ^a	Calc Conc. (µg/mL) ^b	DF ^c	Calc Conc. (mg/mL) ^d	% of Std	% of Day 0
Day 0									
Std1	09701006_006	31.17	4647615						
Std2	09701006_007	31.10	4757011						
Mean			4702313	50	—	10	0.5000	—	—
Room Temp 1	09701006_008	31.17	4503933		47.89	10	0.4789	95.78	—
Room Temp 2	09701006_009	31.16	4548076		48.36	10	0.4836	96.72	—
Mean	09701006_009	31.16	4526005		48.13	20	0.4813	96.25	—
2 Weeks									
Std1	09701004_007	31.76	4849758						
Std2	09701004_008	31.76	4871971						
Mean			4860865	50	—	10	0.5000	—	—
Room Temp	09701004_009	31.75	4829559		49.68	10	0.4968	99.36	103.23
40 °C	09701004_010	31.74	4645691		47.79	10	0.4779	95.57	99.30
40 °C Control ^e	09701004_011	31.85	4350242		44.75	10	0.4475	89.50	89.50
One Month									
Std1	09701007_007	31.26	4519656						
Std2	09701007_008	31.21	4538123						
Mean			4528890	50	—	10	0.5000	—	—
Room Temp	09701007_009	31.20	4554140		50.28	10	0.5028	100.56	104.47
40 °C	09701007_010	31.21	4369678		48.24	10	0.4824	96.48	100.24
40 °C Control ^e	09701007_011	31.24	4432171		48.93	10	0.4893	97.86	97.86

^a: Nominal concentration in HPLC samples; ^b: Calculated concentration in HPLC samples; ^c: Dilution factor; ^d: Calculated concentration in stability samples; ^e: Stored at 40 °C without PVP-I.

168

Example 2: Stability Testing For Steroids and NSAIDS Combined With 0.6% Povidone Iodine

Steroids and NSAIDS were mixed with PVP-I at the concentration of 0.6% w/w on Day 1. The resultant mixtures will be split to glass vials and stored at room temperature. fluorometholone alcohol, medrysone, prednisone sodium phosphate, rimexolone, hydrocortisone, hydrocortisone acetate, lodoxamide tromethamine, nepafenac, bromfenac, and ketorolac. Testing timepoints included day 0 (Time Zero), and week 4. Tests were conducted at room temperature. The testing samples were analyzed using liquid chromatography and tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) methods at Day 0, and Week 4. The steroids and NSAIDS standards were also analyzed and steroids and NSAIDS levels in testing samples were determined.

Rimexolone, hydrocortisone acetate, lodoxamide, and bromfenac samples appeared to be stable. Nepafenac was generally stable, but to a lesser degree. Prednisone sodium phosphate was stable to a lesser degree than nepafenac. In an embodiment, a result wherein about 10% or greater reduction in concentration of a compound of interest is observed is an indication that the compound is not stable. In an embodiment, a result wherein a reduction in the concentration of a compound of interest is observed, but about less than 10% reduction in concentration of a compound of interest is observed, is an indication that the compound is semi-stable. In an embodiment, a result wherein there is substantially no reduction in concentration of a compound of interest observed is an indication that the compound is stable.

Table VIII illustrates the analytical data summary of bromfenac stability testing in 0.6% PVP-I at room temperature. Table IX illustrates the analytical data summary of hydrocortisone acetate stability testing in 0.6% PVP-I at room temperature. Table X illustrates the analytical data summary of rimexolone stability testing in 0.6% PVP-I at room temperature. Table XI illustrates the analytical data summary of prednisone sodium phosphate stability testing in 0.6% PVP-I at room temperature. Table XII illustrates the analytical data summary of nepafenac stability testing in 0.6% PVP-I at room temperature. Table XIII illustrates the analytical data summary of fluorometholone stability testing in 0.6% PVP-I at room temperature. For Tables VIII-XIII, a: Nominal concentration in HPLC samples; b: Calculated concentration in HPLC samples; c: Dilution factor; d: Calculated concentration in stability samples; e: Spiked 50µL of H₂O and stored at room temperature without PVP-I.

Table VIII: Bromfenac testing.

Samples	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc.	Calc Conc.	DF ^c	Calc Conc.	% of Std	% of Day 0
			(µg/mL) ^a	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Standard 1	24.925	11390037	90	—	10	900	—	—
Standard 2	25.034	11288449	90	—	10	900	—	—
Mean	24.980	11339243	90	—	10	900	—	—
Day 0								
Replicate 1	24.900	11310534	90	89.77	10	897.7	99.74	—
Replicate 2	24.889	11107933	90	88.16	10	881.6	97.96	—
Mean	24.895	11209234	90	88.97	10	889.7	98.86	—
Four Weeks								
Replicate 1	24.960	11211003	90	88.98	10	889.8	98.87	100.01
Replicate 2	24.963	11066657	90	87.84	10	878.4	97.6	98.73
Mean	24.962	11138830	90	88.41	10	884.1	98.23	99.37
Control ^e	24.978	11342445	90	90.03	10	900.3	100.03	101.19

Table IX: Hydrocortisone acetate testing.

Samples	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc.	Calc Conc.	DF ^c	Calc Conc.	% of Std	% of Day 0
			(µg/mL) ^e	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Standard 1	29.087	9578995	100	—	50	5000	—	—
Standard 2	29.215	9456921	100	—	50	5000	—	—
Mean	29.151	9517958	100	—	50	5000	—	—
Day 0								
Replicate 1	29.067	9672596	100	101.62	50	5081	101.62	—
Replicate 2	29.107	9472035	100	99.52	50	4976	99.52	—
Mean	29.087	9572316	100	100.57	50	5029	100.57	—
Four Weeks								
Replicate 1	29.125	9627042	100	101.15	50	5058	101.15	100.58
Replicate 2	29.127	9699896	100	101.91	50	5096	101.91	101.33
Mean	29.126	9663469	100	101.53	50	5077	101.53	100.95
Control ^e	29.178	9676282	100	101.66	50	5083	101.66	101.08

170

Table X: Rimexolone testing.

Samples	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc.	Calc Conc.	DF ^c	Calc Conc.	% of Std	% of Day 0
			(µg/mL) ^a	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Standard 1	39.98	3399891	100	---	100	10,000	---	---
Standard 2	39.961	3404392	100	---	100	10,000	---	---
Mean	39.971	3402142	100	---	100	10,000	---	---
Day 0								
Replicate 1	40.004	3362494	100	98.83	100	9883	98.83	---
Replicate 2	40.018	3418997	100	100.5	100	10050	100.5	---
Mean	40.011	3390746	100	99.67	100	9967	99.67	---
Four Weeks								
Replicate 1	40.035	3398853	100	99.9	100	9990	99.9	100.23
Replicate 2	39.948	3375059	100	99.2	100	9920	99.2	99.53
Mean	39.992	3386956	100	99.55	100	9955	99.55	99.88
Control ^e	20.117	3303121	100	97.09	100	9709	97.09	97.41

Table XI: Prednisone sodium phosphate testing.

Samples	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc.	Calc Conc.	DF ^c	Calc Conc.	% of Std	% of Day 0
			(µg/mL) ^a	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Standard 1	26.61	8422981	100	---	50	5000	---	---
Standard 2	26.748	8470831	100	---	50	5000	---	---
Mean	26.679	8446906	100	---	50	5000	---	---
Day 0								
Replicate 1	26.843	8272276	100	97.93	50	4897	97.93	---
Replicate 2	26.717	8243394	100	97.59	50	4880	97.59	---
Mean	26.780	8257835	100	97.76	50	4888	97.76	---
Four Weeks								
Replicate 1	26.608	7853275	100	92.97	50	4649	92.97	95.1
Replicate 2	26.738	7946048	100	94.07	50	4704	94.07	96.23
Mean	26.673	7899661.5	100	93.52	50	4676	93.52	95.66
Control ^e	26.477	8495335	100	100.57	50	5029	100.57	102.87

177

Table XII: Nepafenac testing (270nm).

Samples	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc.	Calc Conc.	DF ^c	Calc Conc.	% of Std	% of Day 0
			(µg/mL) ^a	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Standard 1	34.589	727	50	—	100	5,000	—	—
Standard 2	34.580	729	50	—	100	5,000	—	—
Mean	34.585	728	50	—	100	5,000	—	—
Day 0								
Replicate 1	34.568	715	50	49.11	100	4911	98.22	—
Replicate 2	34.548	722	50	49.59	100	4959	99.18	—
Mean	34.558	719	50	49.35	100	4935	98.7	—
Four Weeks								
Replicate 1	34.538	703	50	48.28	100	4828	96.56	97.83
Replicate 2	34.577	694	50	47.66	100	4766	95.32	96.58
Mean	34.558	698.5	50	47.97	100	4797	95.94	97.2
Control ^e	34.570	719	50	49.38	100	4938	98.76	100.06

Table XIII: Fluorometholone testing.

Samples	Rt (min)	Peak Area	Nominal Conc.	Calc Conc.	DF ^c	Calc Conc.	% of Std	% of Day 0
			(µg/mL) ^a	(µg/mL) ^b		(µg/mL) ^d		
Standard 1	38.664	1872	50	—	20	1,000	—	—
Standard 2	38.614	1877	50	—	20	1,000	—	—
Mean	38.639	1875	50	—	20	1,000	—	—
Day 0								
Replicate 1	38.648	1901	50	50.71	20	1014	101.42	—
Replicate 2	38.646	1896	50	50.57	20	1011	101.14	—
Mean	38.647	1899	50	50.64	20	1013	101.28	—
Four Weeks								
Replicate 1	38.611	1861	50	49.64	20	993	99.28	98.03
Replicate 2	38.613	1877	50	50.07	20	1001	100.14	98.87
Mean	38.612	1869	50	49.85	20	997	99.7	98.44
Control ^e	38.602	1860	50	49.61	20	992	99.22	97.97

It is to be understood that at least some of the descriptions of the invention have been simplified to focus on elements that are relevant for a clear understanding of the invention, while eliminating, for purposes of clarity, other elements that those of ordinary skill in the art will appreciate may also comprise a portion of the invention. However, because such elements are well known in the art, and because they do not necessarily facilitate a better understanding of the invention, a description of such elements is not provided herein.

Further, to the extent that the method does not rely on the particular order of steps set forth herein, the particular order of the steps should not be construed as limitation on the claims. The claims directed to the method of the present invention should not be limited to the performance of their steps in the order written, and one skilled in the art can readily appreciate that the steps may be varied and still remain within the spirit and scope of the present invention.

CLAIMS

1. An ophthalmic composition suitable for topical administration to an eye, effective for treatment and/or prophylaxis of a microorganism infection or a disorder of at least one tissue of the eye, comprising
 - a) povidone-iodine in a concentration between 0.01% and 10%, and
 - b) a steroid selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, hydrocortisone acetate, and combinations thereof.
2. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said povidone-iodine is between 0.1% and 2.5% by weight.
3. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said povidone-iodine is between 0.5% and 2% by weight.
4. The ophthalmic composition of claim 1 wherein a total weight of said povidone-iodine and said steroid is between 0.1% and 4.5% in said solution.
5. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said steroid is at a concentration of between 0.01 and 2%.
6. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said steroid is at a concentration of between 0.05 and 1%.
7. A pharmaceutical composition comprising:
 - a) povidone-iodine in a concentration between 0.01% and 10%, and
 - b) a steroid selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, and combinations thereof;wherein said steroid is at a concentration of between 0.05 and 1%.

174

8. The composition of claim 7, wherein the PVP-I is at a concentration of about 0.4%.

9. The composition of claim 7, wherein the steroid is at a concentration selected from the group consisting of about 0.1%, about 0.05% and about 0.005%.

10. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition further comprises a topical anesthetic which relieves pain.

11. The ophthalmic composition of claim 10 wherein said topical anesthetic is selected from the group consisting of proparacaine, lidocaine, tetracaine and a combination thereof.

12. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition further comprises a penetration enhancer which enhances the penetration of povidone-iodine into the tissues of the eye.

13. The ophthalmic composition of claim 12 wherein said penetration enhancer is a topical anesthetic.

14. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition further comprises an antimicrobial preservative.

15. The ophthalmic composition of claim 14 wherein said antimicrobial preservative is selected from the group consisting of benzalkonium chloride, thimerosal, chlorobutanol, methyl paraben, propyl paraben, phenylethyl alcohol, EDTA, sorbic acid, Onamer M and a combination thereof.

175

16. The ophthalmic composition of claim 14 wherein said antimicrobial preservative is at a concentration of about 0.001% to 1.0% by weight in said solution.
17. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition further comprises a co-solvent/surfactant.
18. The ophthalmic composition of claim 17 wherein said co-solvent/surfactant is selected from the group consisting of polysorbate 20, polysorbate 60, polysorbate 80, Pluronic F-68, Pluronic F-84, Pluronic P-103, cyclodextrin, tyloxapol and a combination thereof.
19. The ophthalmic composition of claim 17 wherein said co-solvent/surfactant is at a concentration of about 0.01% to 2% by weight in said composition.
20. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition further comprises viscosity increasing agent.
21. The ophthalmic composition of claim 20 wherein said viscosity increasing agent is selected from the group consisting of polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrrolidone, methyl cellulose, hydroxy propyl methylcellulose, hydroxyethyl cellulose, carboxymethyl cellulose, hydroxy propyl cellulose, and a combination thereof.
22. The ophthalmic composition of claim 20 wherein said viscosity increasing agent is at a concentration of about 0.01% to 2% by weight in said solution.
23. The ophthalmic composition of claim 1, wherein said composition is in the form of a solution, suspension, emulsion, ointment, cream, gel, or a controlled-release/sustain-release vehicle.
24. The ophthalmic composition of claim 1, wherein said microorganism is selected from the group consisting of bacteria, viruses, fungi, and amoebae.

176

25. The ophthalmic composition of claim 24 wherein said bacteria is mycobacteria.

26. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said eye disorder is selected from the group consisting of a microorganism infection of at least one tissue of the eye, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis and herpesvirus-related keratitis.

27. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said prophylaxis is prophylaxis of infection following corneal abrasion or ocular surgery.

28. The ophthalmic composition of claim 1, comprising:

0.3 to 1% (w/w) polyvinylpyrrolidinone-iodine complex;

0.05 to 2% (w/w) steroid;

0.005% to 0.02% (w/w) EDTA;

0.01 to 0.5% (w/w) sodium chloride;

0.02 to 0.1% (w/w) tyloxapol;

0.5% to 2% (w/w) sodium sulfate; and

0.1 to 0.5% (w/w) hydroxyethylcellulose;

wherein said steroid is selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, hydrocortisone acetate, and combinations thereof.

29. The ophthalmic composition of claim 1, comprising:

0.4% (w/w) polyvinylpyrrolidinone-iodine complex;

0.1% (w/w) steroid;

0.01% (w/w) EDTA;

0.3% (w/w) sodium chloride salt;

0.05% (w/w) tyloxapol;

177

0.2% (w/w) sodium sulfate; and
0.25% (w/w) hydroxyethylcellulose;

wherein said steroid is selected from the group consisting of prednisolone acetate, loteprednol etabonate, difluprednate, hydrocortisone acetate, and combinations thereof.

30. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition retains 95% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 95% of its steroid after a period of 1 month.

31. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition retains 90% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 90% of its steroid after a period of 3 months.

32. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition retains 90% of its polyvinylpyrrolidinone-iodine and 90% of its steroid after a period of 1 month.

33. The ophthalmic composition of claim 1 wherein said composition is an aqueous solution.

34. A method for treating and/or prophylaxis of an eye disorder or a microorganism infection of at least one tissue of the eye comprising the step of administering one of more doses of an ophthalmic composition of claim 1 to said eye.

35. The method of claim 34 wherein said prophylaxis is prophylaxis of infection following corneal abrasion or ocular surgery.

36. The method of claim 34 wherein said eye disorder is selected from the group consisting of a microorganism infection of at least one tissue of the eye, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, epithelial keratitis, stromal keratitis and herpesvirus-related keratitis.

178

37. The method of claim 34, wherein said microorganism is a bacteria, virus, fungi, or amoebae.
38. The method of claim 37 wherein said bacteria is mycobacteria.
39. The method of claim 34 wherein the sum of said povidone-iodine and said steroid is between 0.001 mg to 5 mg per dose.
40. The method of claim 34 wherein each dose is between 10 microliters to 200 microliters.
41. The method of claim 34 wherein each dose is between 50 microliters to 80 microliters.
42. The method of claim 34 wherein said administering comprises administering said solution to said eye one to four times a day.
43. The method of claim 34 wherein said administering comprises administering said solution to said eye one to twenty-four times a day.
44. The method of claim 34 further comprising the step of storing the composition for at least one month, at least three months, at least six months, or at least 1 year before said administration step.
45. An ophthalmic composition suitable for topical administration to an eye, effective for treatment and/or prophylaxis of a microorganism infection or a disorder of at least one tissue of the eye, comprising
- a) povidone-iodine in a concentration between 0.01% and 10%, and
 - b) bromfenac.

46. The ophthalmic composition of claim 45, comprising:
0.3 to 1% (w/w) polyvinylpyrrolidinone-iodine complex;
0.05 to 2% (w/w) bromfenac;
0.005% to 0.02% (w/w) EDTA;
0.01 to 0.5% (w/w) sodium chloride;
0.02 to 0.1% (w/w) tyloxapol;
0.5% to 2% (w/w) sodium sulfate; and
0.1 to 0.5% (w/w) hydroxyethylcellulose.

180

HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS Spectral Data of Dexamethasone Phosphate

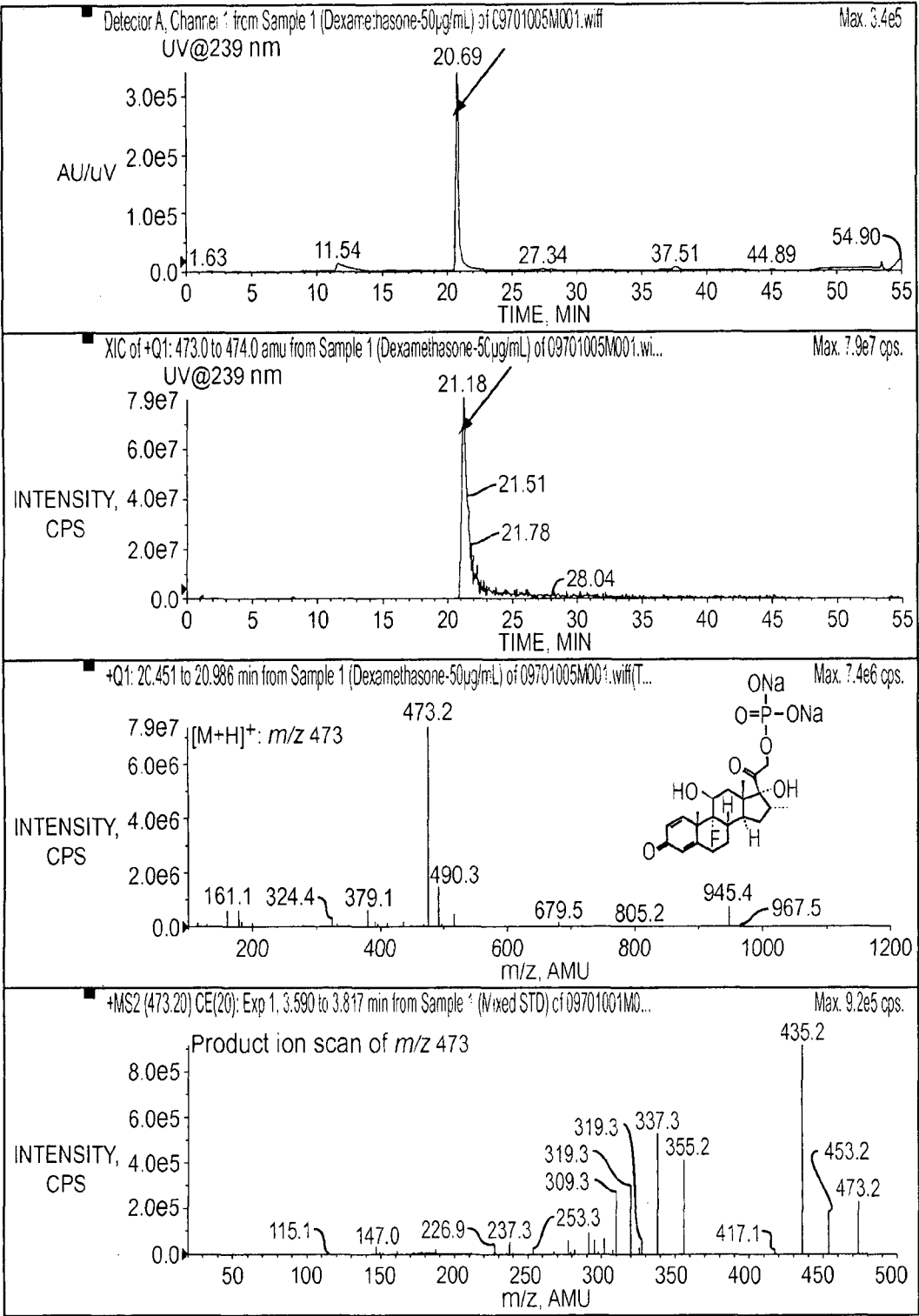


FIG. 1

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS Spectral Data of Prednisolone Acetate

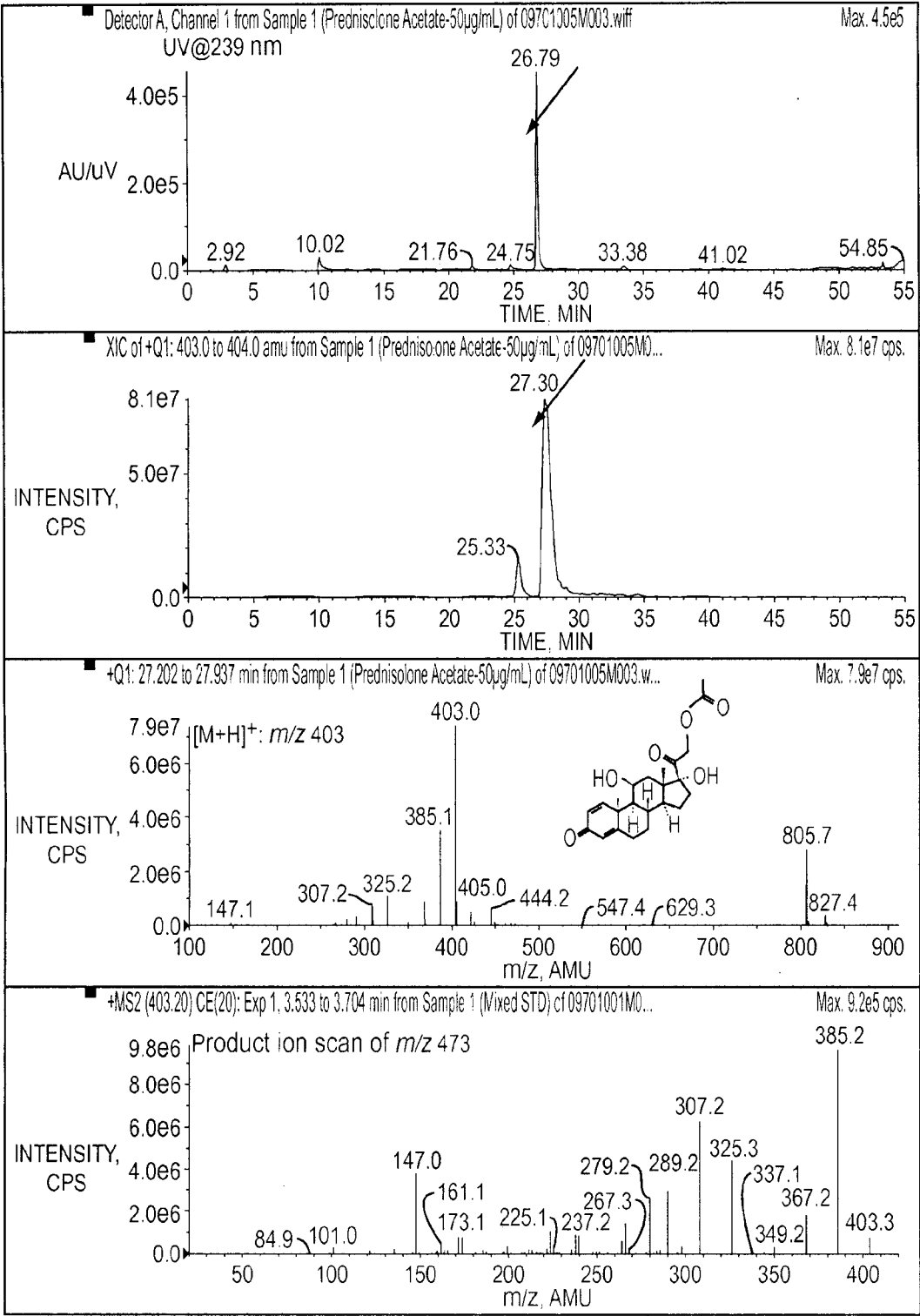


FIG. 2

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

182

HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS Spectral Data of Loteprednol Etabonate

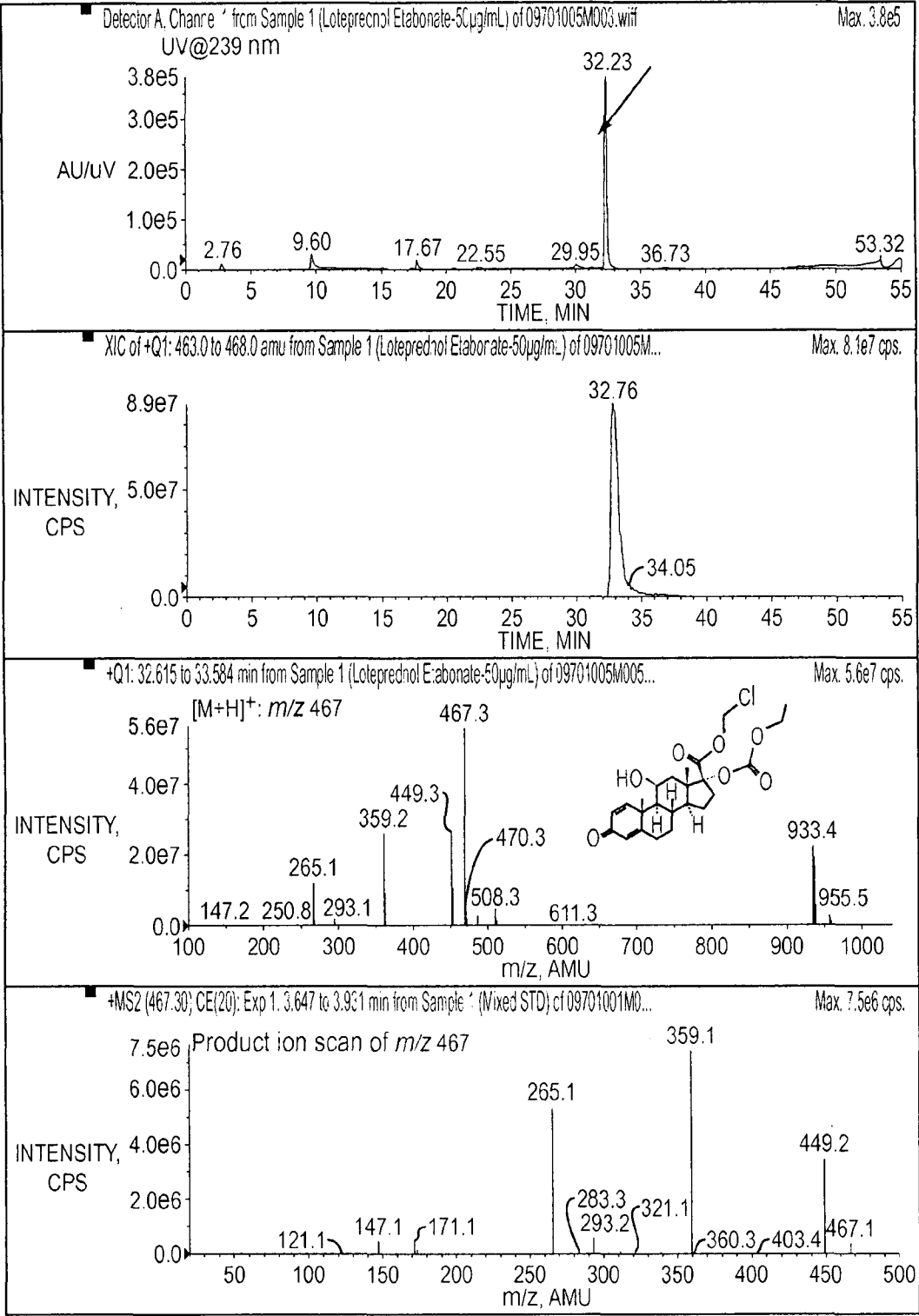


FIG. 3

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC-UV/(+)ESI-MS and MS/MS Spectral Data of Difluprednate

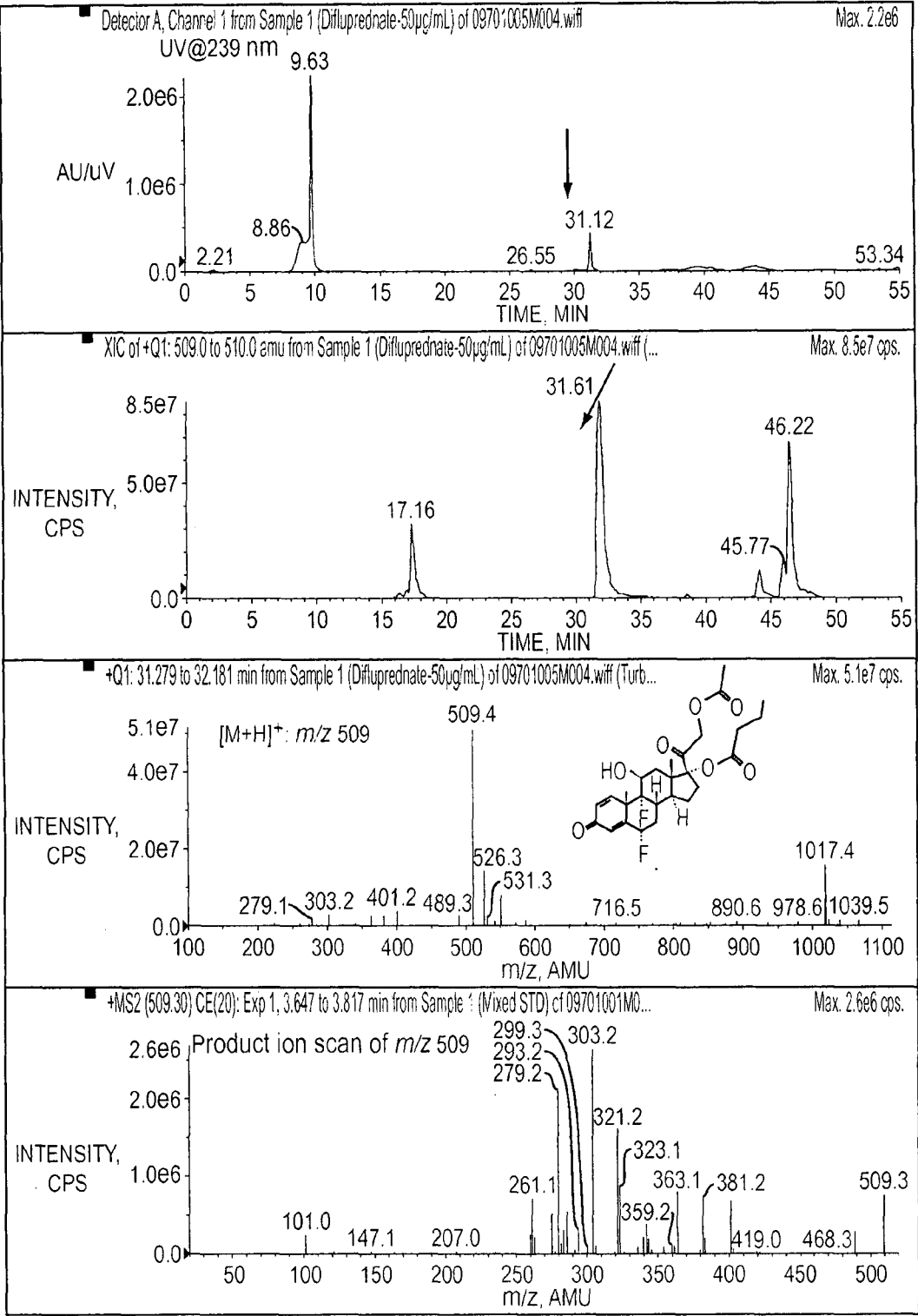


FIG. 4

104

HPLC/UV Chromatograms of PVP-I at the Concentration of 200 µg/mL for Dexamethasone Sodium Phosphate

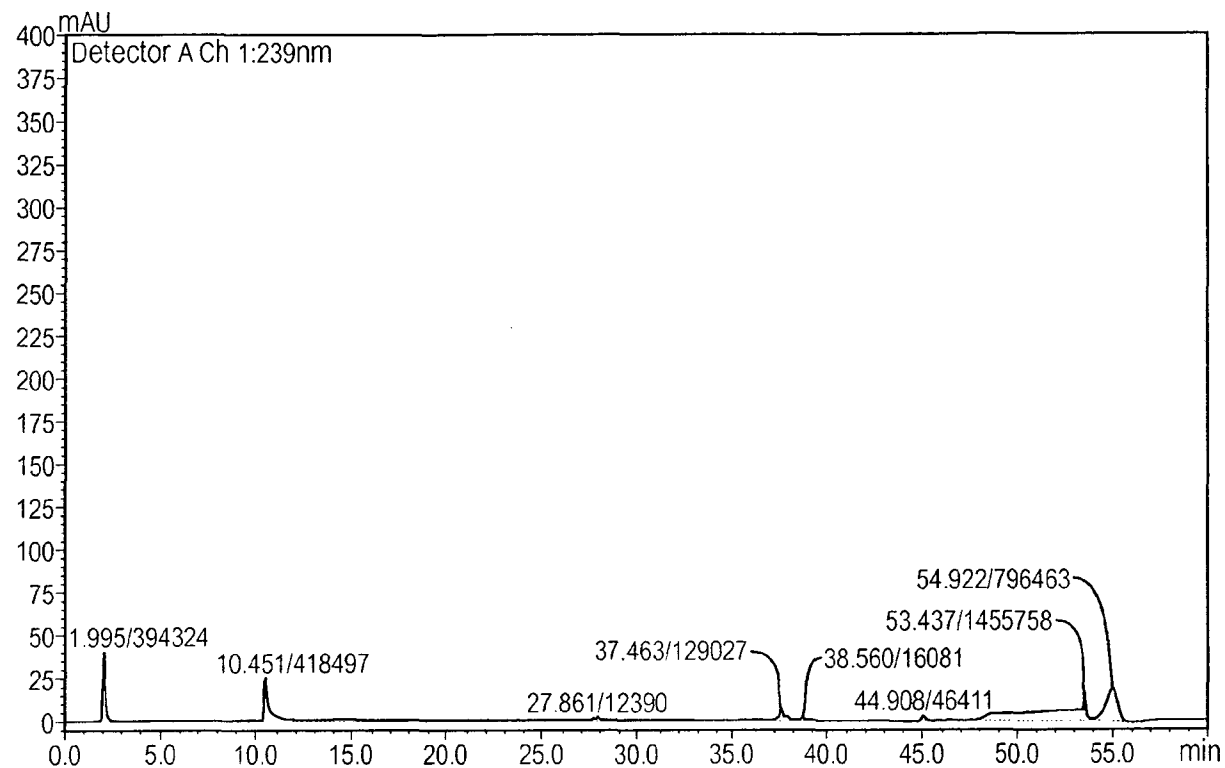


FIG. 5

HPLC/UV Chromatograms of Dexamethasone Sodium Phosphate
in PVP-I for Day 0

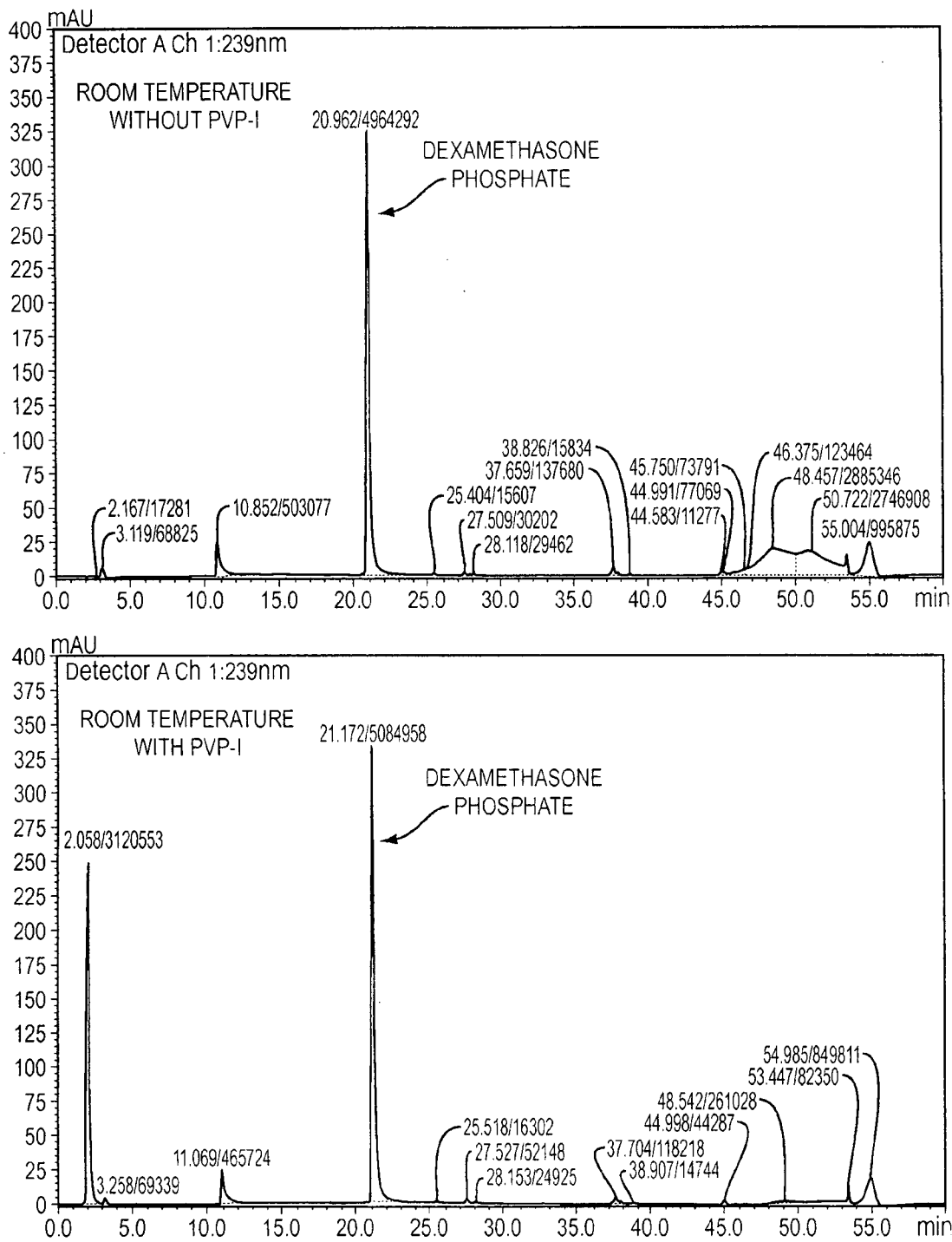


FIG. 6

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

186

HPLC/UV Chromatograms of Dexamethasone Sodium Phosphate in PVP-I for Day 0

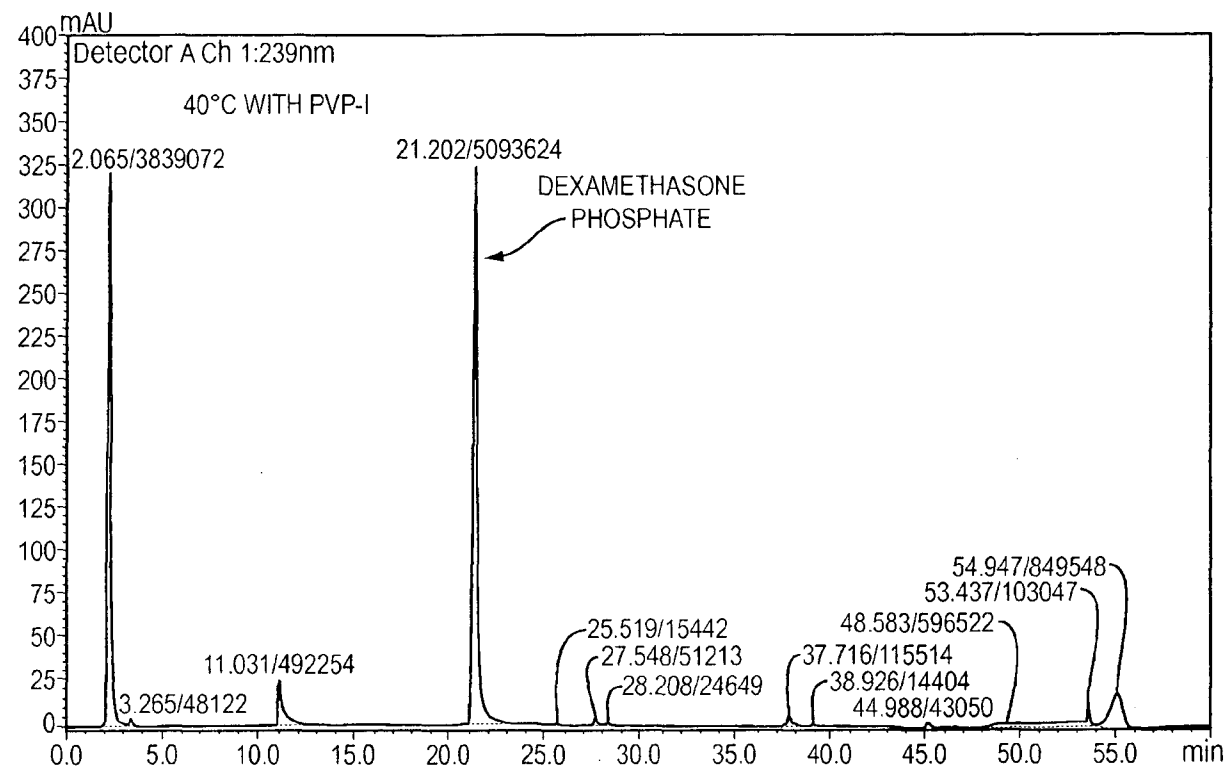


FIG. 7

107

HPLC/UV Chromatograms of Dexamethasone Sodium Phosphate
in PVP-I for Two Weeks

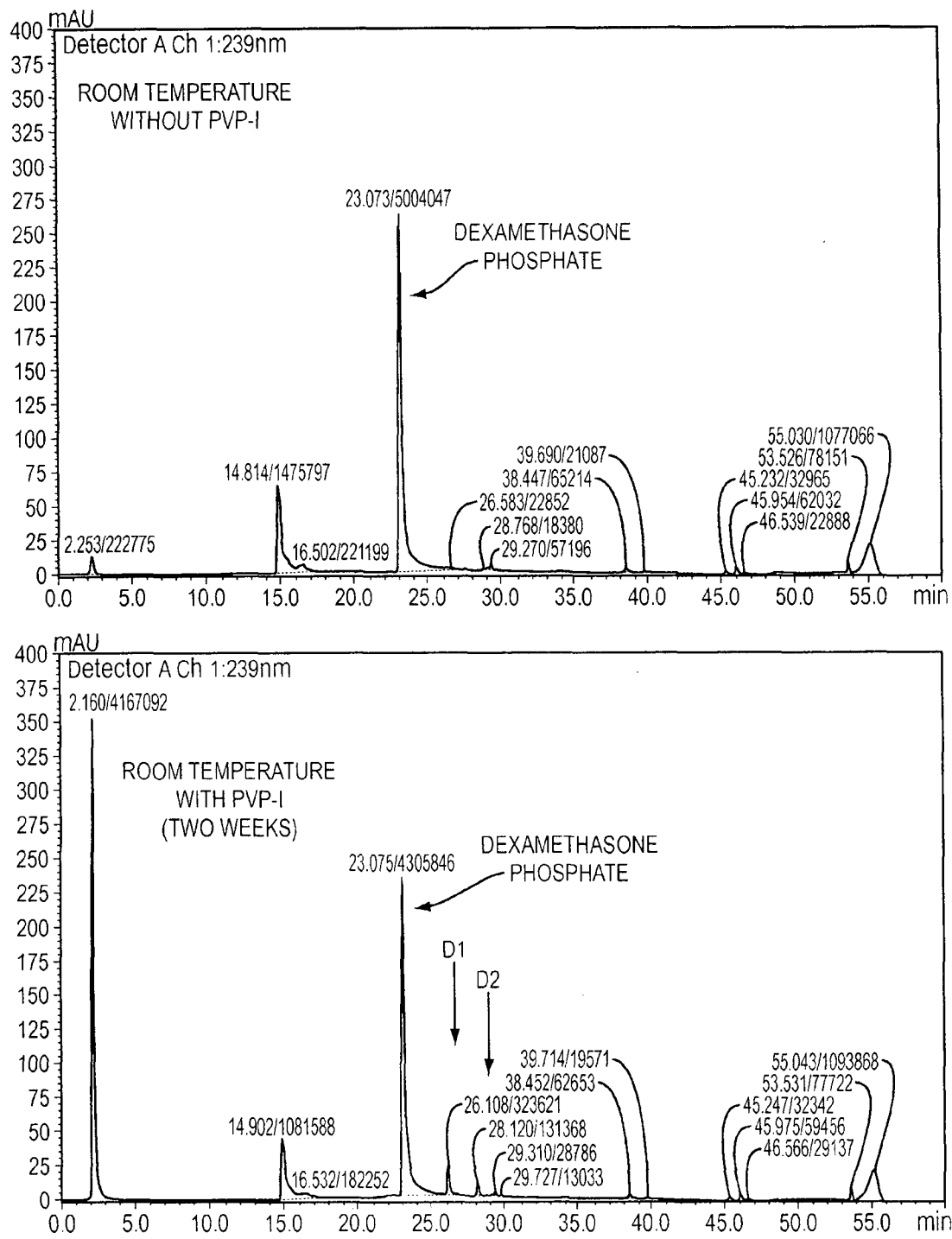


FIG. 8

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

108

HPLC/UV Chromatograms of Dexamethasone Sodium Phosphate in PVP-I for Two Weeks

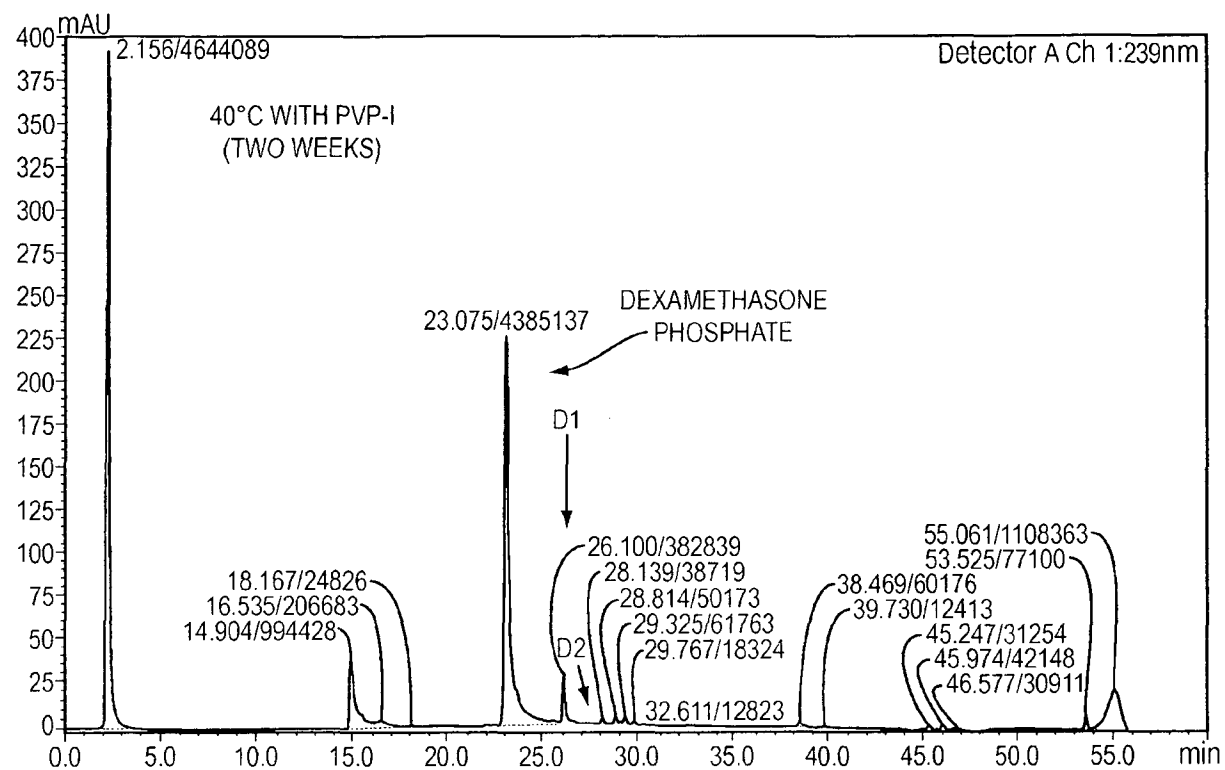


FIG. 9

189

10/45

HPLC/UV Chromatograms of Dexamethasone Sodium Phosphate
in PVP-I for One Month

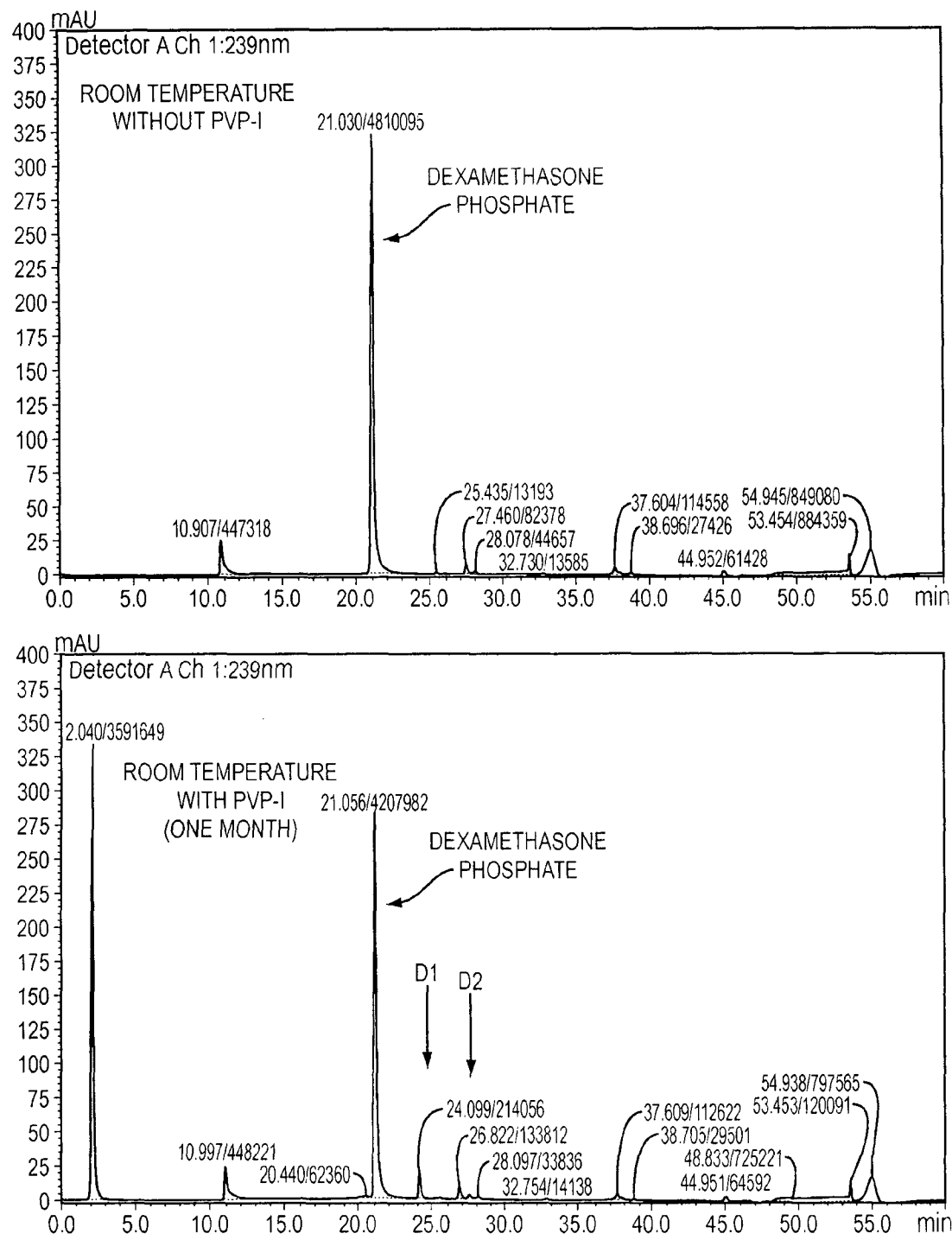


FIG. 10

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

190

11/45

HPLC/UV Chromatograms of Dexamethasone Sodium Phosphate
in PVP-I for One Month

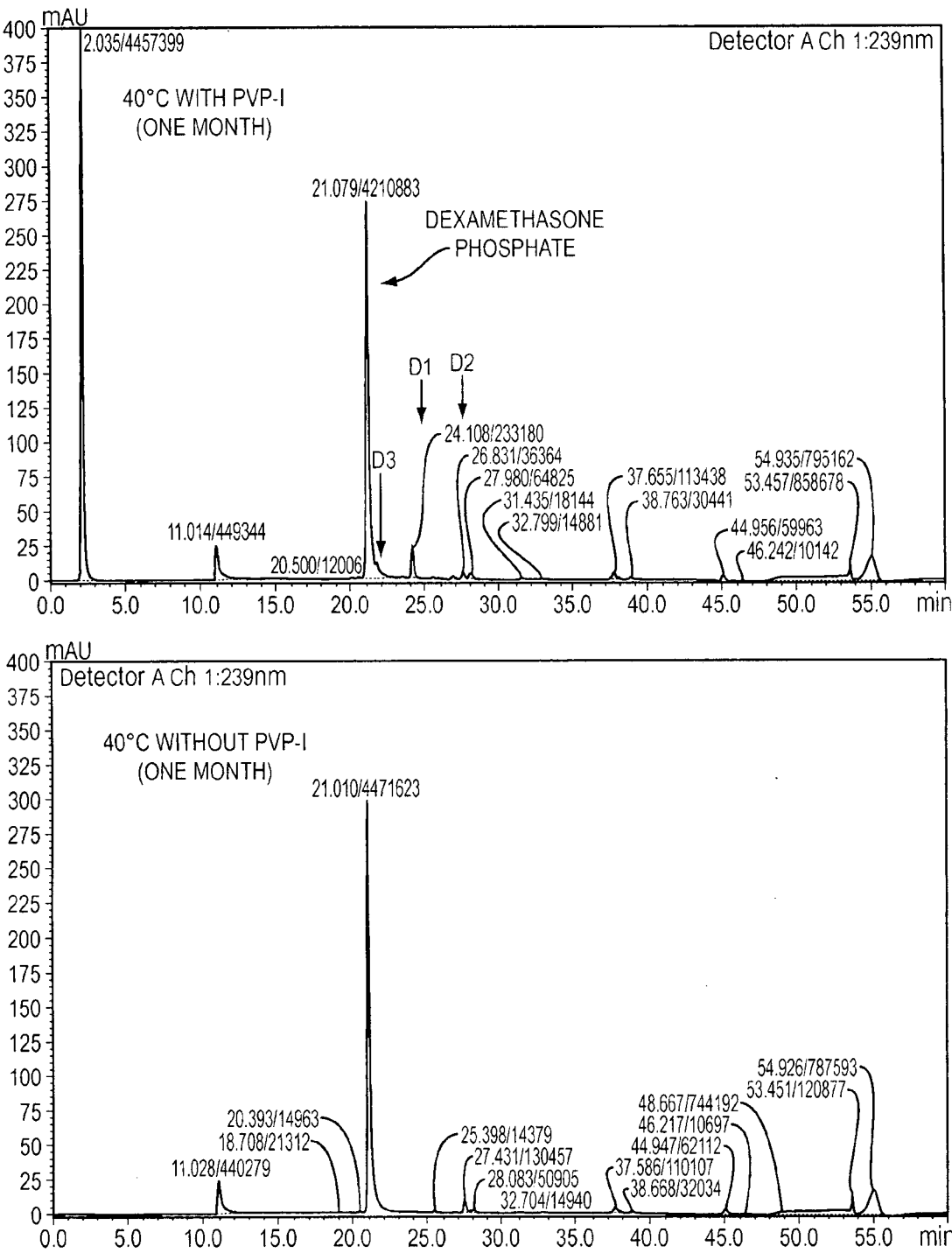


FIG. 11

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

191

HPLC/UV Chromatograms (Expanded) of Dexamethasone Sodium Phosphate
in PVP-I for One Month

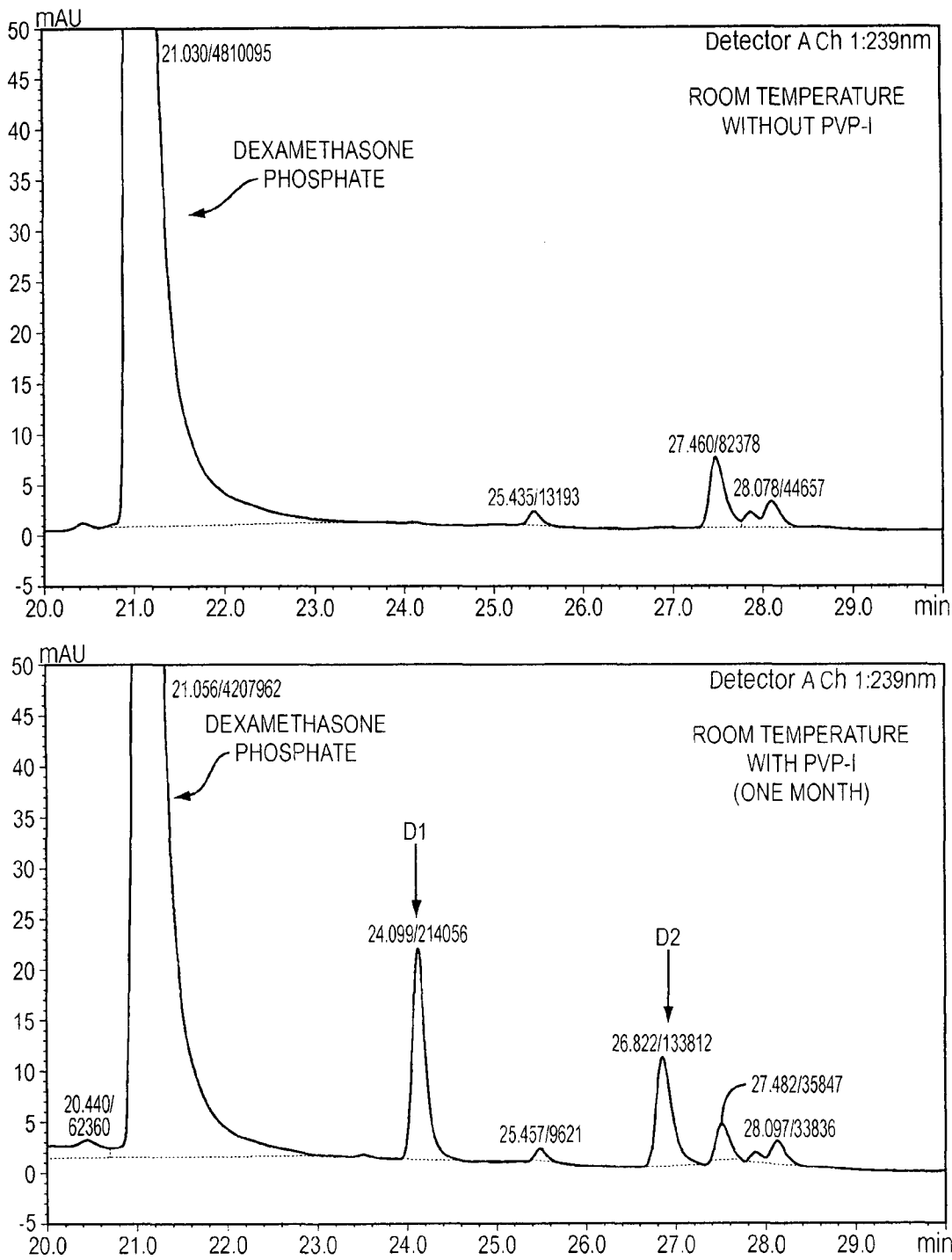


FIG. 12

192

HPLC/UV Chromatograms (Expanded) of Dexamethasone Sodium Phosphate
in PVP-I for One Month

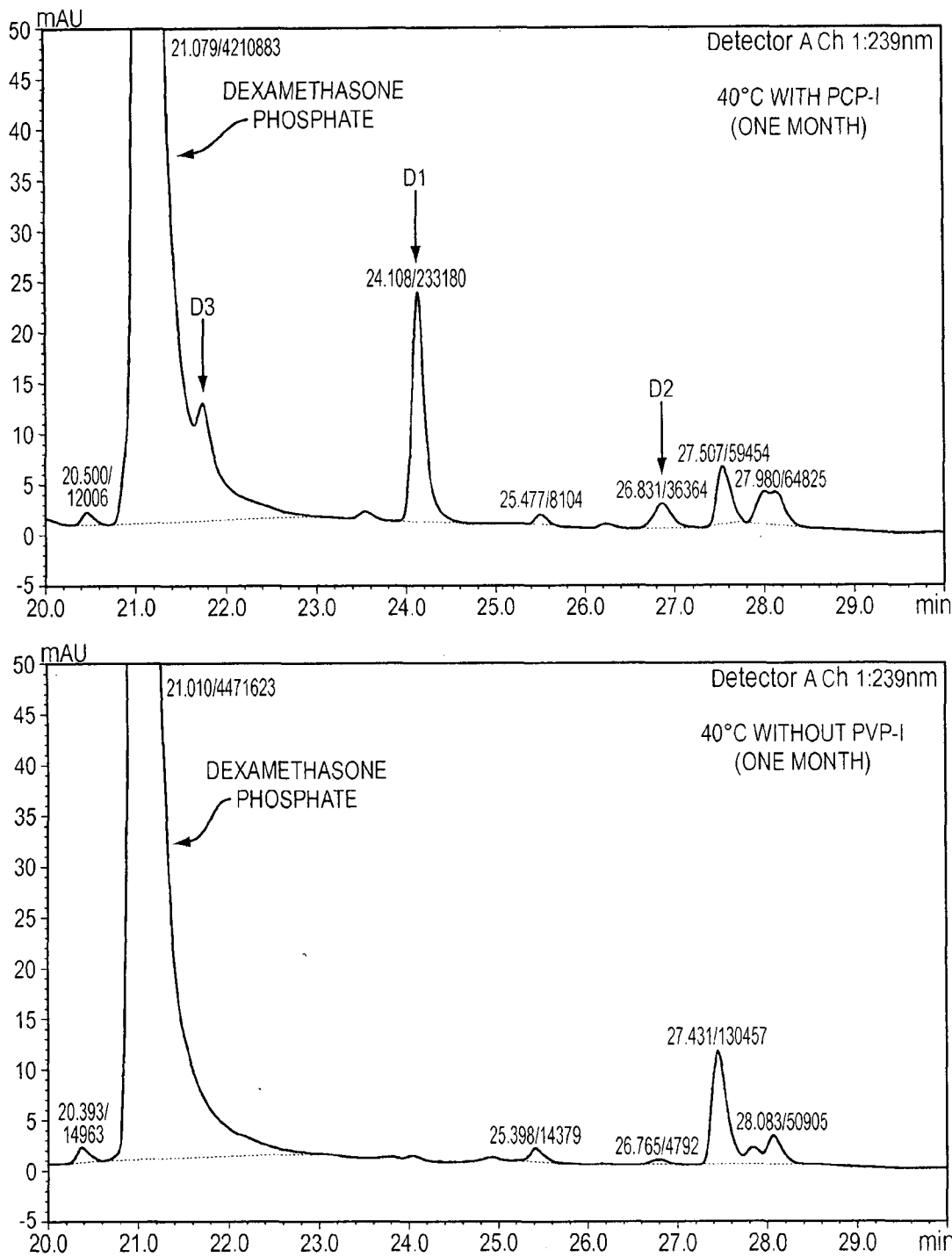


FIG. 13

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

193

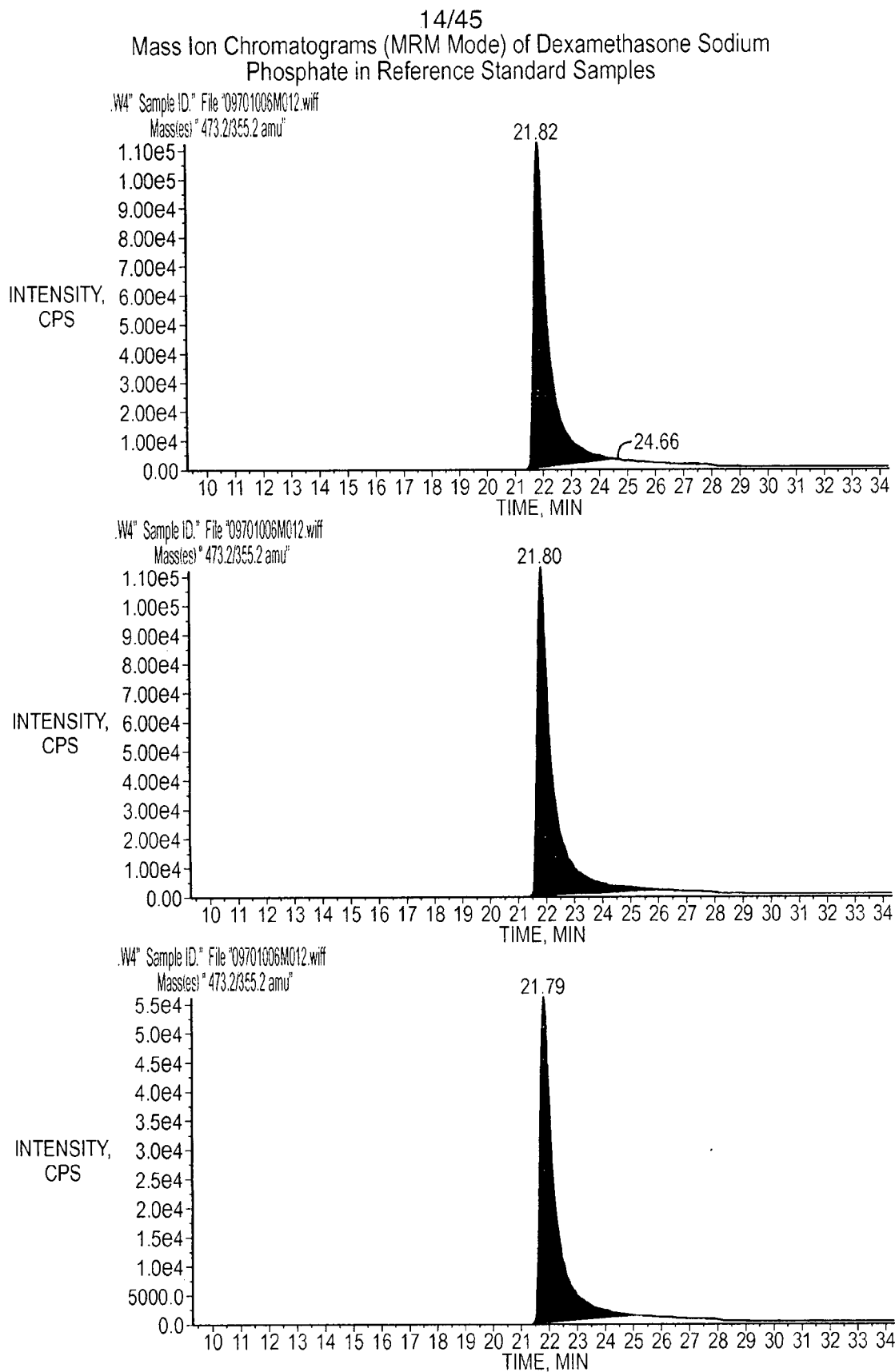


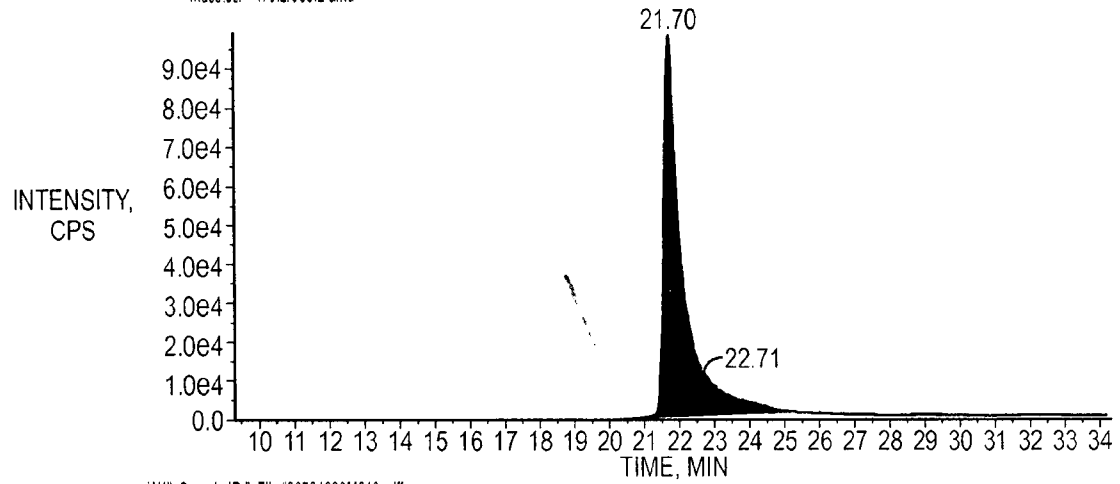
FIG. 14

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

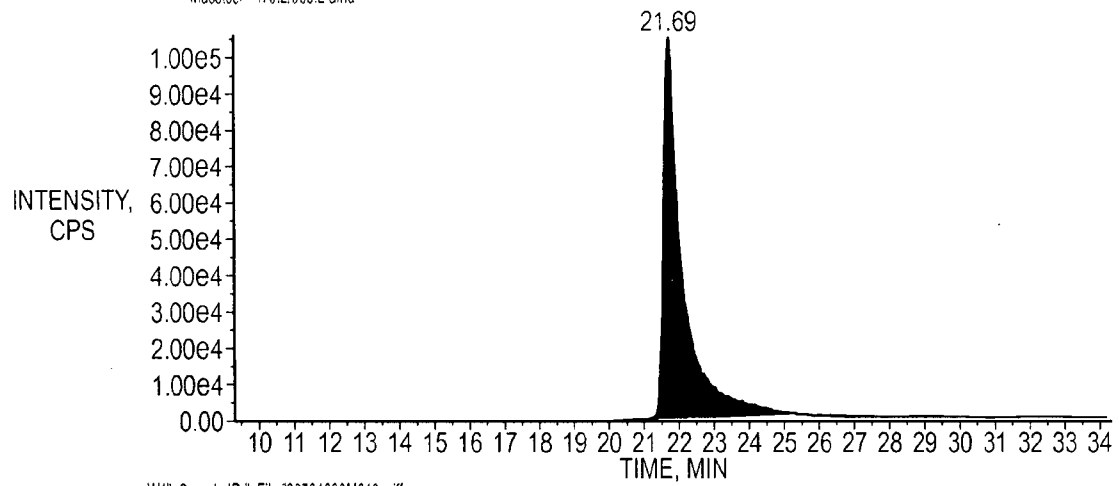
15/45

Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Dexamethasone Sodium Phosphate in One Month Room Temperature Stability Sample in the Presence of PVP-I

4.5 µg/mL Sample ID: "C9701006M013.wiff"
Mass(es) "473.2/355.2 amu"



.W4" Sample ID: "C9701006M013.wiff"
Mass(es) "473.2/355.2 amu"



.W4" Sample ID: "C9701006M013.wiff"
Mass(es) "473.2/355.2 amu"

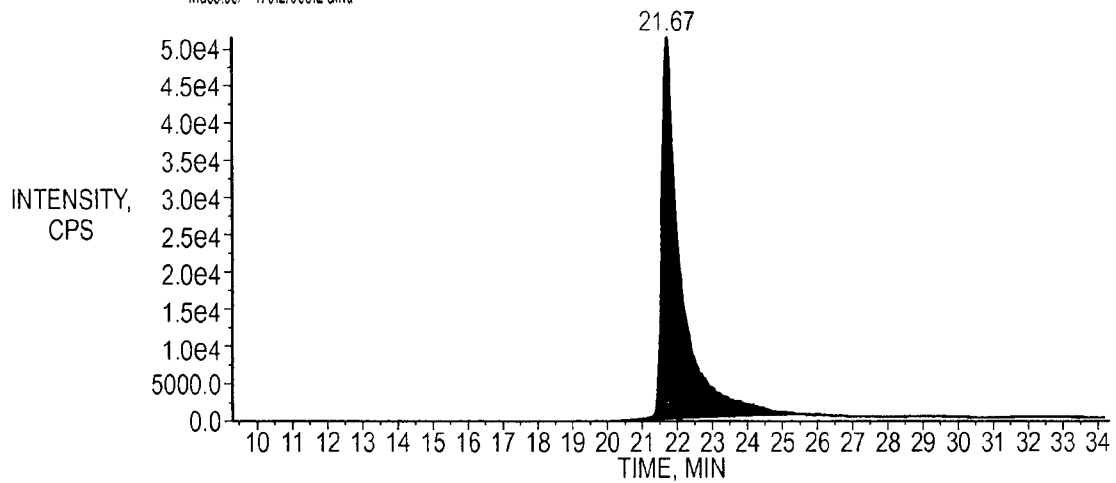


FIG. 15

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

195

16/45

Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Dexamethasone Sodium Phosphate in One Month 40°C Stability Sample in the Presence of PVP-I

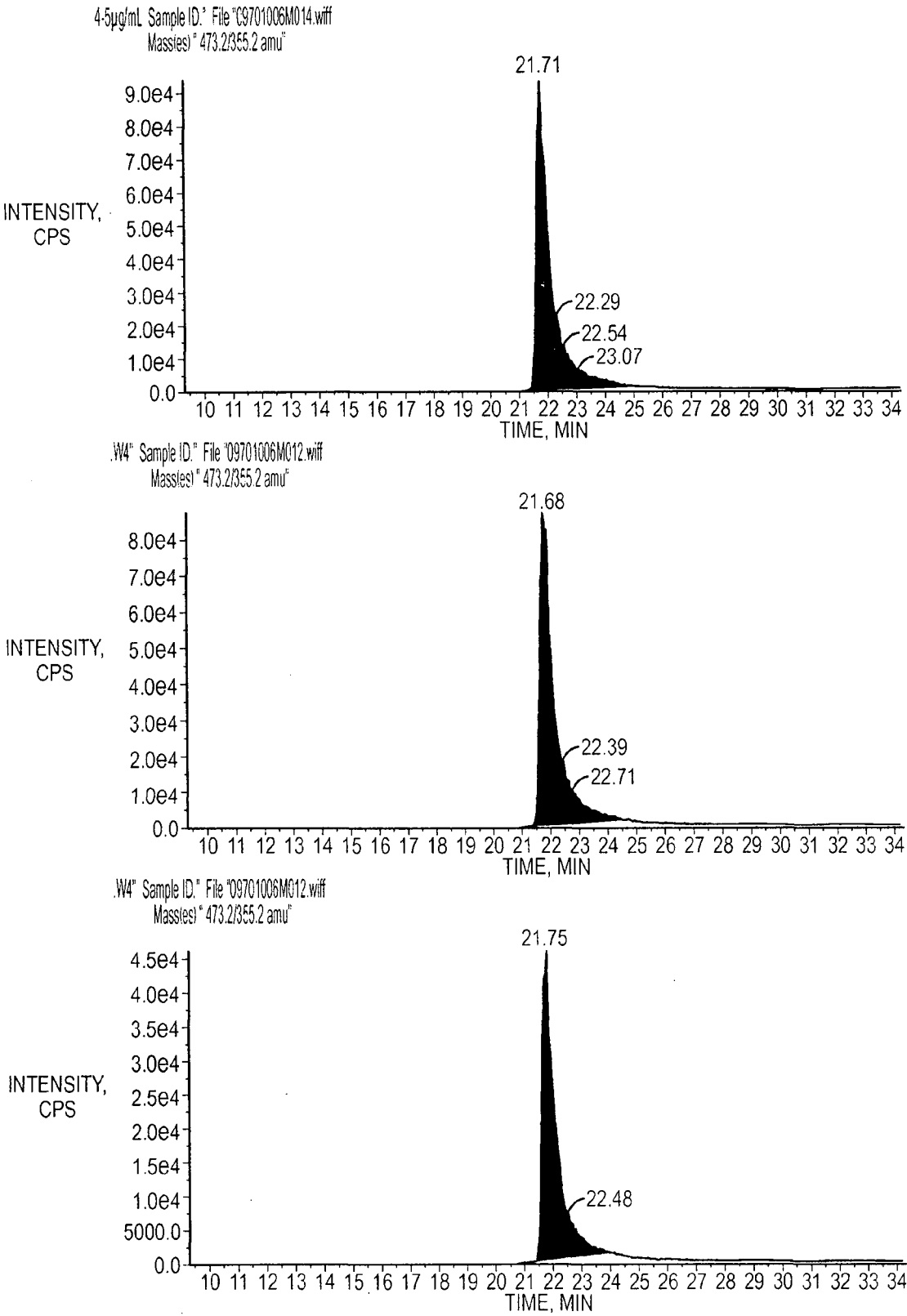


FIG. 16

196

HPLC/UV Chromatograms of PVP-I at the Concentration of 20 µg/mL for Prednisolone Acetate

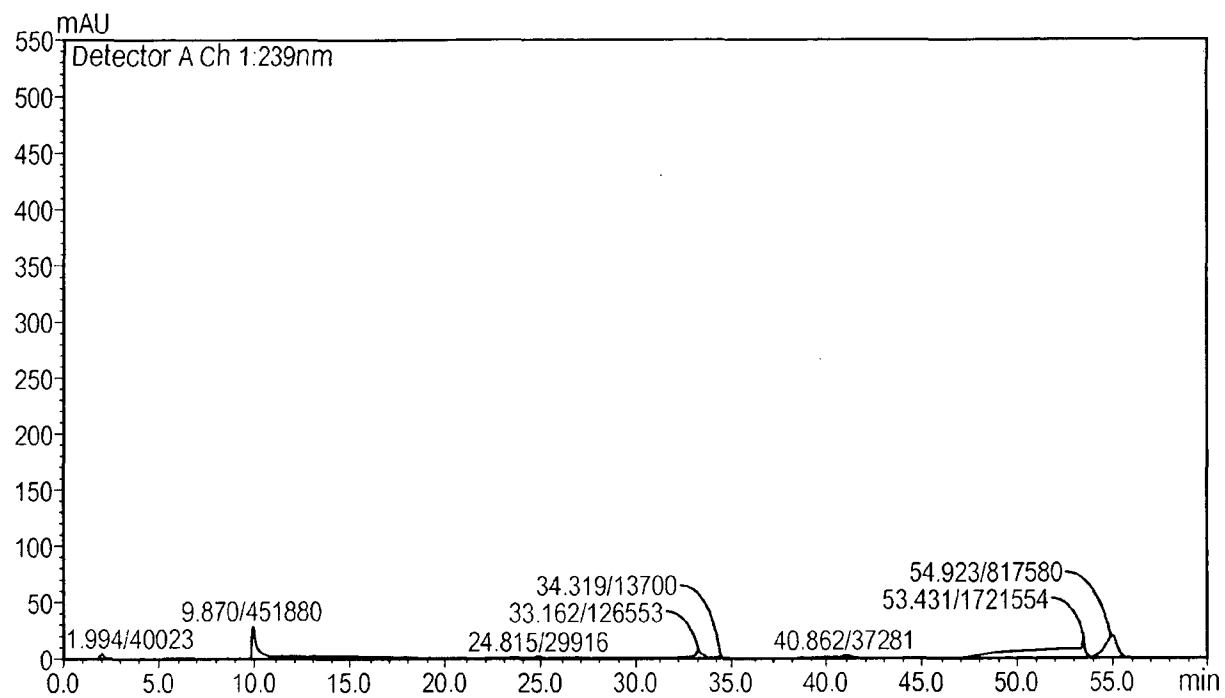


FIG. 17

197

HPLC/UV Chromatograms of Prednisolone Acetate in PVP-I for Day 0

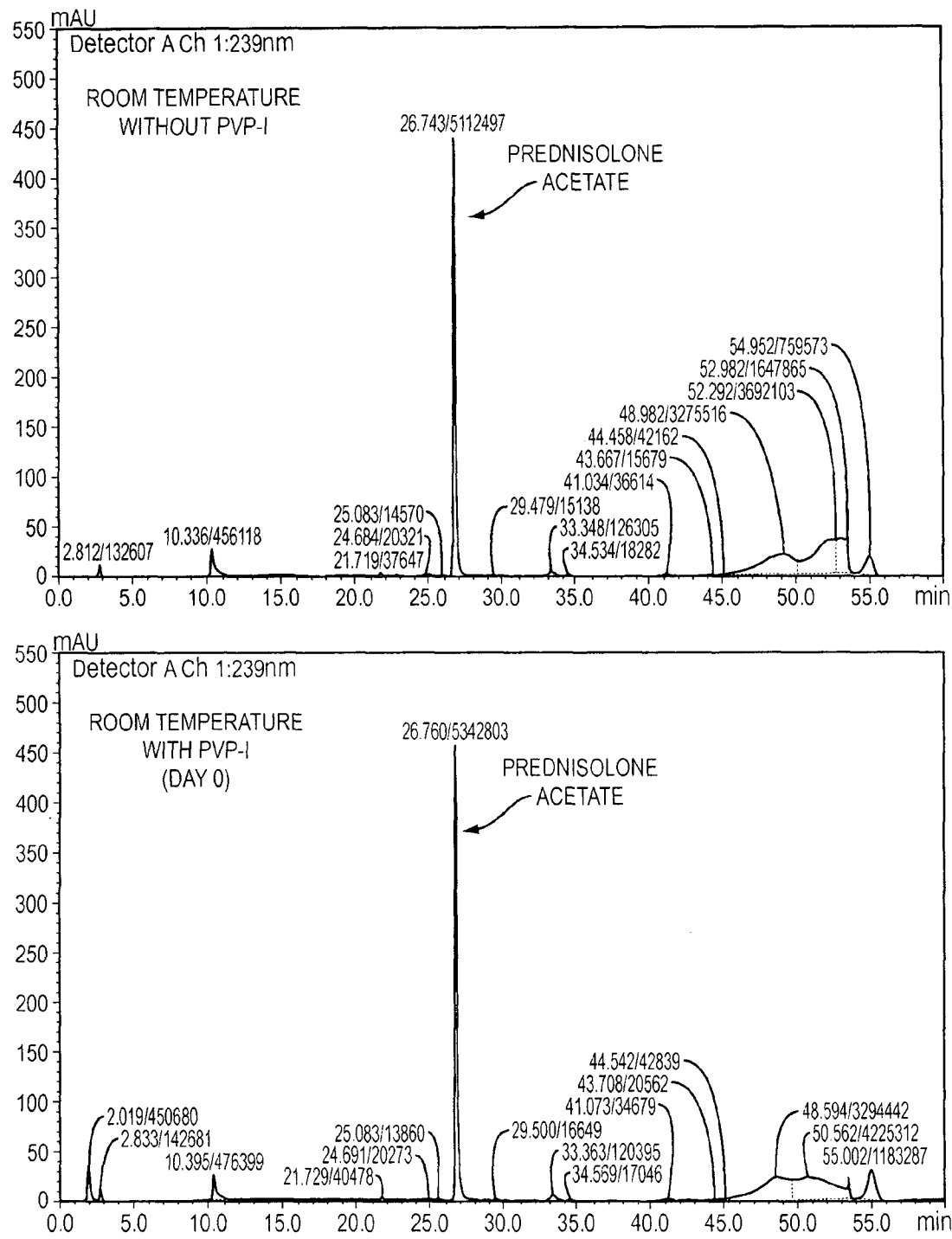


FIG. 18

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of Prednisolone Acetate in PVP-I for Day 0

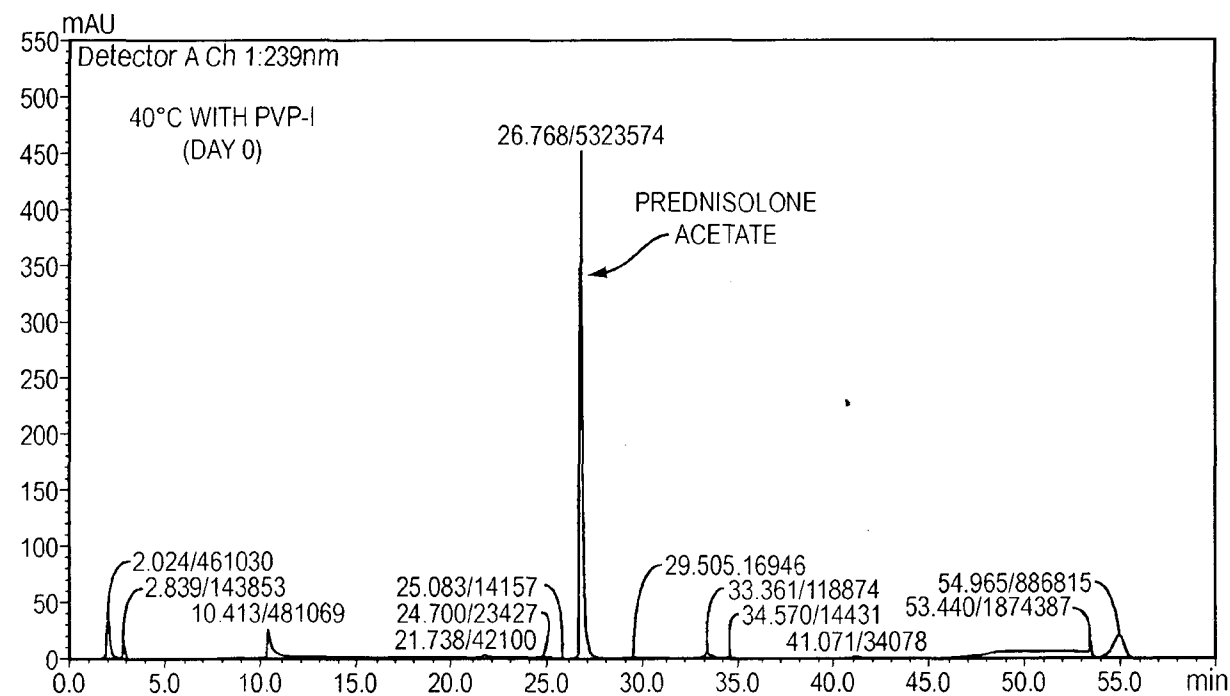


FIG. 19

190

HPLC/UV Chromatograms of Prednisolone Acetate in PVP-I for Two Weeks

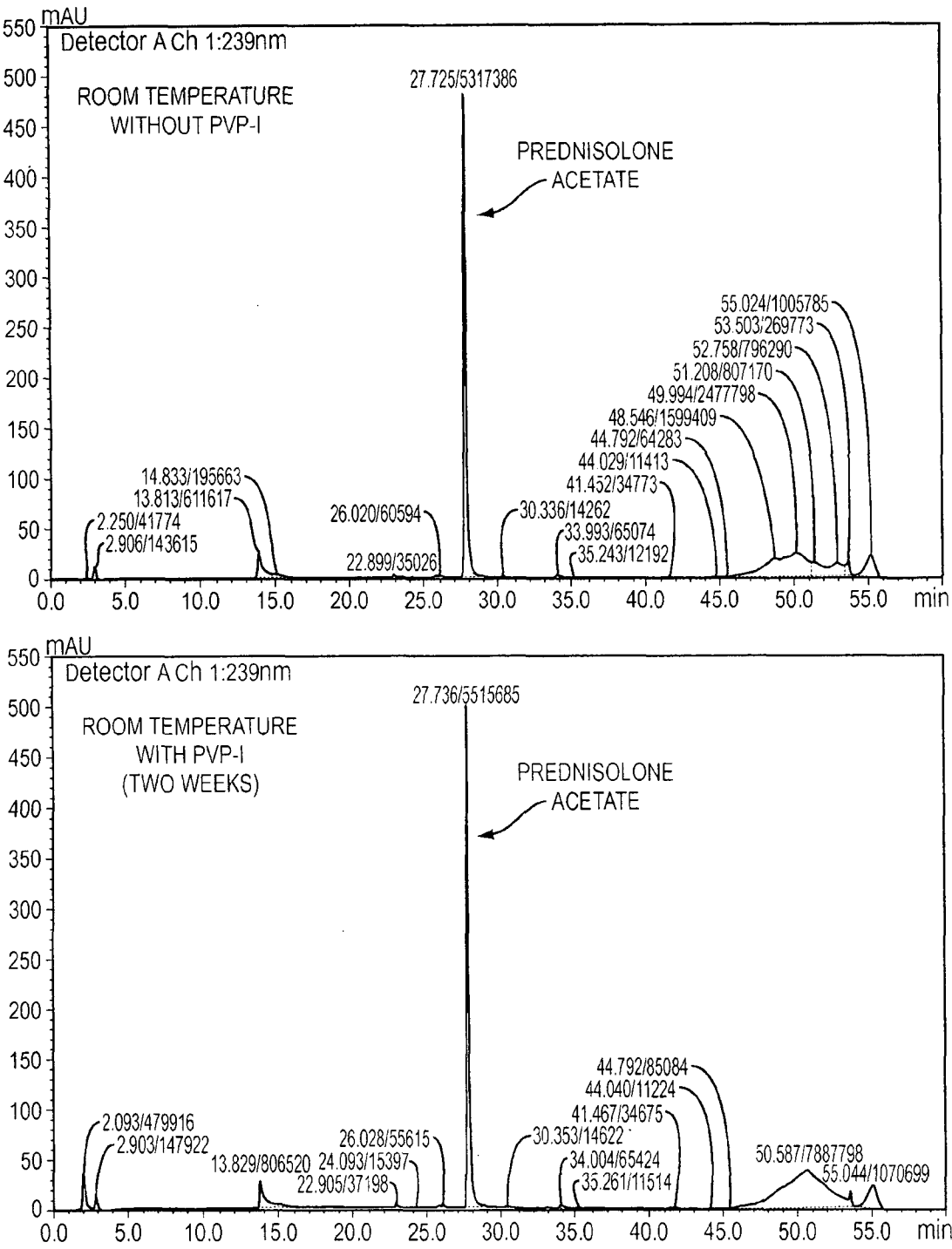


FIG. 20

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

200

HPLC/UV Chromatograms of Prednisolone Acetate in PVP-I for Two Weeks

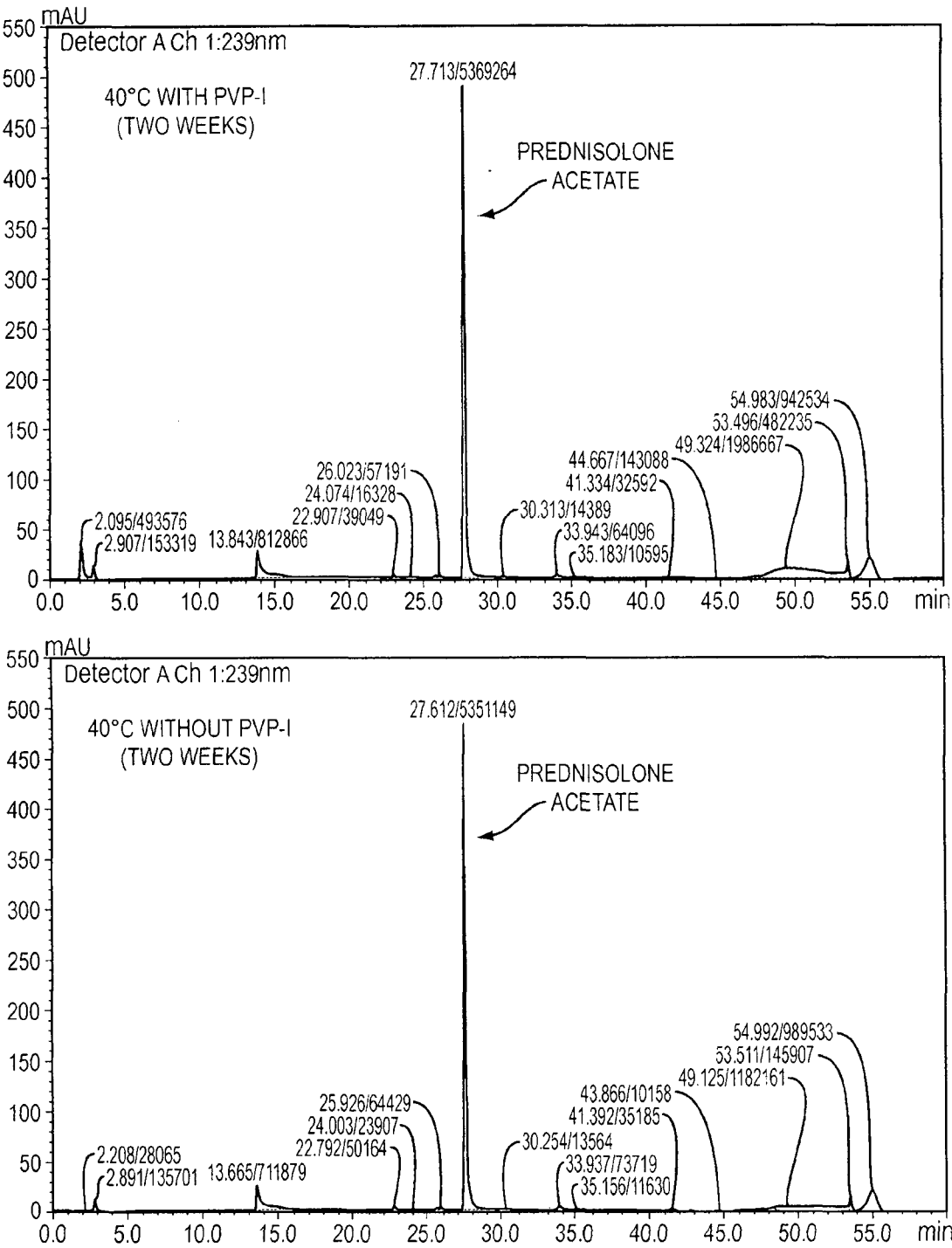


FIG. 21

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

201

HPLC/UV Chromatograms of Prednisolone Acetate in PVP-I for One Month

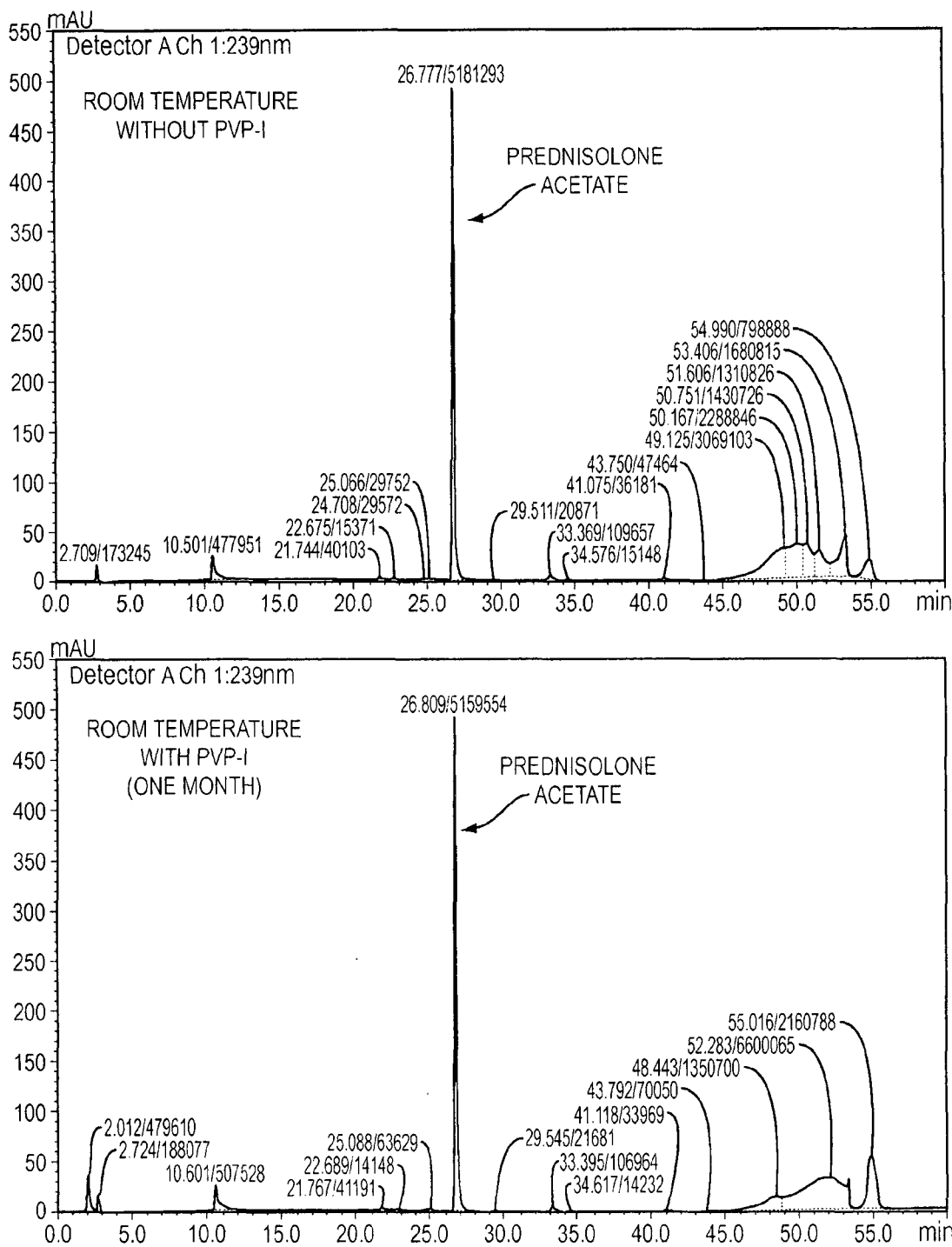


FIG. 22

HPLC/UV Chromatograms of Prednisolone Acetate in PVP-I for One Month

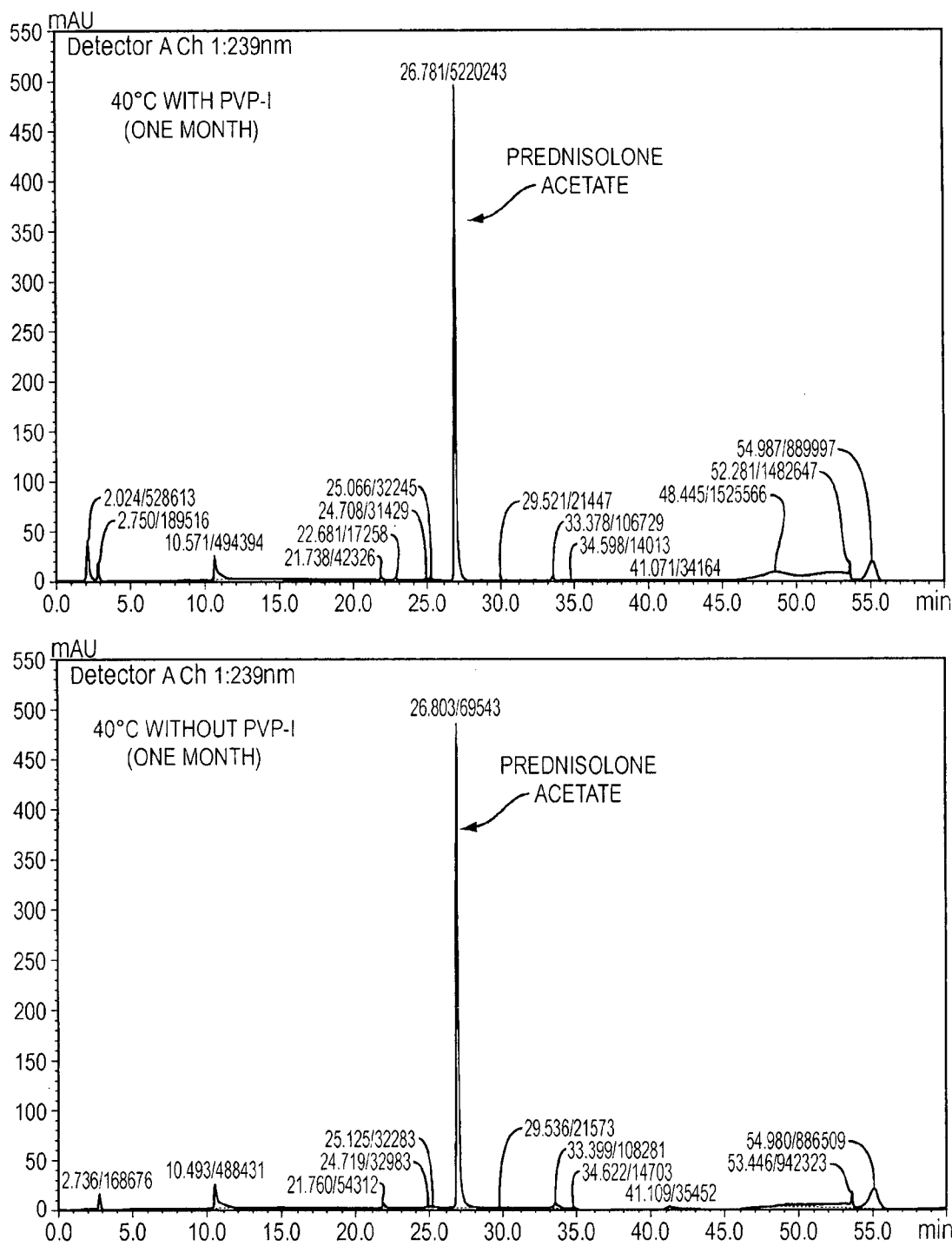


FIG. 23

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

203

24/45
Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Prednisolone Acetate
in Reference Standard Samples

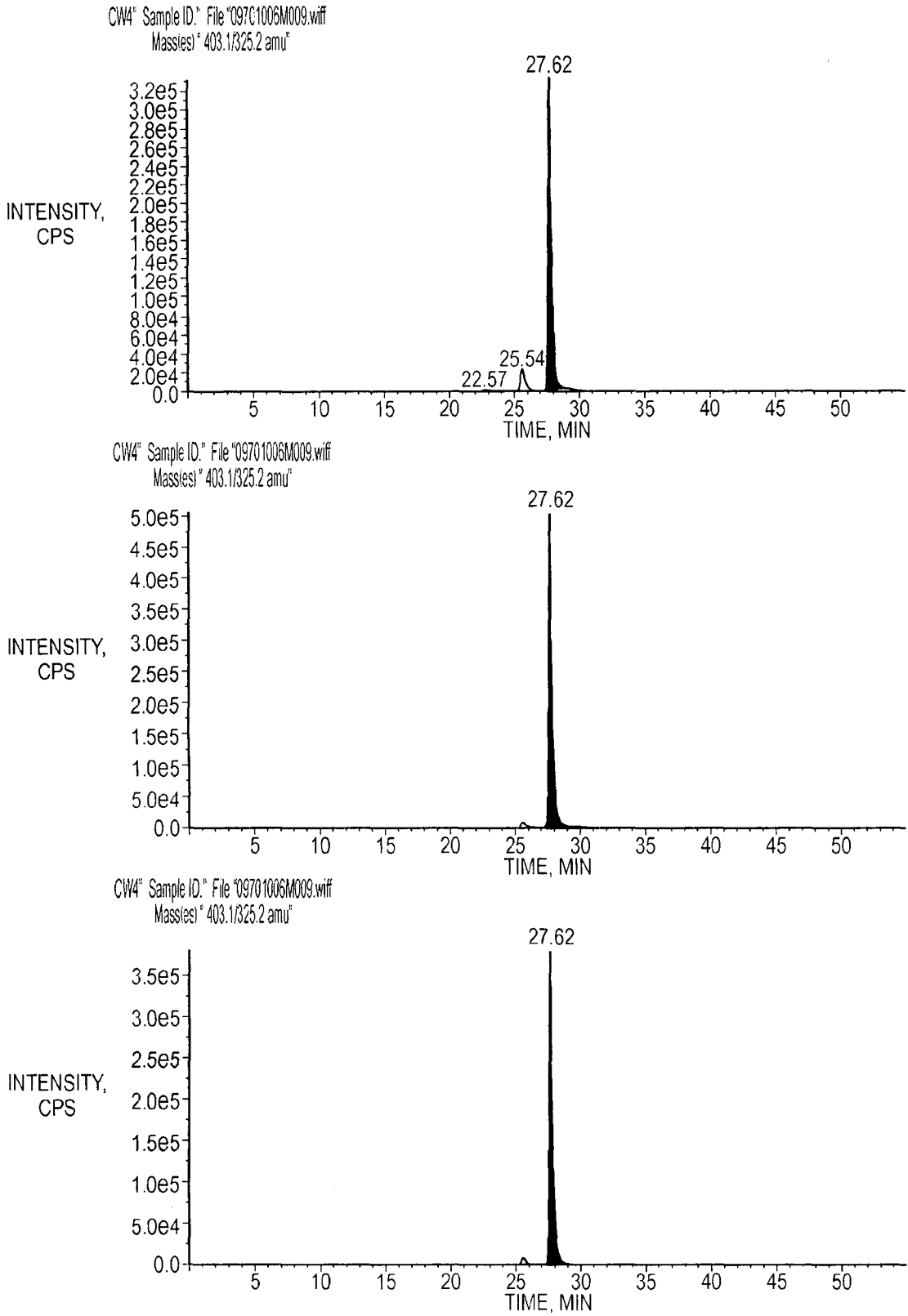


FIG. 24

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

204

25/45

Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Prednisolone Acetate in One Month
Room Temperature Stability Sample in the Presence of PVP-1

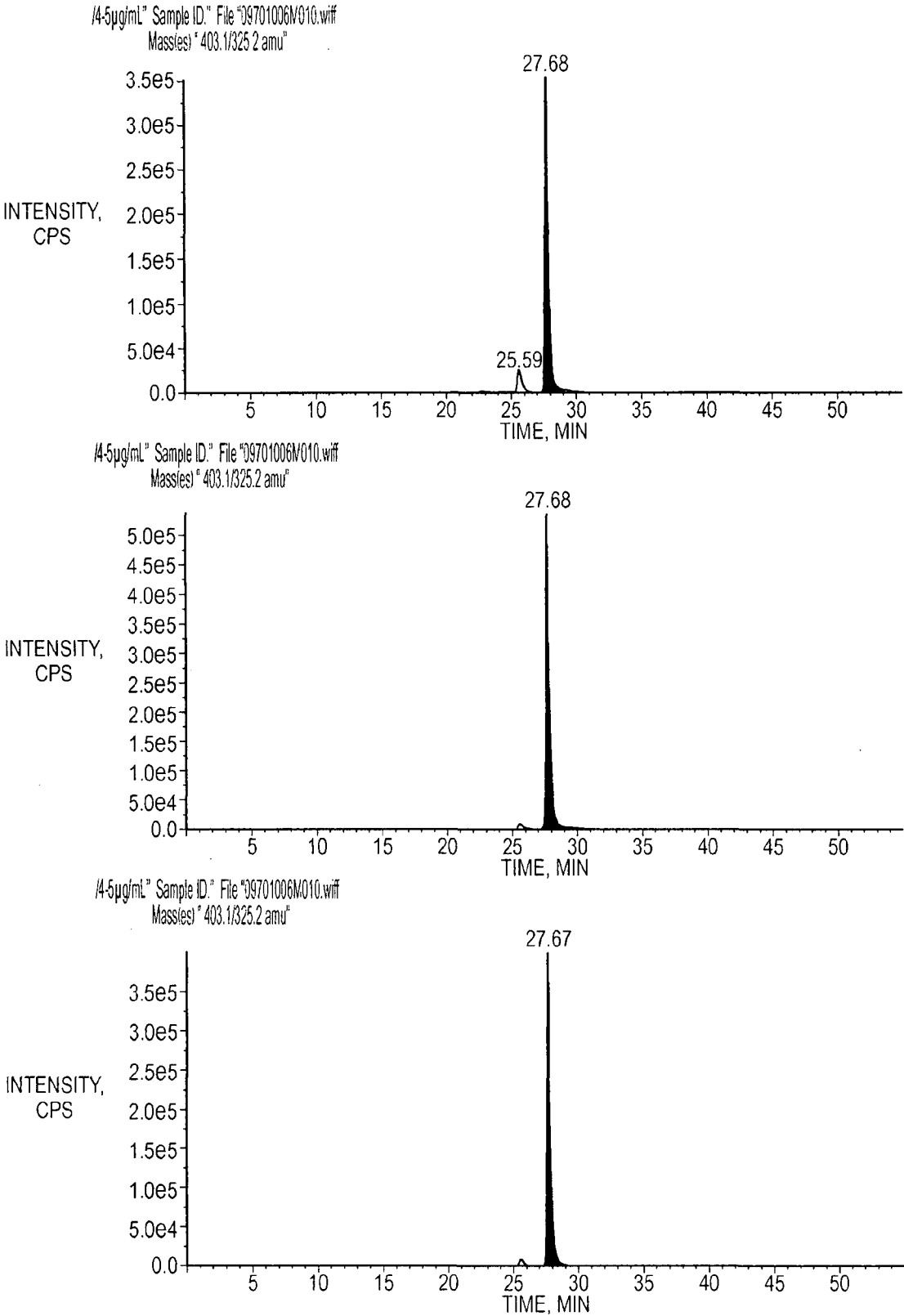


FIG. 25

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

205

26/45
Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Prednisolone Acetate in One Month
40°C Stability Sample in the Presence of PVP-I

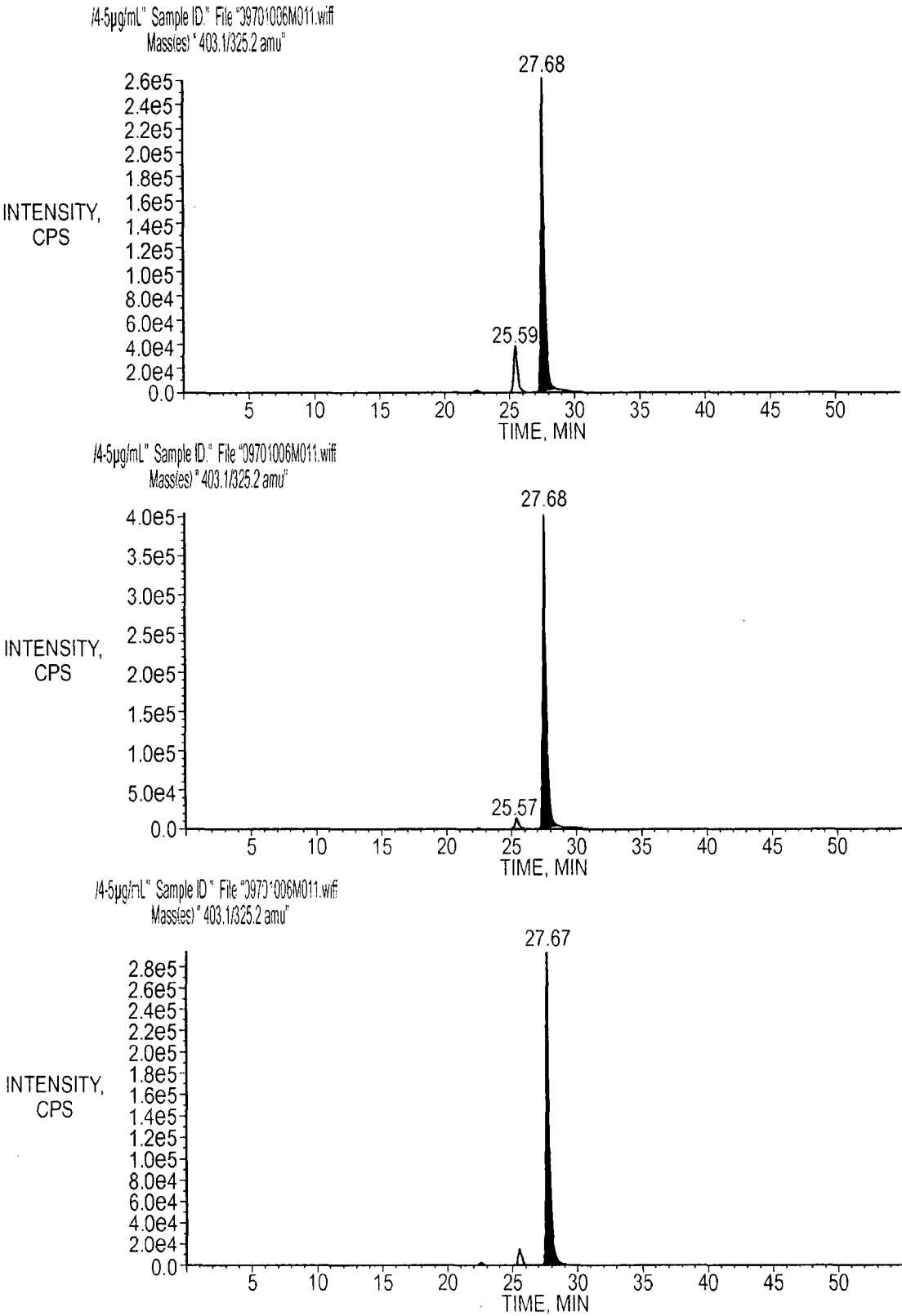


FIG. 26

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

206

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

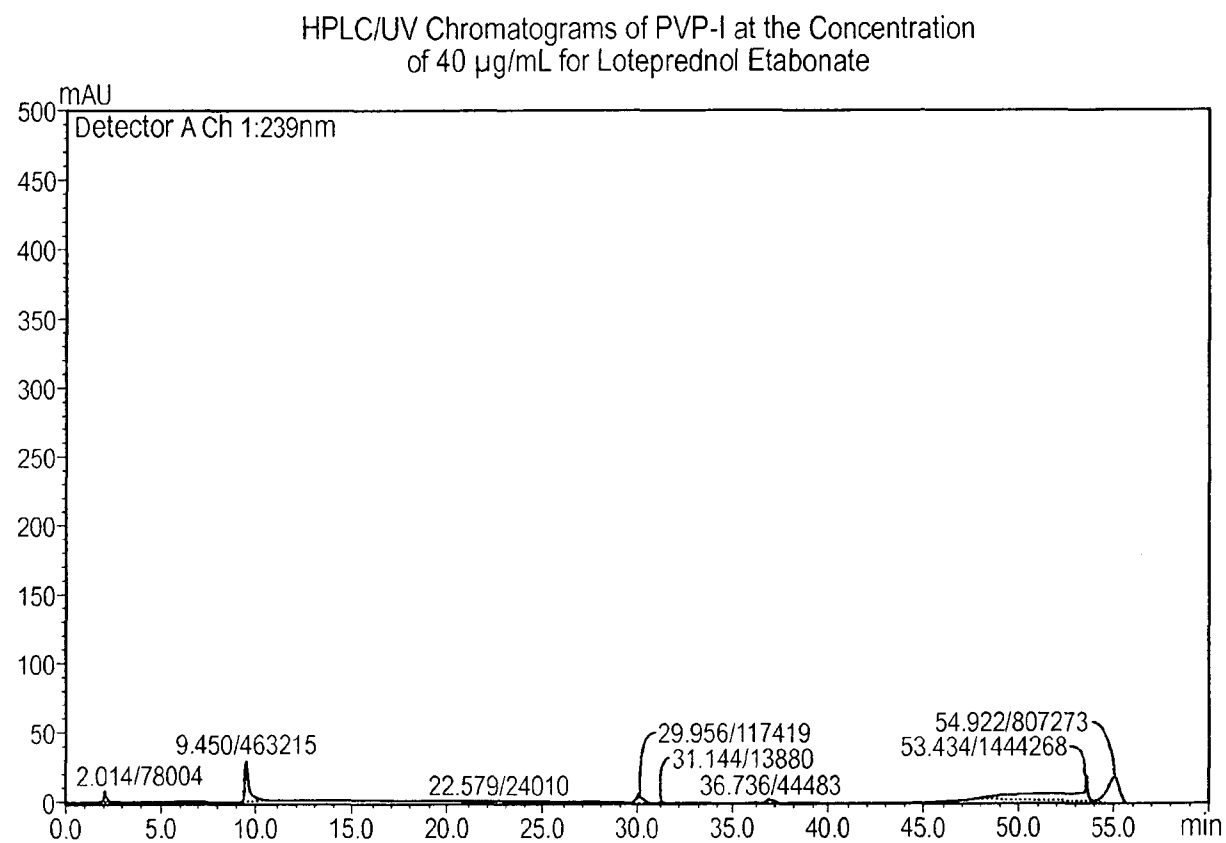


FIG. 27

207

HPLC/UV Chromatograms of Loteprednol Etabonate in PVP-I for Day 0

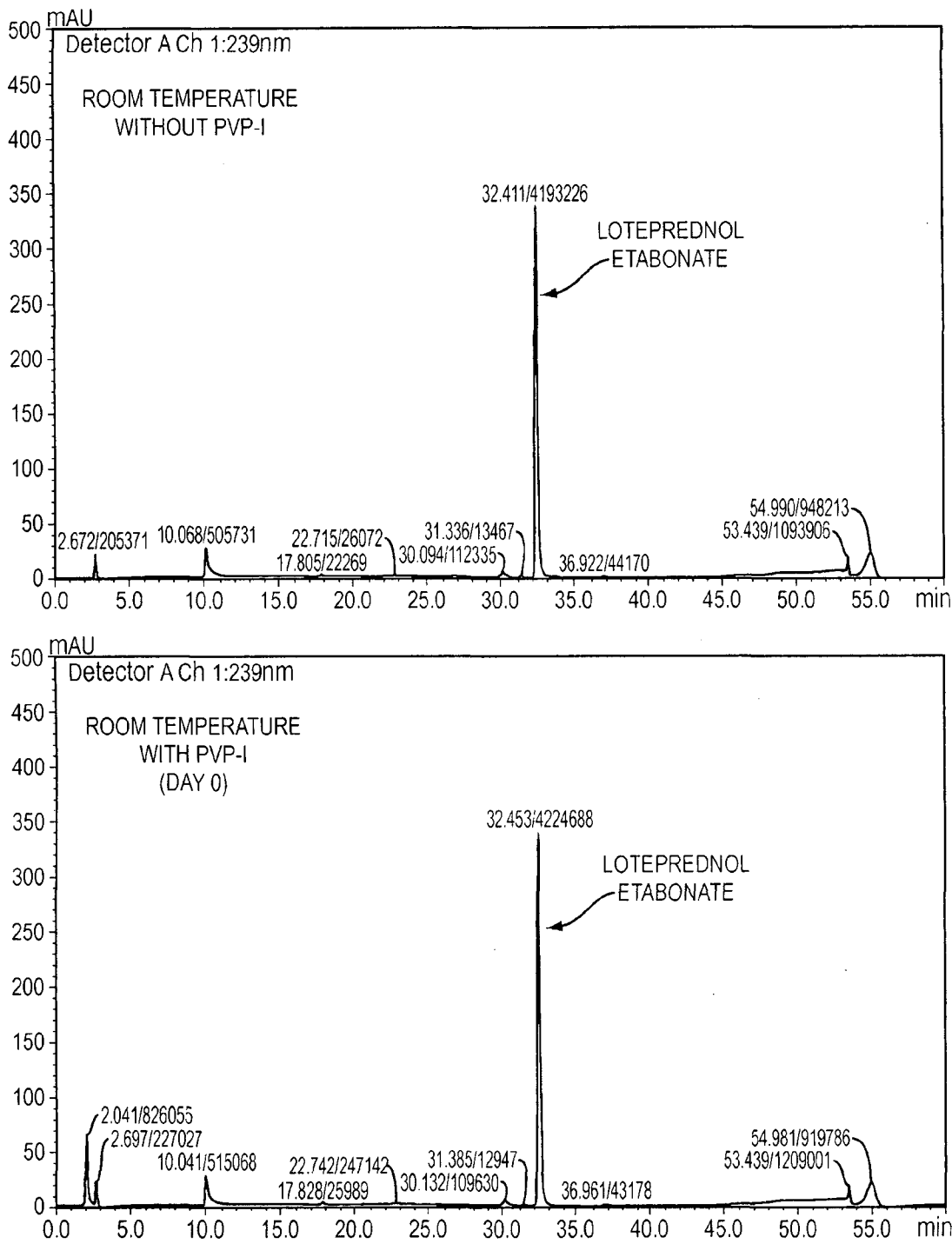


FIG. 28

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

208

HPLC/UV Chromatograms of Loteprednol Etabonate in PVP-I for Day 0

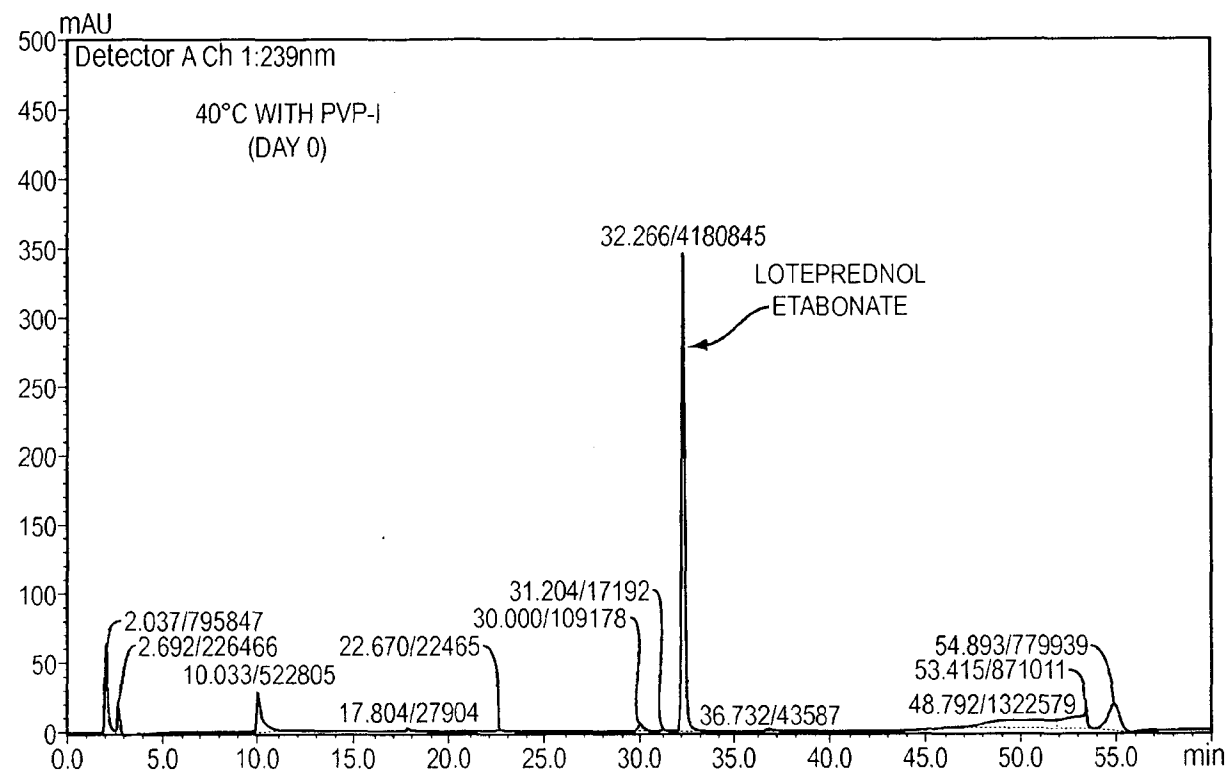


FIG. 29

30/45

HPLC/UV Chromatograms of Loteprednol Etabonate in PVP-I for Two Weeks

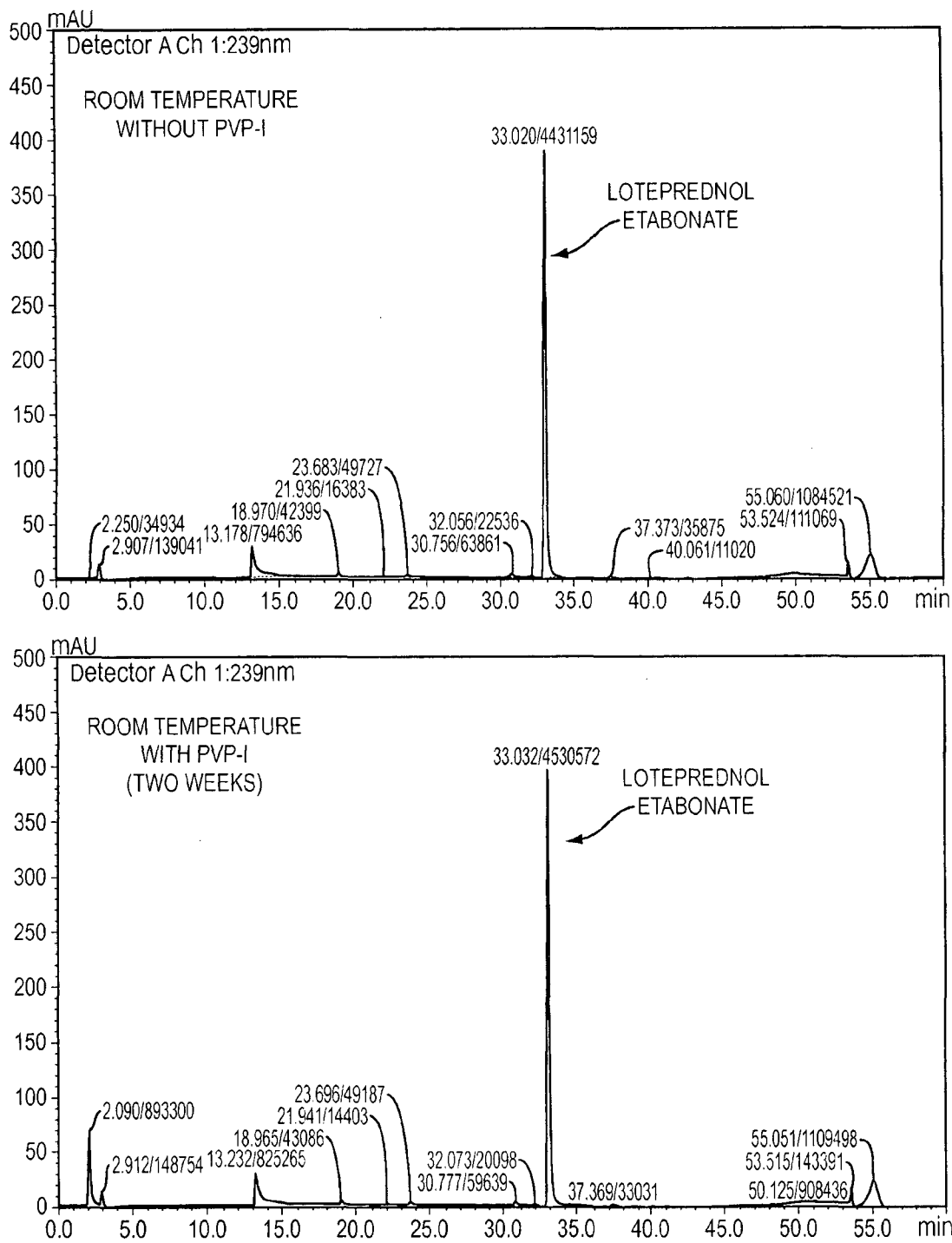


FIG. 30

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

210

HPLC/UV Chromatograms of Loteprednol Etabonate in PVP-I for Two Weeks

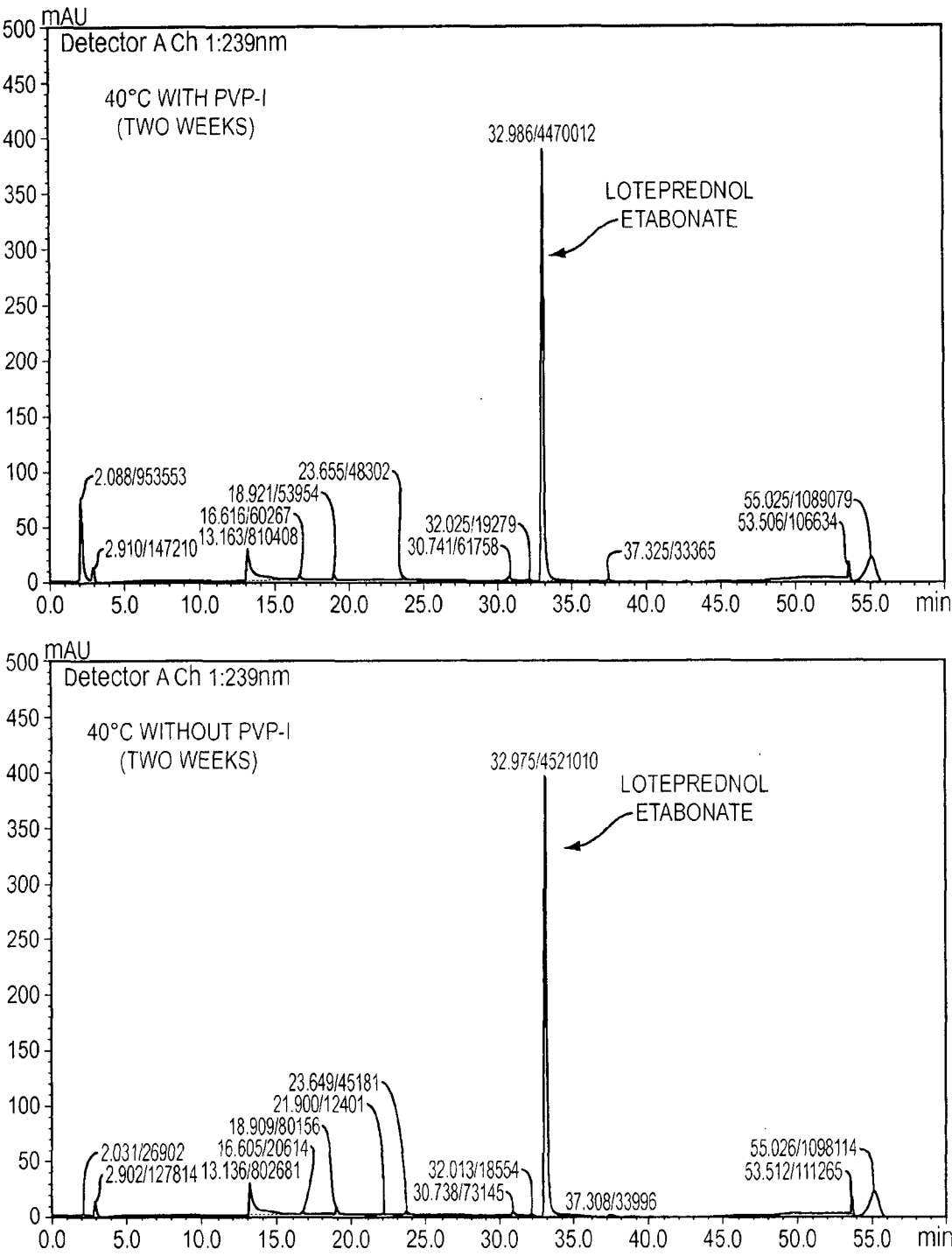


FIG. 31

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of Loteprednol Etabonate in PVP-I for One Month

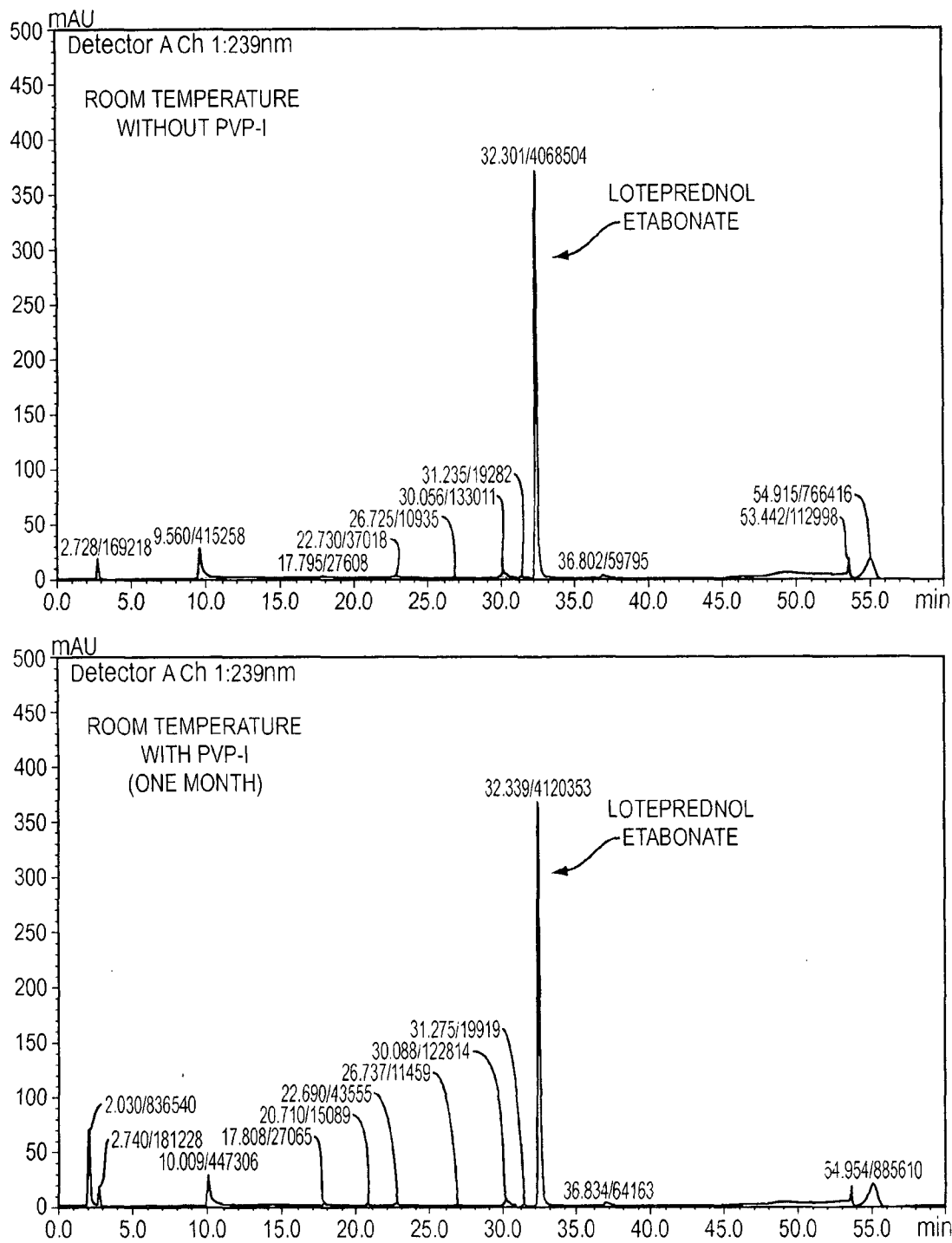


FIG. 32

2/12

HPLC/UV Chromatograms of Loteprednol Etabonate in PVP-I for One Month

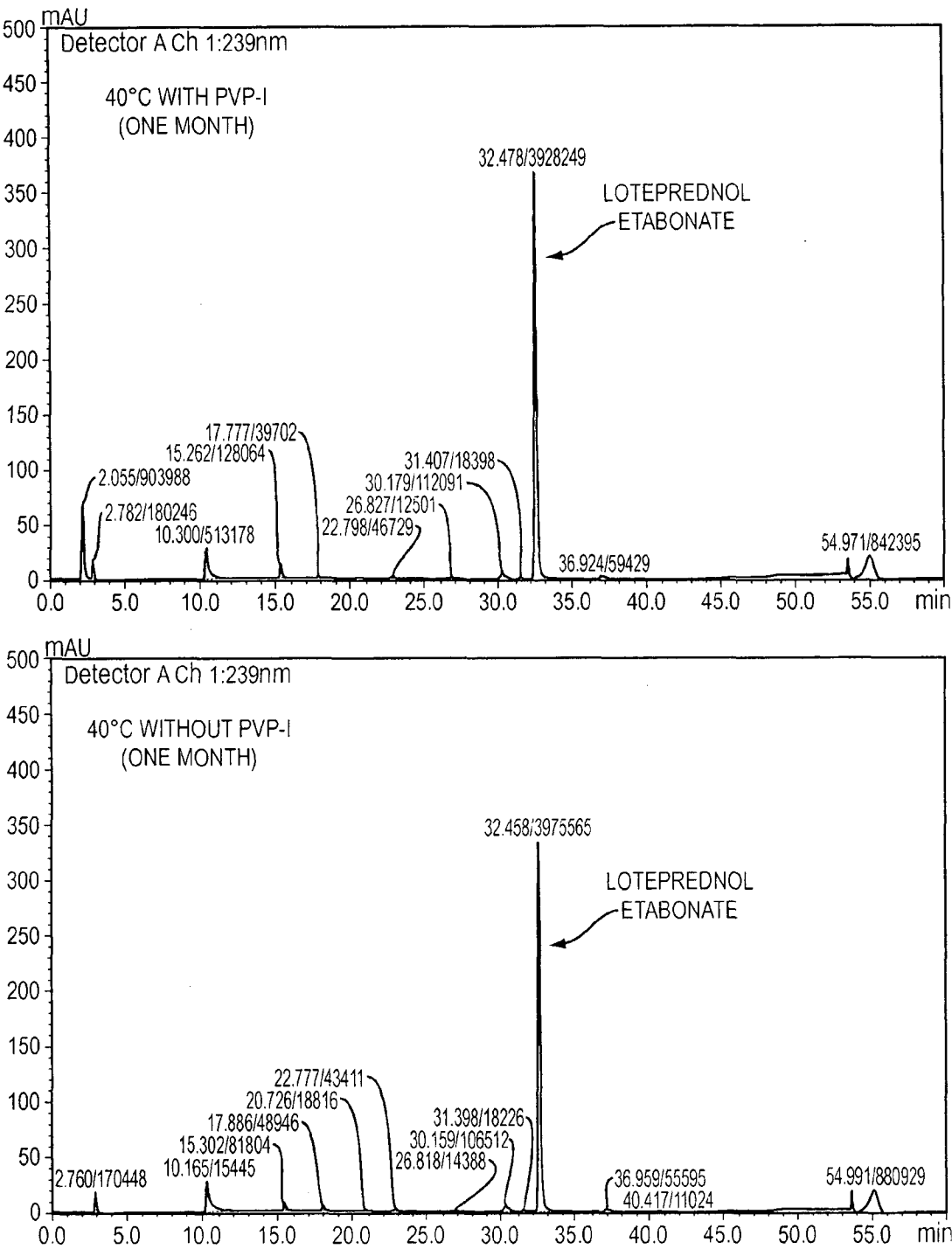


FIG. 33

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

213
226

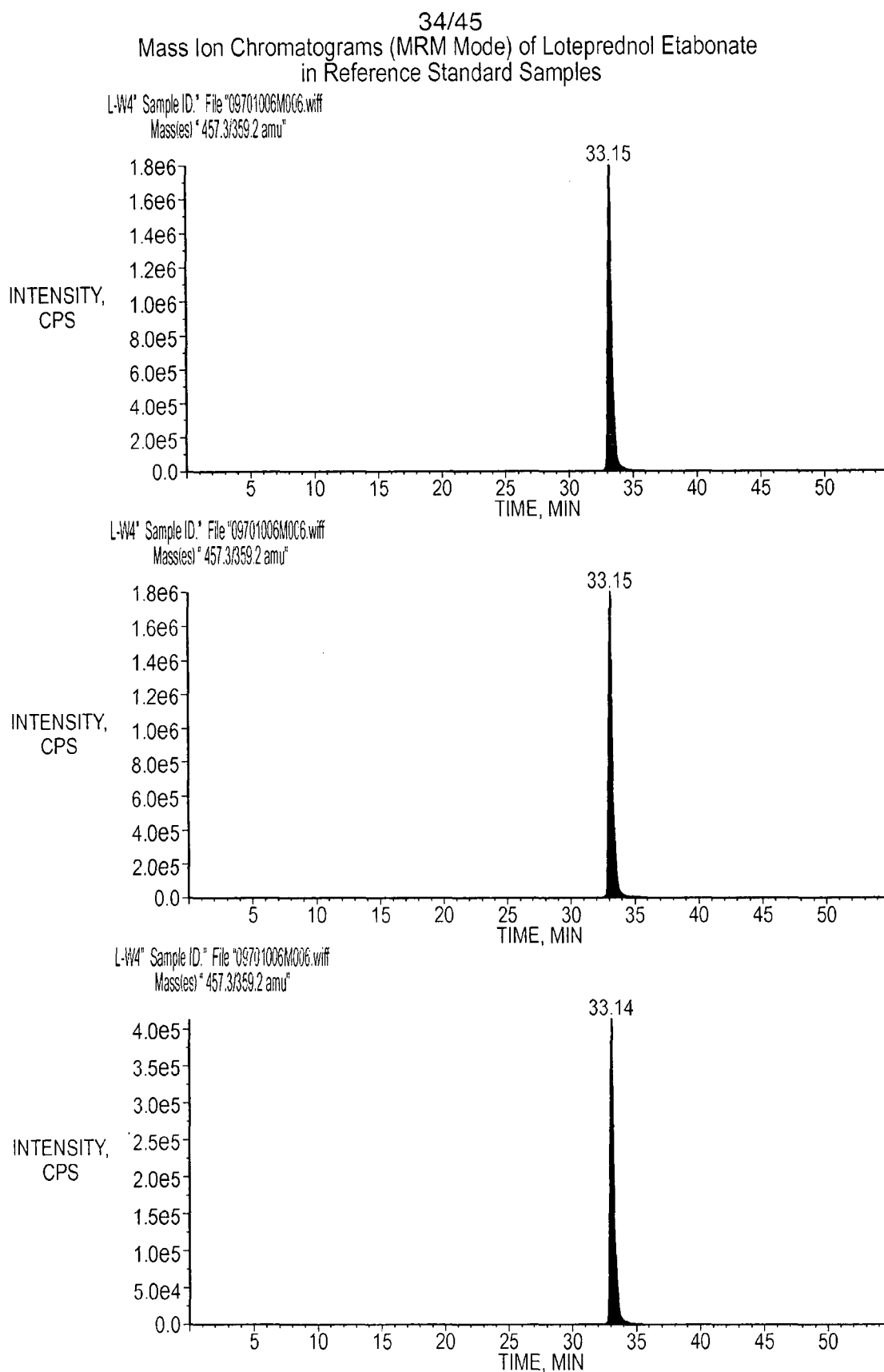


FIG. 34

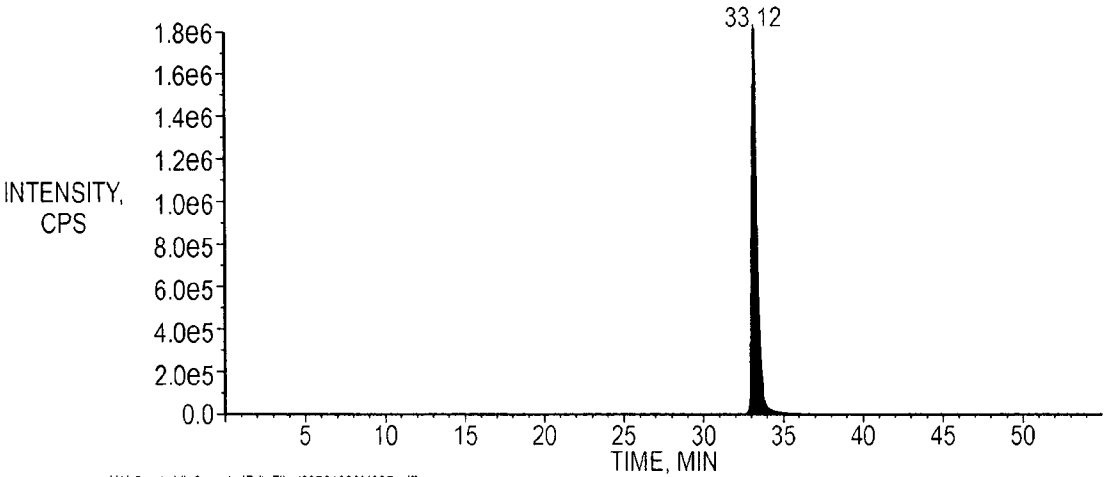
SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

214

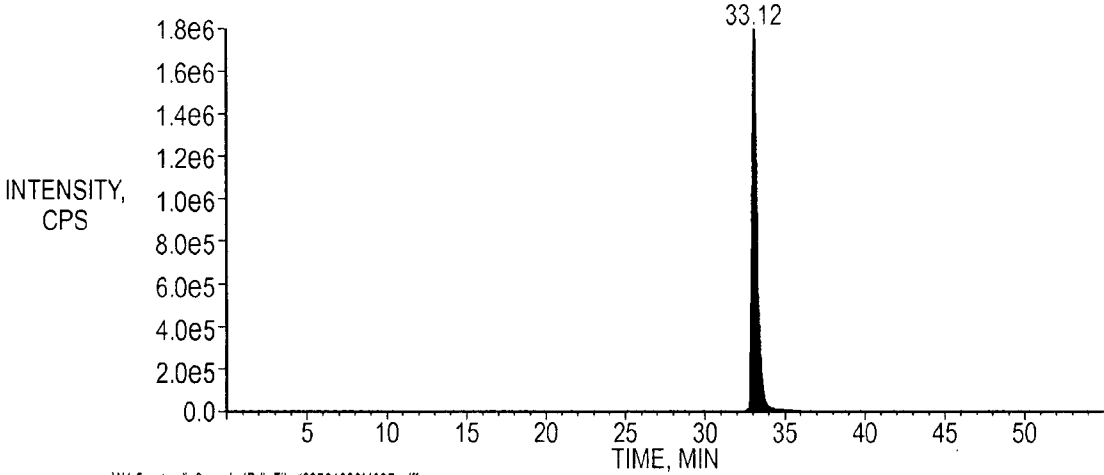
35/45

Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Loteprednol Etabonate in One Month
Room Temperature Stability Sample in the Presence of PVP-I

W4-5µg/mL Sample ID: File "09701006M007.wiff"
Mass(es) "457.3/359.2 amu"



W4-5µg/mL Sample ID: File "09701006M007.wiff"
Mass(es) "457.3/359.2 amu"



W4-5µg/mL Sample ID: File "09701006M007.wiff"
Mass(es) "457.3/359.2 amu"

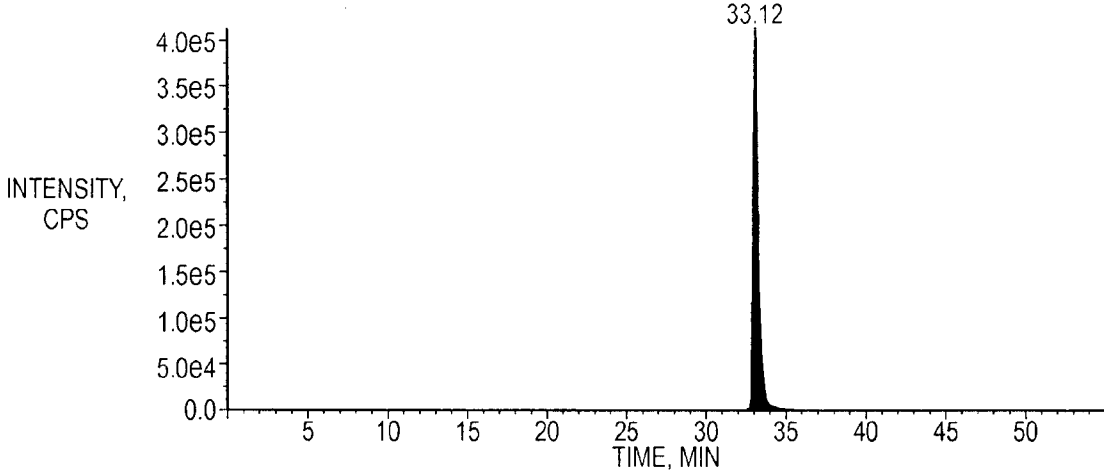


FIG. 35

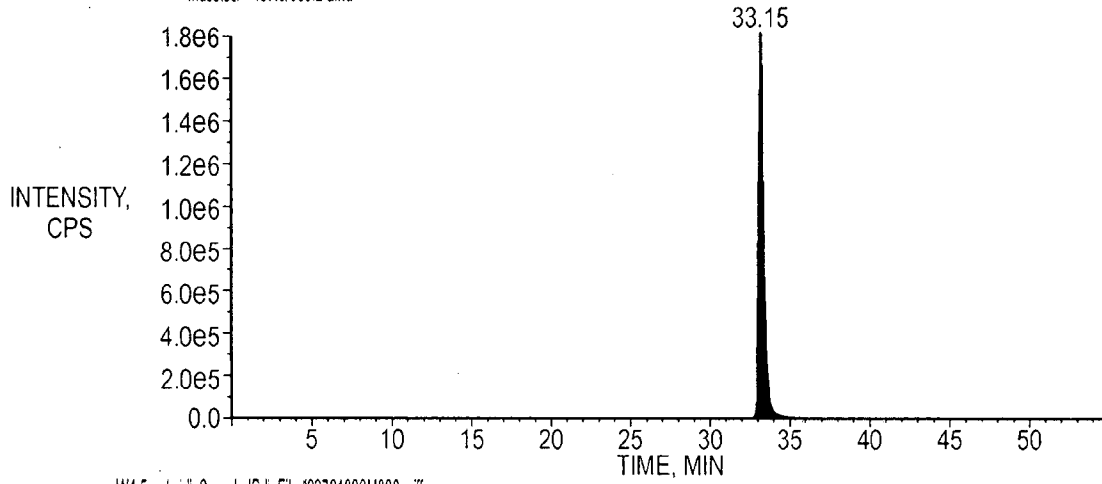
SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

215

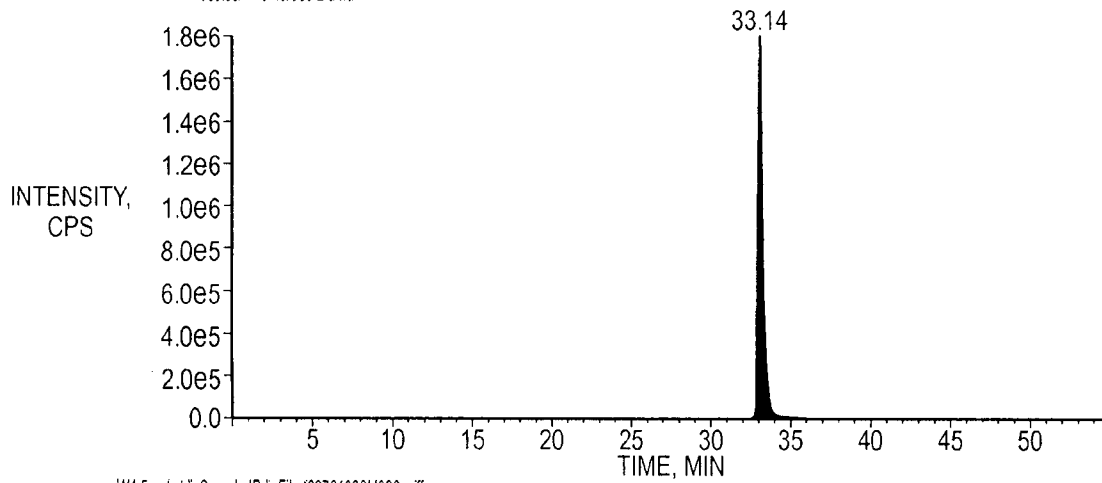
36/45

Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Loteprednol Etabonate in One Month
40°C Stability Sample in the Presence of PVP-I

W4-5µg/mL Sample ID: File "09701006M008.wiff"
Mass(es) "457.3/359.2 amu"



W4-5µg/mL Sample ID: File "09701006M008.wiff"
Mass(es) "457.3/359.2 amu"



W4-5µg/mL Sample ID: File "09701006M008.wiff"
Mass(es) "457.3/359.2 amu"

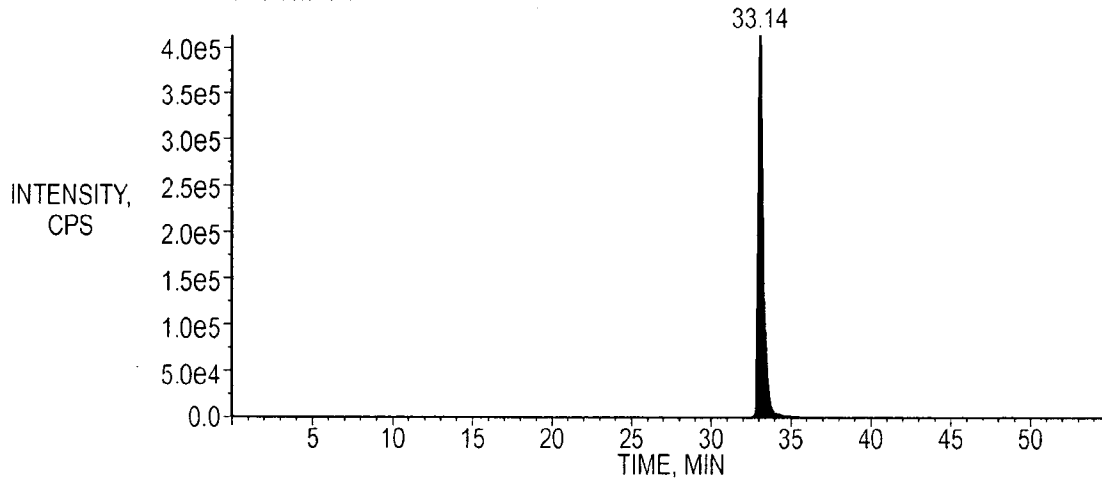


FIG. 36

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of PVP-I at the Concentration of 400 µg/mL for Difluprednate

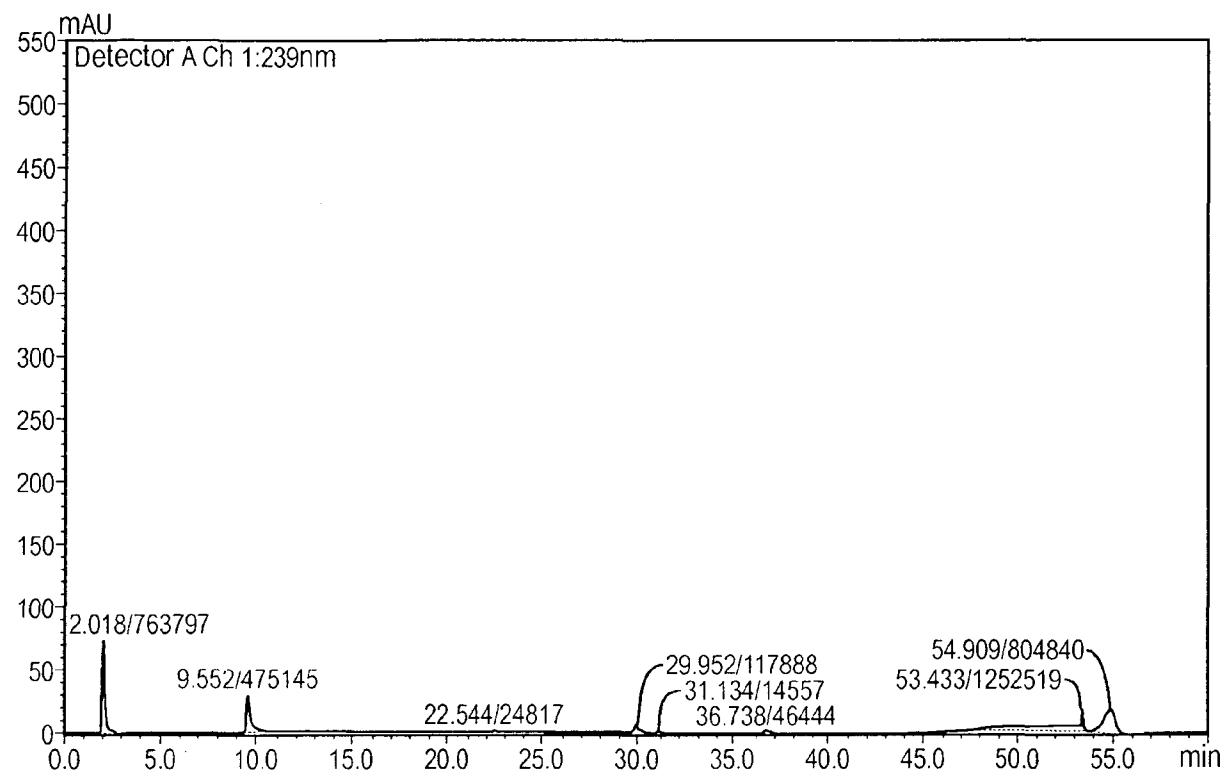


FIG. 37

217
226

38/45

HPLC/UV Chromatograms of Difluprednate in PVP-I for Day 0

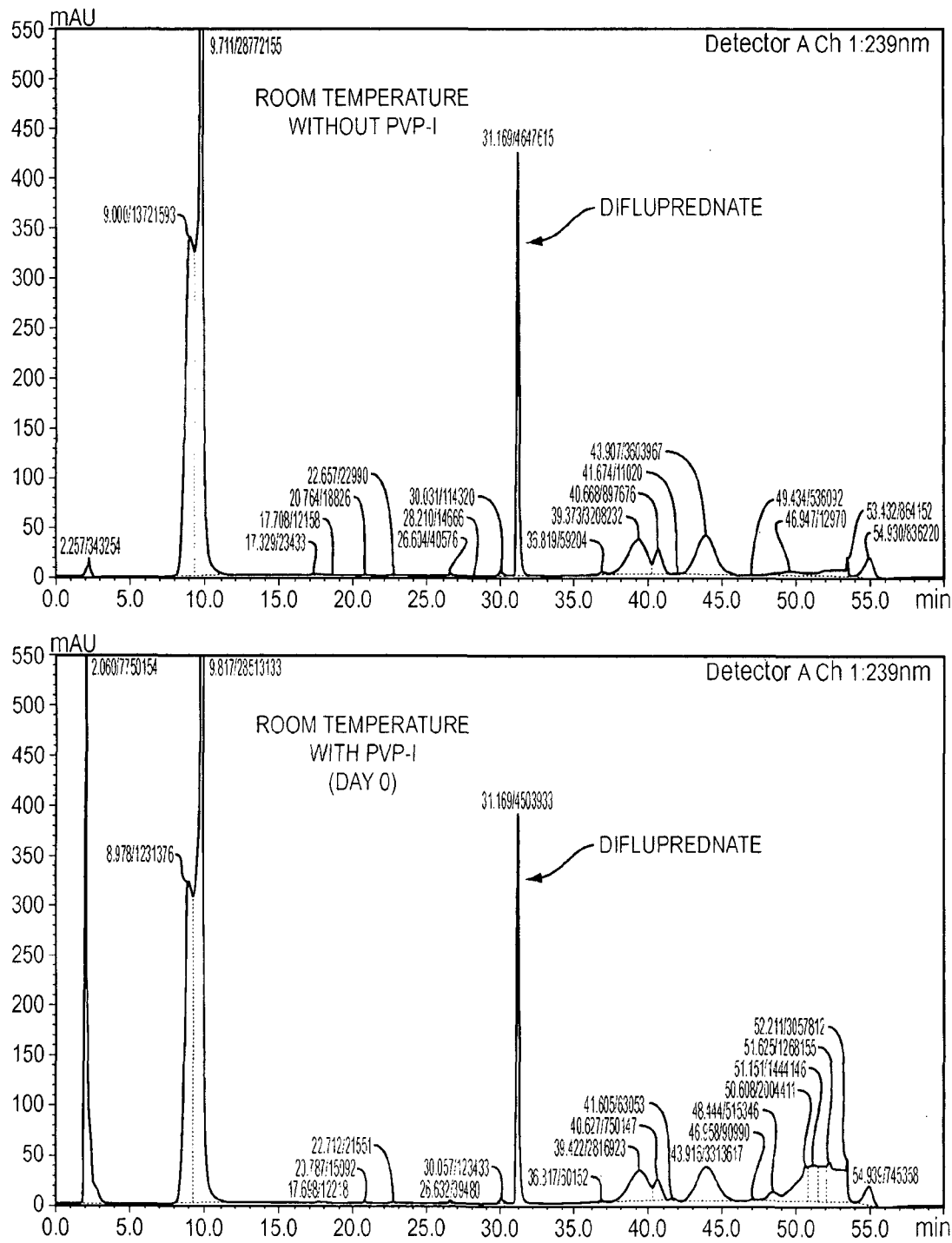


FIG. 38

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

218

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of Difluprednate in PVP-I for Day 0

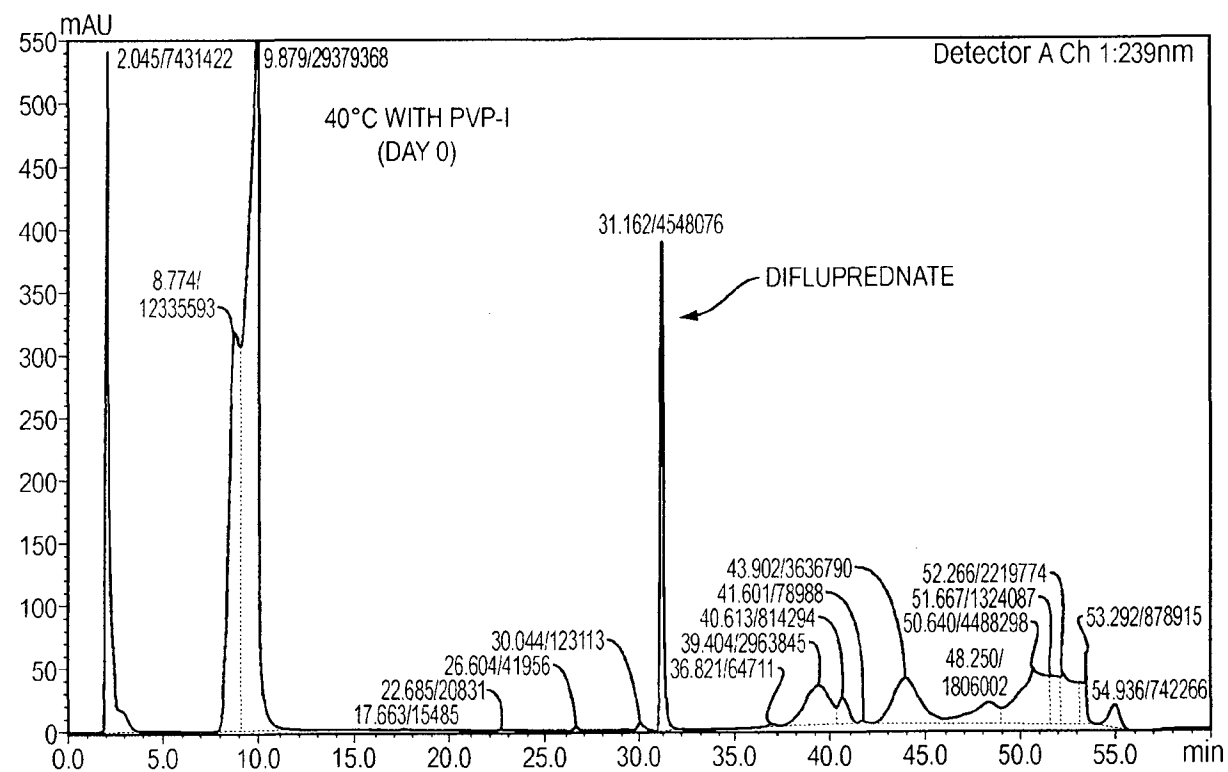


FIG. 39

219

HPLC/UV Chromatograms of Difluprednate in PVP-I for Two Weeks

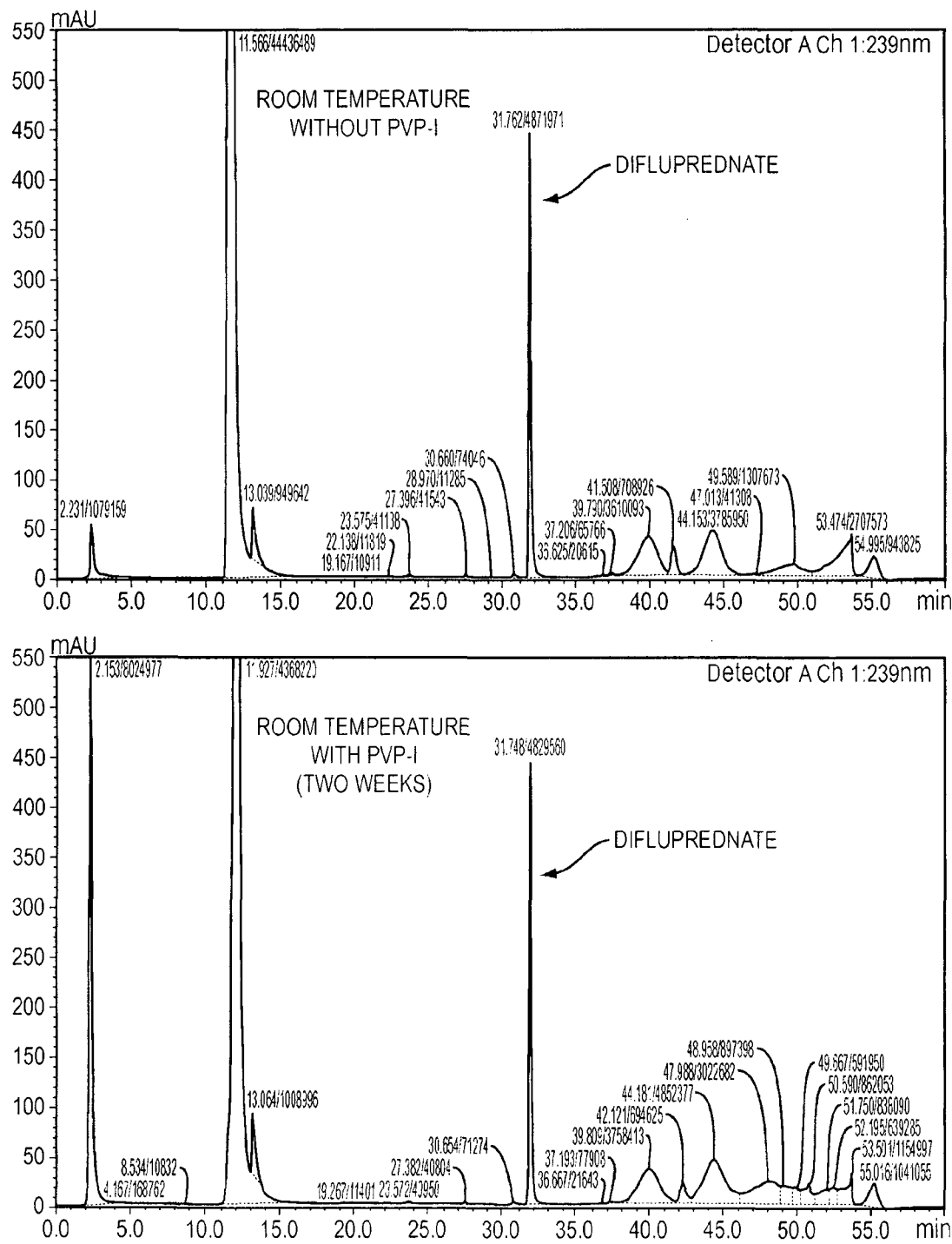


FIG. 40

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of Difluprednate in PVP-I for Two Weeks

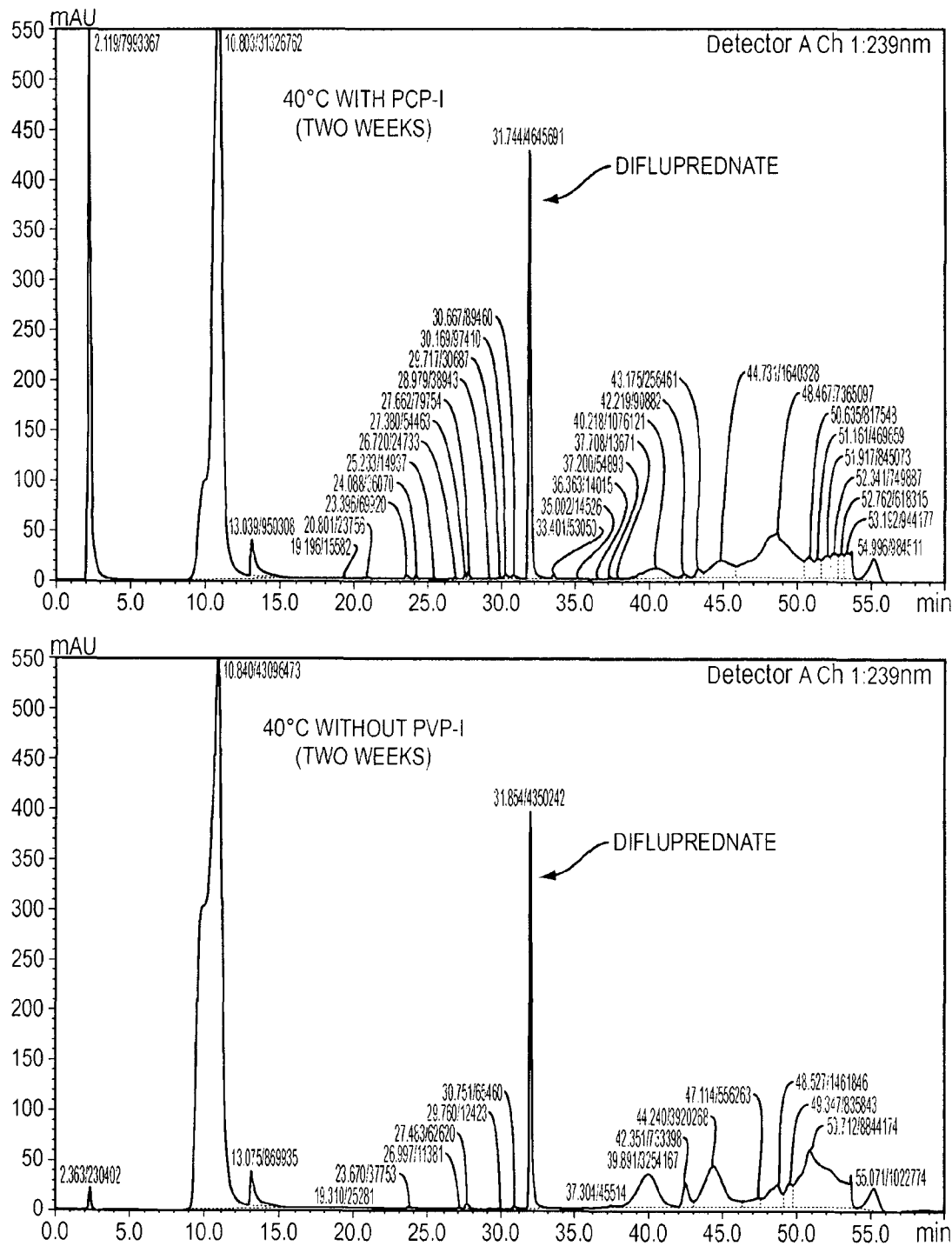


FIG. 41

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of Difluprednate in PVP-I for One Month

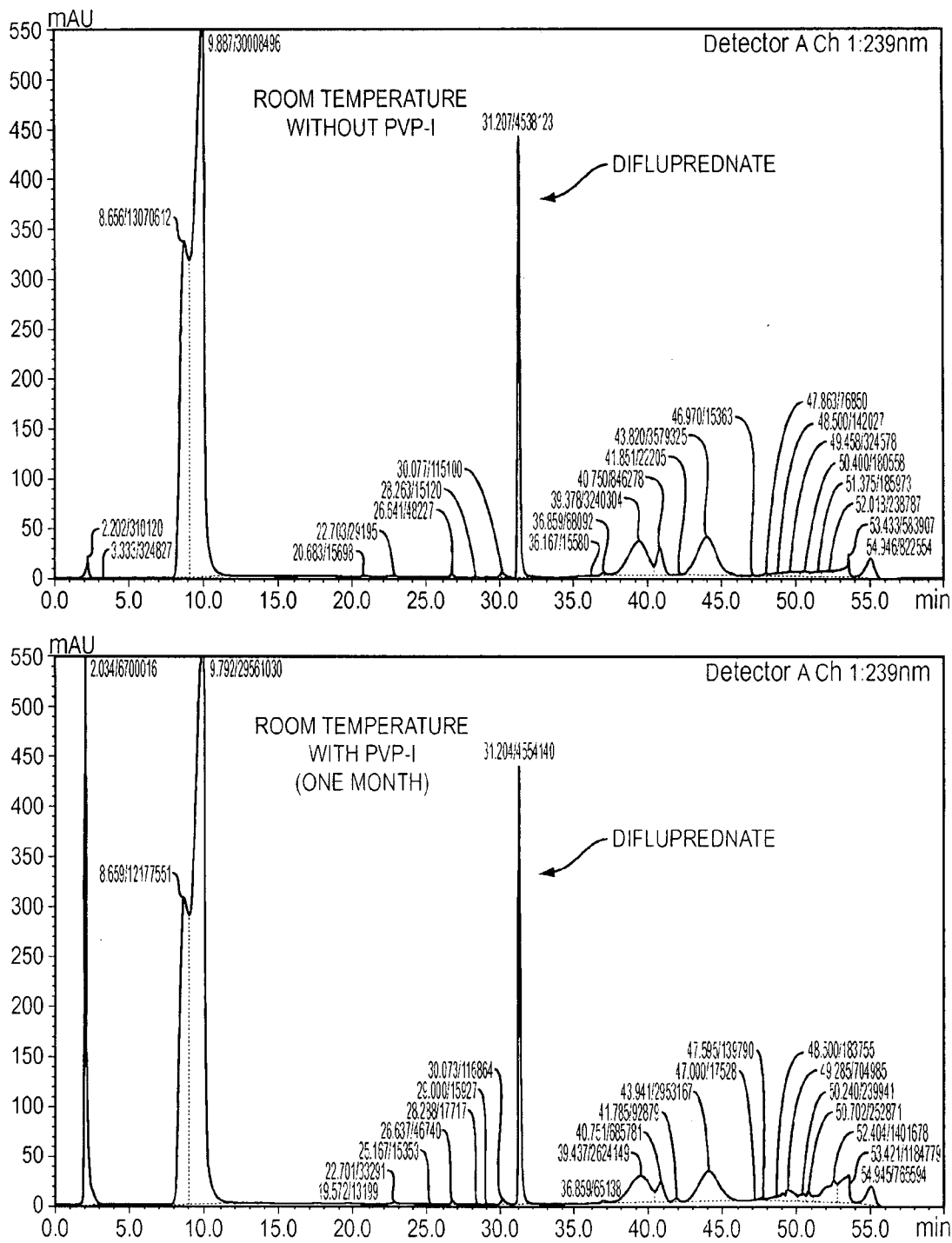


FIG. 42

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

HPLC/UV Chromatograms of Difluprednate in PVP-I for One Month

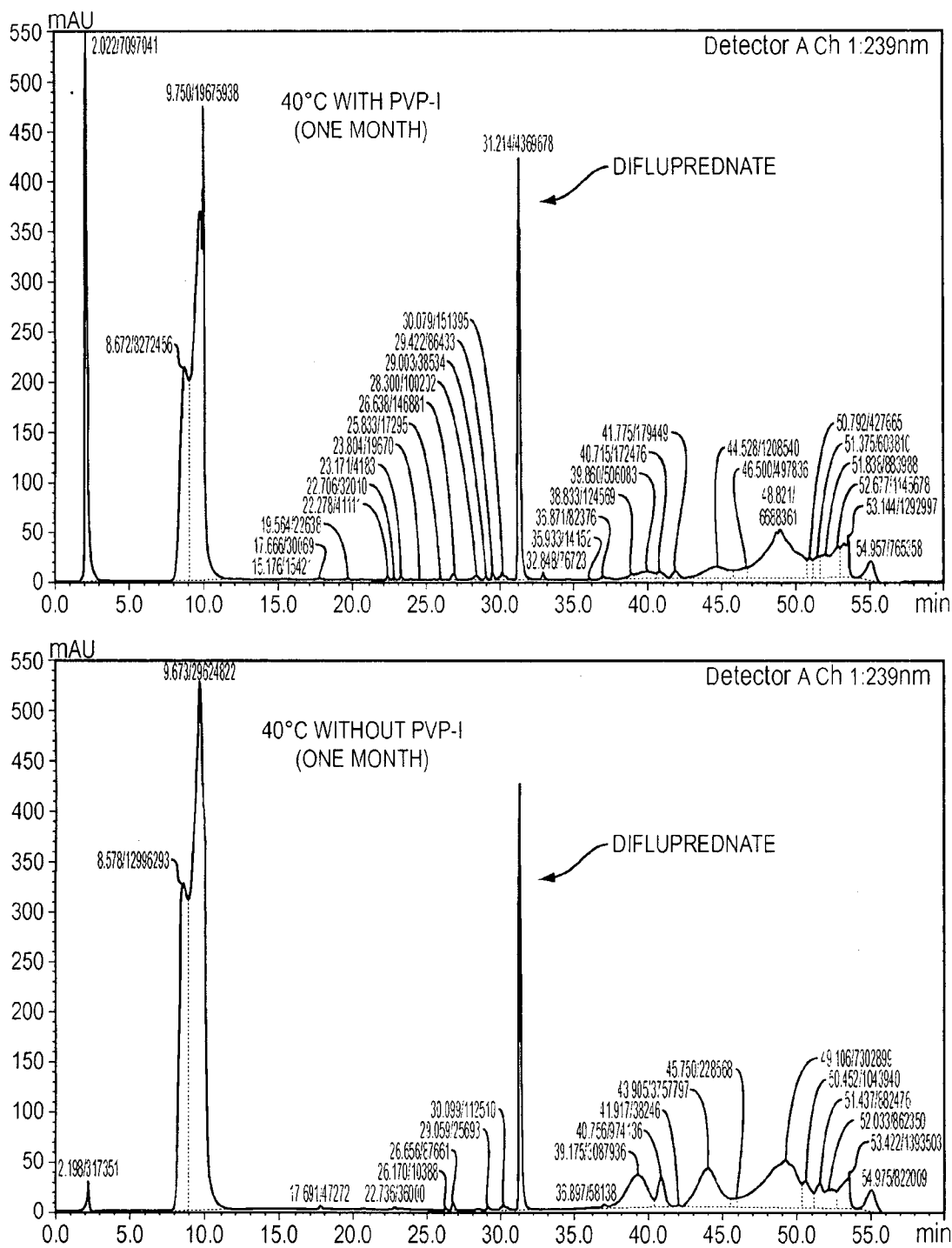


FIG. 43

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

223

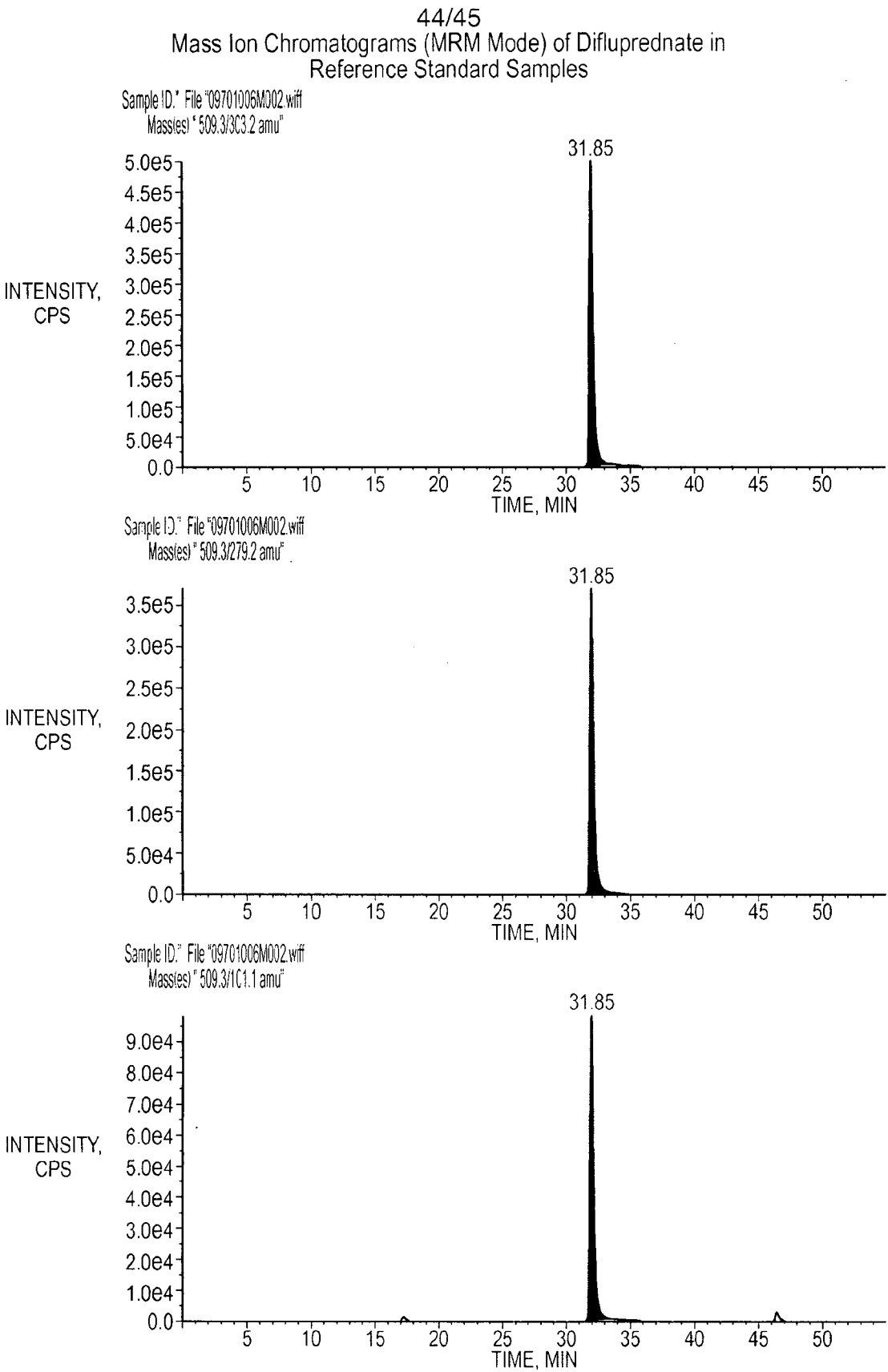


FIG. 44

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

45/45

Mass Ion Chromatograms (MRM Mode) of Difluprednate in One Month Room
Temperature Stability Sample in the Presence of PVP-I

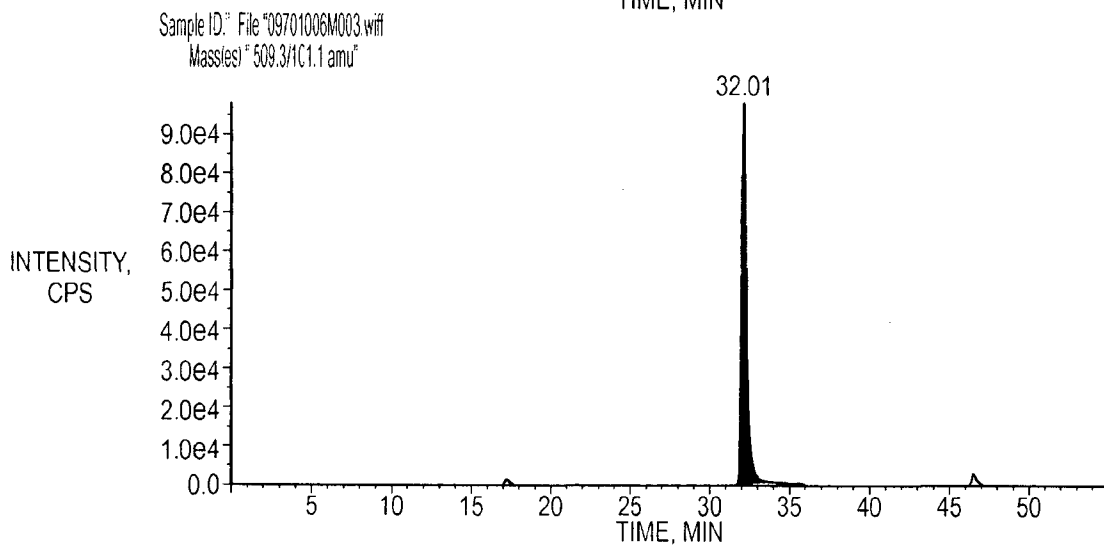
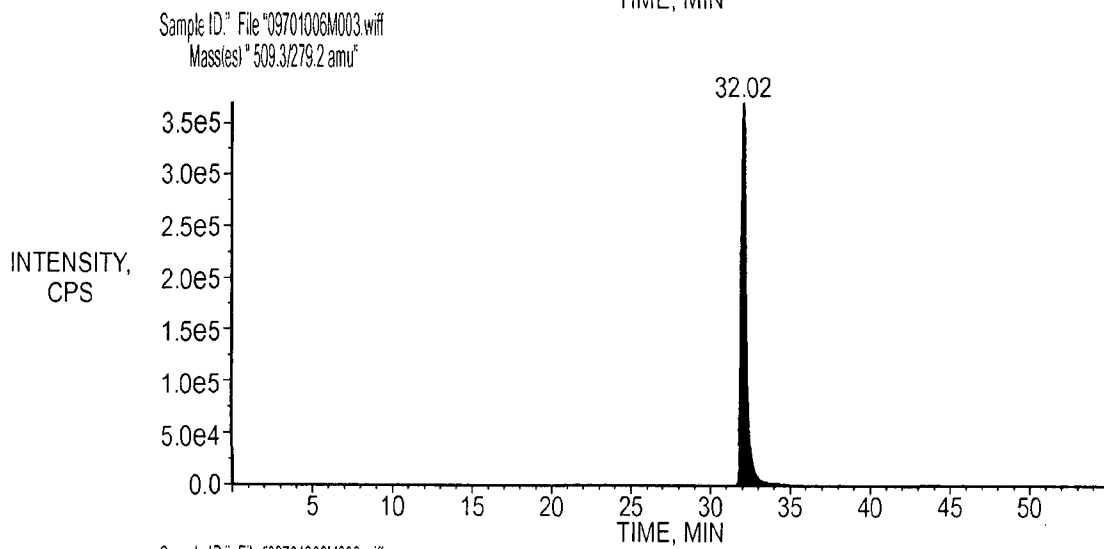
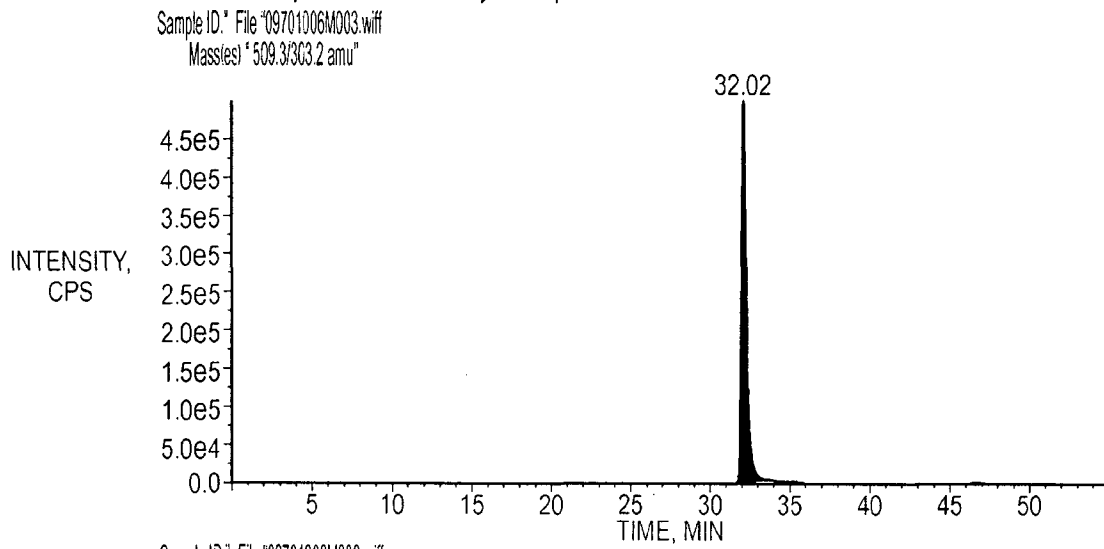


FIG. 45

SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 12/37563

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(8) - A61K 31/74 (2012.01)

USPC - 424/78.04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

USPC: 424/78.04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 424/667; 514/26, 169 (see search terms below)Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PUBWEST, Google, Google Scholar, WIPO, Ophthalmic, eye, ocular, optic, topical, composition, formulation, method, treating, prophylaxis, ameliorate, administering, eye disorder, disease, infection, inflammation, conjunctivitis, corneal abrasion, ulcerative infectious keratitis, keratitis, bacteria, virus, fungi, amoebae, povidone, steroid, prednisolone

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 7,767,217 B2 (Samson et al.) 03 August 2010 (03.08.2010) col 2, ln 3-12, ln 26-32, ln 62-66; col 3, ln 1-15, ln 23-26, ln 29-48, ln 59; col 4, ln 10-30; col 5, ln 13, ln 63-64; col 6, ln 15-18, ln 25-30; col 7, ln 63-65; col 8, ln 1-2; col 9, ln 1-7, ln 25-30, Example 1; col 11, ln 63-65	1-44
X	WO 2009/151619 A1 (Capriotti et al.) 17 December 2009 (17.12.2009) pg 1, ln 29-31; pg 2, ln 6; pg 3, ln 25-30; pg 4, ln 15, ln 20-21; pg 7, ln 25-31	45-46
X	US 2010/0254934 A1 (Samson et al.) 07 October 2010 (07.10.2010) abstract; para [0007]-[0009], [0011]-[0020], [0022], [0048]-[0052], [0071]-[0075]	1-44
X	US 2010/0291019 A1 (Samson et al.) 18 November 2010 (18.11.2010) abstract; para [0007]-[0009], [0011]-[0018], [0020]-[0022], [0047]-[0049], [0062]-[0069]	1-44
X	WO 2007/106381 A2 (Samson et al.) 20 September 2007 (20.09.2007) abstract; pg 2, para 3; pg 3, para 1, 4; pg 4, para 1-5; pg 11, para 1; pg 13, para 3-4; pg 14, para 1-4; pg 14-16	1-44
X/P	US 2012/0027716 A1 (Stein et al.) 02 February 2012 (02.02.2012) entire document	1-46

☐

Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 July 2012 (20.07.2012)

Date of mailing of the international search report

03 AUG 2012

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-3201

Authorized officer:

Lee W. Young

PCT Helpdesk: 571-272-4300

PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

226
226



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 13 - 126540

Bogotá D.C., Diciembre 09 de 2013 - 11:51:27

RECIBIDO DE : WOLF MENDEZ ABOGADOS ASOCIADOS LTDA

NI 830.029.907

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	529454321	05/12/2013	500.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	500.000.00	500.000.00
				\$500.000.00

SON: **QUINIENTOS MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-287528-00000-0000

Fecha: 2013-12-09 11:59:12
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 226

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

, Diciembre 9 de 2013 - 11:51:27



No. 13-287528- -00000-0000

Fecha: 2013-12-09 11:59:12 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 226

PATENTE DE INVENCION

☐

MODELO D.

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa

☐

Incompleta

☐

PATENTE DE INVENCION PCT

☐

MODELO DE UTILIDAD PCT

☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐

Indicación que se solicita una PCT

☐

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa

☐

Incompleta

☐

DISEÑO INDUSTRIAL

☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa

☐

Incompleta

☐

ESQUEMA DE TRAZADO

☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa

☐

Incompleta

☐