

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**



**“NORMALIZACIÓN DE CUATRO FÓRMULAS PARA USO
OFTÁLMICO (COLIRIOS): CLORANFENICOL; ANTAZOLINA –
NAFAZOLINA ; TIMOLOL Y GENTAMICINA.”**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:
JAIME HUMBERTO MANCÍA AGUILAR**

**PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA Y FARMACIA**

SEPTIEMBRE DE 2003

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMÉRICA



©2004, DERECHOS RESERVADOS

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

<http://virtual.ues.edu.sv/>

SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTORA

Dra. María Isabel Rodríguez

SECRETARIA GENERAL

Lic. María Margarita Muños Vela

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANA

Lic. María Isabel Ramos de Rodas

SECRETARIA

Lic. Ana Arely Cáceres Magaña

JURADO EXAMINADOR

Lic. Lilian Carmen Carreño

Lic. Zoila Isabel Sorto de Alarcón

Lic. Norma Estela Molina

ASESORES

Lic. Ana Vilma Hernández de Aparicio

Lic. René Antonio Rodríguez Soriano

AGRADECIMIENTOS

A Laboratorios López S.A. de C.V., por haberme brindado la oportunidad de realizar la parte experimental del presente trabajo poniendo a mi disposición sus diferentes laboratorios y su personal, por su colaboración abierta.

A Lic. Ana Vilma de Aparicio y Lic. René Rodríguez Soriano, por su dedicado empeño en la orientación y sugerencias en facilitar la realización del presente trabajo.

Al jurado calificador por su dedicación esfuerzo, para la culminación de este trabajo.

A Lic. Iris de Miranda, por el empeño e interés para que pudiera culminar este trabajo

A Lic. Francisca de Avilés, por brindarme de su apoyo y poner a mi disposición el laboratorio de microbiología y su personal.

A todas aquellas personas que de una u otra forma estuvieron apoyándome en el trascurso de toda la carrera.

DEDICATORIA

A DIOS SUPREMO EN GLORIA: Por sus beneficios, reconociendo que El me hizo entender, y me mostró el camino en que debía andar para finalizar mis estudios.

A MIS PADRES: Salomón Mancía y Paula de Mancía, por brindarme su amor, respeto y por haber sacrificado sus intereses en bien mío para que culminara esta carrera.

A MIS HERMANOS: Salomón Arturo, José Rubén y Sonia Verónica, con cariño y respeto por su desinteresada colaboración y apoyo.

A MIS FAMILIARES: Con especial estima.

A MIS PROFESORES: Con respeto y gratitud por brindarme sus conocimientos.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS: Con mucho aprecio

JAIME HUMBERTO MANCÍA

INDICE GENERAL

<u>CONTENIDO</u>	<u>PÁGINA</u>
INTRODUCCIÓN	i
OBJETIVOS	15
CAPITULO I	
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
1. ANATOMIA Y FISIOLOGÍA DEL OJO	17
1.1 Generalidades	17
1.2 Capas Oculares	20
a) Capa Externa	20
b) Capa Media	21
c) Capa Interna o Retina	21
1.3 Elementos de la Retina	22
1.4 Medios Transparentes del Ojo	29
a) Humor Acuoso	29
b) Cristalino	30
c) Humor Vítreo	30

1.5	Anexos del Ojo	31
1.6	Función del Ojo	35
1.7	Características del Líquido Lacrimal	36
2.	ABSORCIÓN DE PRINCIPIOS ACTIVOS OFTÁLMICOS	38
3.	GENERALIDADES DE LOS COLIRIOS	39
3.1	Definición de Colirios	39
3.2	Condiciones de las Soluciones Oftálmicas	40
4.	CONDICIONES DE FABRICACIÓN	50
4.1	Área de Limpieza	52
4.2	Área de Preparación	53
4.3	Área Aséptica	54
4.4	Plan de Circulación en las Áreas de Fabricación	55
5.	MONOGRAFÍAS DE LOS COMPONENTES DE LAS FÓRMULAS DE LOS COLIRIOS EN ESTUDIO	56
6.	FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS	78
6.1	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR)	78
6.2	Método Potenciométrico	80
6.3	Prueba de Esterilidad del Colirio	80
6.4	Prueba de Efectividad de Preservantes	81
6.5	Potencia Microbiológica de Antibióticos	84
6.6	Prueba de Irritabilidad Ocular	85
6.7	Prueba de Osmolaridad	86

6.8	Método Espectrofotométrico	
	(uv / vis Método 1 SCAN / MAN)	88
6.9	Estabilidad Acelerada	89
CAPITULO II		
PARTE EXPERIMENTAL		91
1.	METODOLOGÍA	92
1.1	Material y Equipo, Reactivos	92
1.2	Desarrollo de la Fomulación	92
2.	PROCEDIMIENTO	100
2.1	Técnica General de Elaboración de Colirios	100
2.2	Marchas de Análisis	101
2.3	Determinación de pH	116
2.4	Esterilidad del Colirio	117
2.5	Efectividad de Preservante	119
2.6	Determinación de la Irritabilidad Ocular	123
2.7	Determinación de la Osmolaridad	123
2.8	Procedimiento de la Estabilidad Acelerada	124
3.	CALCULOS DE LAS PRUEBAS DE ANÁLISIS QUÍMICO	125

CAPITULO III	
RESULTADOS	135
CAPITULO IV	
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	143
CAPITULO V	
CONCLUSIONES	149
CAPITULO VI	
RECOMENDACIONES	153
GLOSARIO	
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

		PÁGINA
Figura 1.	Capas (I – II) y Cámaras (1 – 3) del globo ocular	16
Figura 2.	Corte del globo ocular	17
Figura 3.	Aparatos accesorios del ojo	17
Cuadro No. 1	Cloranfenicol	93
Cuadro No. 2	Antazolina – Nafazolina	94
Cuadro No. 3	Timolol Maleato	95
Cuadro No. 4	Gentamicina Sulfato	96
Cuadro No. 5	Resultados de la prueba de esterilidad	136
Cuadro No. 6	Resultados de la prueba de efectividad de preservantes	137
Cuadro No. 7	Resultados de la prueba de osmolaridad y pH ajustado	138
Cuadro No. 8	Estabilidad acelerada	139
Cuadro No. 9	Resultados de la prueba de irritabilidad ocular efectuada a conejos adultos y sanos	142

INDICE DE ANEXOS

Anexo N ₀ . 1	Área de preparación de colirios
Anexo N ₀ . 2	Cromatograma del estándar de cloranfenicol
Anexo N ₀ . 3	Cromatograma de la muestra inicial de cloranfenicol
Anexo N ₀ . 4	Espectro del estándar y la muestra inicial de antazolina fosfato
Anexo N ₀ . 5	Cromatograma del estándar de timolol maleato
Anexo N ₀ . 6	Cromatograma de la muestra 1 inicial de timolol maleato
Anexo N ₀ . 7	Cromatograma de la muestra 2 inicial de timolol maleato
Anexo N ₀ . 8	Cuadro de datos y resultados de potencia para la curva de gentamicina sulfato estándares
Anexo N ₀ . 9	Cuadro de datos y resultados de potencia para la curva de gentamicina sulfato muestra
Anexo N ₀ . 10	Curva de calibración de gentamicina sulfato; colirio "A"
Anexo N ₀ . 11	Informe de análisis de materia prima y estándares
Anexo N ₀ . 12	Material y equipo, reactivos

INTRODUCCIÓN

Los colirios constituyen la principal forma farmacéutica destinada a la vía de administración oftálmica por su fácil instilación en los ojos, por lo que la formulación de las soluciones oftálmicas deben cumplir características de calidad de tal forma que no produzcan sensación desagradable en el ojo, las formulas oftálmicas seleccionados para la presente investigación representan el tratamiento para las afecciones más comunes como son: el glaucoma, infecciones e inflamaciones.

Este trabajo presenta la investigación y aplicación de controles a prefórmulas de colirios; de Cloranfenicol, Antazolina y Nafazolina, Timolol y Gentamicina con el objeto de encontrar fórmulas adecuadas que cumplan los parámetros de calidad establecidos tales como; físicoquímicos, biológicos y de estabilidad acelerada, además proporciona herramientas que fortalecen la metodología y el conocimiento sobre colirios al profesional y al estudiante farmacéutico.

La presente normalización tiene como objetivo minimizar las reacciones en la conjuntiva ocular, por medio del análisis teórico - práctico de cuatro fórmulas existentes de colirios; los cuales son: cloranfenicol, antazolina y nafazolina, timolol y gentamicina.

Este estudio explica los principios básicos de la normalización de colirios en seis capítulos.

El capítulo I comprende la revisión bibliográfica, donde se establece la anatomía y fisiología del ojo, absorción de principios activos oftálmicos, generalidades de los colirios, condiciones de fabricación, monografías de los componentes de las fórmulas de los colirios en estudio y los fundamentos teóricos de los métodos de análisis.

El capítulo II presenta la parte experimental que comprende la metodología en el desarrollo de la formulación y el procedimiento en la elaboración de colirios, marchas de análisis que determinan la inocuidad, efectividad y estabilidad de los colirios los cuales son:

- **Análisis – fisicoquímicos:** cromatografía líquida de alta resolución, método espectrofotométrico, determinación de osmolaridad y pH con el objetivo de cuantificar y verificar que los colirios cumplan las especificaciones de calidad.
- **Análisis Microbiológicos y biológicos:** prueba de esterilidad, potencia microbiológica de antibióticos, efectividad de preservantes, irritabilidad ocular; estos análisis conllevan a verificar la pureza e inocuidad del preparado.
- **Estabilidad acelerada:** se realiza a 40° C, por 3 meses con el objeto de asegurar el periodo de vida útil del colirio.

El capítulo III da a conocer los resultados de todo el proceso de investigación.

El capítulo IV presenta el análisis y discusión de los resultados.

El capítulo V y VI comprenden las conclusiones y recomendaciones de los puntos tratados en perfecta correlación con el problema de investigación y los objetivos planteados.

OBJETIVOS

1. Objetivo general:

Normalizar cuatro fórmulas para uso oftálmico: Cloranfenicol; Antazolina – Nafazolina; Timolol y Gentamicina.

2. Objetivos específicos:

2.1 Confirmar el grado de cumplimiento de las G.M.P. en las instalaciones, el personal y los materiales para la fabricación de colirios.

2.2 Realizar diferentes ensayos con preformulaciones de colirios de cada principio activo.

2.3 Determinar a la fórmula ideal los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos, biológicos y de estabilidad acelerada, que deben poseer los colirios como indicadores de calidad.

CAPITULO I
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

REVISION BIBLIOGRAFICA

1. ANATOMIA Y FISIOLOGIA DEL OJO

1.1 GENERALIDADES

El ojo también, llamado globo ocular, es un órgano esférico de aproximadamente 2,5 cm de diámetro.

El ojo humano plantea un desafío para la administración tópica de drogas. Esto se debe a la distribución anatómica de los tejidos superficiales y a la permeabilidad de la córnea. La función protectora de los párpados y del aparato lagrimal produce la rápida eliminación del material instilado en el ojo si el volumen de ese material no es debidamente pequeño ni químicamente ni fisiológicamente compatible con los tejidos superficiales. ⁽⁹⁾

La pared del globo ocular está formada por tres capas: la exterior, la media y la interna o retina.

En el interior del globo ocular se distinguen tres cámaras. En la anterior se halla el ángulo para el drenaje del humor acuoso. La cámara posterior contiene los cuerpos ciliares, que son los productores de dicho humor. La cámara vítrea está ocupada por el humor del mismo nombre, que es la consistencia gelatinosa (figs. 1 y 2.)

Figuran, además, como aparatos accesorios al ojo, los párpados y las glándulas lacrimales (fig. 3). La conjuntiva constituye una cubierta mucosa sacciforme que une los párpados y el globo ocular y deja libre la córnea. Está muy irrigada por vasos sanguíneos y linfáticos. Toda la región que recubre forma el saco conjuntival, en el que, en general, se aplican las preparaciones oftálmicas. Las enfermedades de la conjuntiva se denominan conjuntivitis. ⁽²⁾

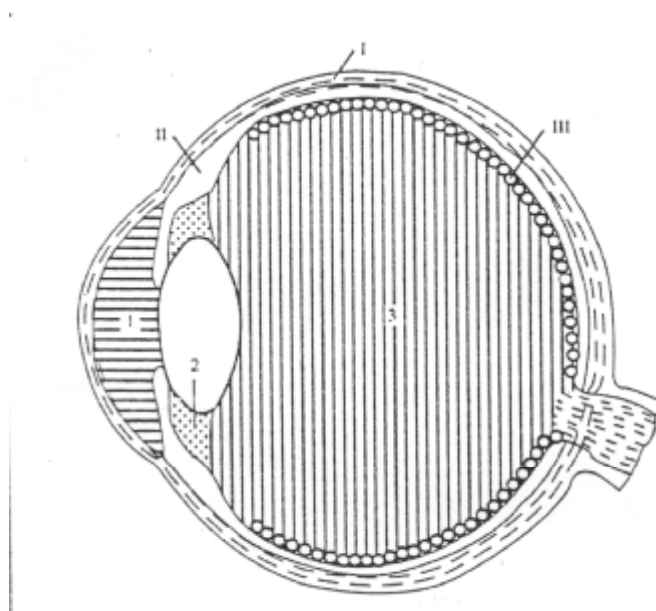


Fig. 1. Capas (I-III) y cámaras (1-3) del globo ocular.

- I. Córnea y esclerótica (capa externa.)
 - II. Iris, cuerpo ciliar y coroides (capa media.)
 - III. Retina (capa interna).
- 1. Cámara anterior.
 - 2. Cámara Posterior.
 - 3. Cuerpo vítreo.

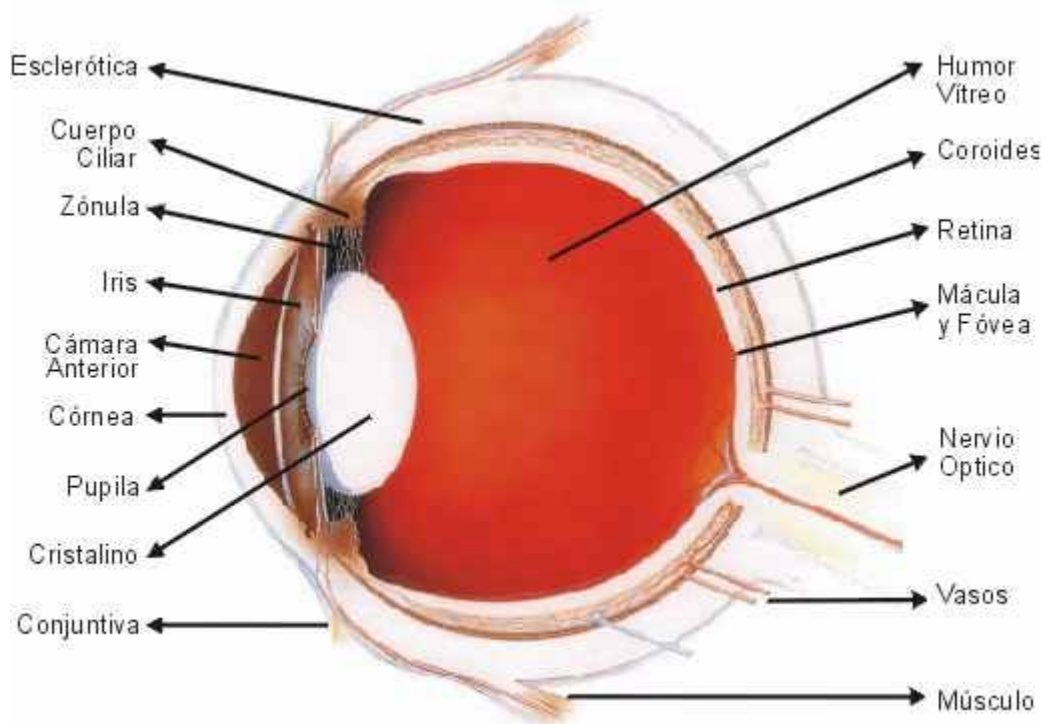


Fig. 2. Corte del globo ocular.

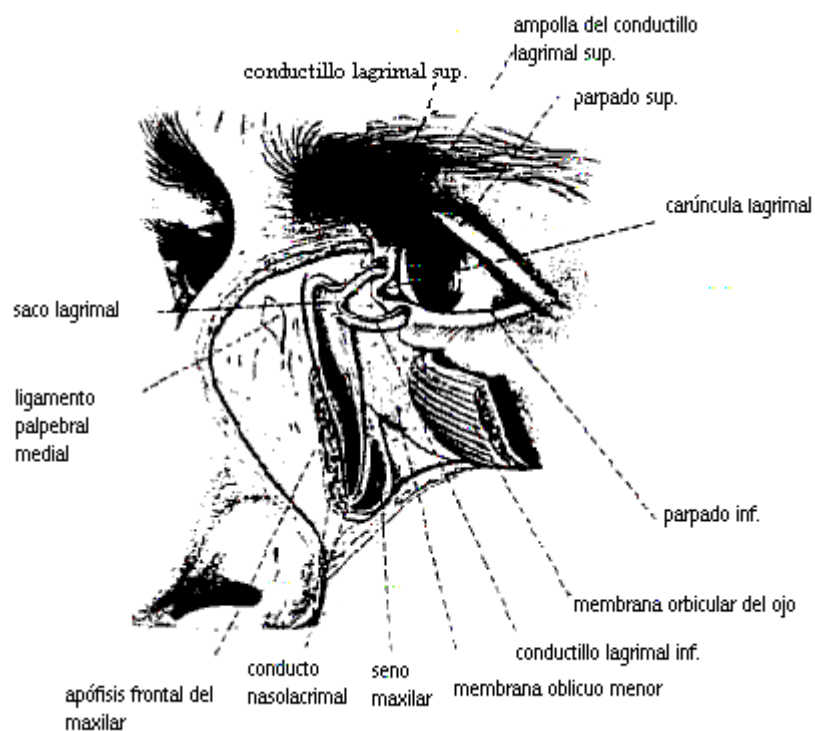


Fig. 3. Aparatos accesorios del ojo.

1.2 CAPAS OCULARES

a) CAPA EXTERNA

La capa ocular externa es una membrana protectora fibrosa y resistente, que consta de dos porciones: la posterior, que es la más extensa, opaca y de color blanco, denominada esclerótica. ⁽²⁾ Esta porción blanca de la pared ocular tiene una función protectora y corresponde a los cinco sextos de la superficie ocular. ⁽¹⁵⁾ La anterior, llamada cornea, es la capa transparente que permite la entrada de los rayos luminosos al interior del ojo. Por detrás, hay un espacio lleno de un líquido claro (el humor acuoso) que separa la córnea de la lente del cristalino. ⁽¹⁵⁾

La córnea está exenta de vasos sanguíneos, pero está muy innervada. Las afecciones de la córnea reciben el nombre de queratitis. ⁽²⁾

La córnea comprende diferentes tejidos superpuestos muy diferenciados:

El tejido más exterior es el epitelio, de naturaleza lipófila, el cual está formado varias capas de células y representa el 10% del espesor total de la misma. El estroma, de naturaleza hidrófila, representa, aproximadamente, el 90% y se separa del epitelio por la membrana de Bowman. A continuación del estroma se encuentra la membrana de Descemet, la cual está recubierta por un delgado estrato endotelial. ⁽²⁾

b) CAPA MEDIA

La capa media o **úvea** tiene a su vez tres diferentes partes: la **coroides** es una capa vascular, reviste las tres quintas partes posteriores del globo ocular. Se continúa hacia delante con **el cuerpo ciliar**, y a continuación queda el **iris**, que se extiende por la parte frontal del ojo. La coroides por ser una capa vascularizada se encarga de dar nutrición a la retina. El cuerpo ciliar se encarga de producir el líquido que llena la cámara anterior, el **humor acuoso**. El iris que da el color a los ojos, además se encarga de regular la cantidad de luz que entra al ojo y así permitir ver bien en diferentes condiciones de iluminación. La abertura central del iris es la **pupila** o niña del ojo. ⁽¹⁵⁾

A nivel del iris actúan los nervios autónomos produciendo la midriasis (dilatación de la pupila) y la miosis (contracción de la pupila) ⁽²⁾

c) CAPA INTERNA O RETINA

La **retina** es la capa mas interna. Es compleja, compuesta sobre todo por células nerviosas. Las células receptoras sensibles a la luz se encuentran en su superficie exterior delante de una capa de tejido pigmentado. Estos fotorreceptores se llaman conos y bastones y son sensibles a diferentes tipos de luz. La retina en el centro tiene una pequeña mancha amarilla, llamada **mácula** lútea; dentro de la cual se encuentra la **fóvea**, la zona del ojo con mayor agudeza visual. La capa sensorial de la

fóvea se compone sólo de células con forma de conos, mientras que en torno a ella también se encuentran células con forma de bastones. Según nos alejamos del área sensible, las células con forma de cono se vuelven más escasas y en los bordes exteriores de la retina sólo existen las células con forma de bastones. ⁽¹⁵⁾

En la retina se distinguen la porción óptica y la porción ciega. La porción es la portadora del epitelio sensorial. Por lo cual debe considerarse como órgano sensorial propiamente dicho. Las afecciones de la retina reciben el nombre de retinitis o retinopatías. ⁽²⁾

1.3 ELEMENTOS DE LA RETINA

Son cuatro grupos:

Receptores visuales (bastones y conos); neuronas de conducción directa (células bipolares y ganglionares); Neuronas de asociación y de otro tipo (horizontal, amacrinas, y células bipolares centrifugas); y elementos de sostén (fibras de Müller y neurología) ⁽¹⁶⁾

Cilindros o bastones: Cada bastón tiene un segmento externo cilíndrico que tiene aproximadamente 28 micras de largo, que contiene el fotorpigmento rodopsina (púrpura visual) y un segmento externo un poco más grueso, de 32 micras de largo. El extremo del segmento externo está rodeado por pigmento del epitelio pigmentado. El segmento externo muestra

estris transversas, y los dos segmentos están unidos por un cuello estrecho que tiene un aparato de fibras o cilio.

El bastón está unido a su cuerpo celular por una fibra externa del cilindro que atraviesa la membrana limitante externa. El cuerpo celular está integrado por el núcleo con un borde delgado de protoplasma, y del mismo se extiende la fibra interna del cilindro en la capa plexiforme externa para terminar como una pequeña prominencia, la esférula del cilindro.

Es semejante a los botones terminales y se encuentra en contacto con las dendritas de las células bipolares de la capa nuclear interna y con cilindroejes de las células horizontales. ⁽¹⁶⁾

Cono: Este órgano, a semejanza del bastón, es una neurona modificada, de aspecto algo semejante. Tiene un segmento externo algo afilado, largo, que se continúa con un segmento interno cónico. En el segmento externo hay laminillas semejantes a la de los bastones, aunque algunas se continúan con la membrana plasmática de recubiertas, y forman hendiduras estrechas que se abren en la superficie en el espacio extracelular. Los conos no contienen púrpura visual.



Los conos varían en distintas partes de la retina. Los que están situados en la fóvea son largos y más delgados, son segmentos externo e interno del mismo diámetro, esto es, no tienen realmente forma cónica. En la periferia de la retina son más anchos y cortos. ⁽¹⁶⁾

Células bipolares: Sus cuerpos se encuentran principalmente en la zona central del área nuclear interna. Pueden dividirse en dos grupos principales:

- Células bipolares difusas, que ponen en contacto varios fotorreceptores
- Células bipolares monosinápticas o internunciales, que se unen con una célula única. ⁽¹⁶⁾

Células ganglionares: están situadas en la capa nuclear interna, con sus dendritas en la capa plexiforme interna; sus cilindros integran las fibras del nervio óptico. Los cilindros no se ramifican.

Son células grandes, que se asemejan notablemente a las neuronas cerebrales, con una masa de material cromófilo (sustancia de Nissl) en el cuerpo. Son de dos tipos principales:

- El tipo difuso con dendritas, que hacen contacto con varias células bipolares.

-El tipo pequeño o monosináptico, con dendritas pequeñas que hacen sinapsis con una célula bipolar, cónica, internuncial y única. ⁽¹⁶⁾

Células horizontales: Los cuerpos de estas células se localizan en la zona externa de la capa nuclear interna, con dendritas y cilindroejes en la zona de la interna de la capa plexiforme externa.

Las células horizontales en esta forma conectan un grupo de células de los conos de una zona con un grupo de bastones y conos en otra, y su función es elevar o disminuir el umbral funcional entre las células bastones y las células bipolares. ⁽¹⁶⁾

Células amacrinas: Estas células están en las dos o tres hileras internas de la capa nuclear interna. Tienen forma de pera, con prolongación única que pasa hacia adentro para terminar en la capa plexiforme interna. Probablemente sean células de asociación. ⁽¹⁶⁾

Elementos de sostén: Al igual que en el cerebro, hay en la retina una red elaborada de neuroglia cuyas funciones son sostén, aislamiento y nutrición. Comprende una red principal de fibras de Müller con astroglia, glía perivascular y microglia, la última de origen mesodérmico y las otras de origen ectodérmico. ⁽¹⁶⁾

Fibras de Müller: Atraviesan la retina en forma radiada, salvo en la fovea en donde son oblicuas.

Los núcleos de las células son grandes y están situados principalmente en la capa de células ganglionares e incluso en las capas de las fibras del nervio óptico. ⁽¹⁶⁾

Otros elementos gliales: Forman la red neurológica más fina e incluyen los espongiblastos superficiales en la capa nuclear interna, y astrocitos que abundan más en el nervio óptico y en la región del disco que en la retina.

En la retina, los astrocitos son células estrelladas en la capa de células ganglionares y en las capas plexiformes externa e interna, y las pequeñas células suelen tener dos prolongaciones (lemocitos) situadas en la capa de fibras nerviosas. Se encuentra microglia en todas las capas y tiene carácter fagocítico. ⁽¹⁶⁾

Membranas limitantes: La membrana limitante externa entre conos y bastones y sus núcleos, no es una capa completa sino que está fenestrada para permitir el paso de las células visuales.

Está compuesta de glía, la que, en el disco óptico, se continúa con la membrana limitante de la superficie interna de epitelio pigmentado. La membrana limitante interna, también celular, reviste la superficie vítrea de la retina. Su superficie interna es lisa, pero su cara externa guarda relación con las expansiones terminales internas de las fibras de Müller. ⁽¹⁶⁾

Área central de la retina: Puede dividirse la retina del hombre en un área central de 5 a 6 mm de diámetro y un área periférica que comprende el resto de la retina. El área central incluye una gran concentración de fotorreceptores, área especializada para la visión diurna adecuada; el área periférica tiene estructura más burda y es adecuada para la recepción de estímulos débiles en la penumbra.

En el área central hay un acumulo de células ganglionares en varias hileras un acumulo de conos y células bipolares.

La Mácula Lútea (mancha amarilla) es un área bastante imprecisa que se caracteriza por la presencia de pigmento amarillo en las capas internas de la retina. Esta es un área de aproximadamente 3 mm de diámetro que rodea a la fóvea, que a su vez incluye algo de pigmento y por ello tiene aspecto pálido.

La fóvea central es una excavación superficial de forma redonda que se encuentra a 4 mm del lado temporal del disco óptico y aproximadamente a 0.8 mm por abajo del meridiano horizontal. La depresión proviene de la falta completa de las capas interna de la retina en esta región, y las células visuales en el piso de la fóvea son conos, unidos íntimamente, mayores que los de la retina periférica.

Estos conos hacen sinapsis con las células bipolares situadas en forma oblicua alrededor de los bordes de la zona. No hay capilares en la zona central de la fovea. ⁽¹⁶⁾

Papila y nervio ópticos: La cara retiniana del nervio óptico se denomina disco óptico.

Incluye una prominencia pequeña, la papila óptica formada por un acumulo de fibras nerviosas que salen de la retina para llegar al nervio óptico, y una depresión central pequeña (fosa fisiológica) por la que salen la arteria y vena centrales de la retina.

El disco óptico, por lo regular es algo oval, de 1.5 mm de diámetro, situado en el lado nasal del polo posterior. En el borde del disco, se interrumpe en forma súbita la continuidad de los tejidos retinianos, salvo en las fibras del nervio óptico.

El orificio en la esclerótica está lleno por la lámina cribosa, una lámina densa perforada por haces de fibras del nervio óptico, y que se continúa con tejido de la esclerótica en su periferia.

El nervio óptico en sí no es un nervio periférico sino un haz del sistema nerviosos central entre las células ganglionares retinianas y el mesencéfalo. Se extiende por atrás hasta el quiasma óptico.

El nervio óptico incluye también fibras que cruzan a los tubérculos cuadrigéminos anteriores y posteriores para el reflejo pupilar, algunas fibras autónomas, y fibras eferentes que pasan a la retina y no tienen función precisa. La arteria y venas centrales llegan a la retina con el nervio óptico, a cierta distancia por atrás del globo ocular. ⁽¹⁶⁾

1.4 MEDIOS TRANSPARENTES DEL OJO

Los medios transparentes del ojo son el humor acuoso, el cristalino y el humor vítreo. ⁽²⁾

a) HUMOR ACUOSO

Está situado entre la córnea y el cristalino. Bajo la acción de continuos procesos de secreción y resorción permite mantener en el interior del globo ocular una presión conveniente. Por la influencia de ciertos factores. La resorción del humor acuoso no se realiza suficientemente, con lo que aumenta la presión en el interior del globo ocular, se comprimen los vasos sanguíneos y se atrofian los tejidos. Esta disfunción se conoce con el nombre de glaucoma, que puede llevar a la ceguera. ⁽²⁾

b) CRISTALINO

El **cristalino**. Es un lente con forma de esfera aplanada constituida por un gran número de fibras transparentes dispuestas en capas. Está ligado al músculo ciliar, que tiene forma de anillo y lo rodea mediante unos

ligamentos. El músculo ciliar y los tejidos circundantes forman el cuerpo ciliar y esta estructura aplana o redondea el lente, cambiando su capacidad de enfocar objetos situados a diferentes distancias. ⁽¹⁵⁾

El cristalino es elástico en el sujeto joven pero se endurece y presenta esclerosis en el adulto. Está rodeado por una cápsula fuerte notablemente elástica, a la que está fijado el cuerpo ciliar por medio de la zónula o ligamento suspensor. El grosor (el eje) es de aproximadamente 3.6 milímetros que aumenta a 4.5 milímetros en la acomodación; el diámetro ecuatorial en el adulto es de aproximadamente 9 milímetros. ⁽¹⁶⁾

La opacificación del cristalino, que aparece en las personas ancianas, recibe el nombre de catarata. ⁽²⁾

c) HUMOR VÍTREO

Es un gel que ocupa toda la cavidad interior. Situada entre el cristalino y la retina. ⁽²⁾

1.5 ANEXOS DEL OJO

Los órganos accesorios del ojo comprenden los siguientes elementos:

- a) Aparato lagrimal
- b) Músculos del ojo

- c) Párpados
- d) Cejas
- e) Conjuntiva

Todos en conjunto, contribuyen a la protección y al buen funcionamiento de la vista

a) Aparato lagrimal

Comprende las glándulas lagrimales y sus conductos que desembocan en el saco proximal y las vías lagrimales que drenan el exceso de lagrimas del saco conjuntival en la cavidad nasal.

La glándula lagrimal principal se encuentra en el ángulo superior externo de la órbita, por dentro del borde orbitario, de relación con el tendón del elevador del párpado superior, y por debajo de la conjuntiva del fondo de saco superior. Tiene la forma de una almendra y es de carácter tubuloalveolar y seroso, con células mioepiteliales notables. Los lóbulos separados de la glándula desembocan en conductos excretores en la zona externa del fondo de saco conjuntival superior. Hay numerosas glándulas lagrimales accesorias en la lámina propia de los párpados superior e inferior. Después de entrar al saco conjuntival, las lagrimas se evaporan parcialmente. Sirven para conservar húmedo el epitelio conjuntival, los

párpados extienden la secreción sobre la córnea a manera de los limpiadores de los cristales de un automóvil, y arrastran las partículas extrañas.

b) Músculos del ojo: Se dividen en :

- Oblicuo mayor
- Recto superior
- Recto inferior
- Oblicuo menor
- Agujero óptico. ⁽¹⁶⁾

b) Párpados

Cada párpado consiste en una capa central de sostén de tejido conectivo y músculo estriado cubierto por fuera por piel, y por dentro por mucosa. La piel que reviste el párpado por fuera es delgada, con algunos pequeños pelos, glándulas sudoríparas y sebáceas, dermis de tejido conectivo fino en el que abundan fibras elásticas.

La dermis es más densa en el borde transversal y en este sitio contiene tres a cuatro hileras de pelos largos duros, las **pestañas**, que penetran profundamente. Entre las pestañas y por detrás de las mismas se encuentran glándulas sudoríparas grandes, que se caracterizan por sus conductos terminales rectos y no flexuosos (glándulas de Moll).

Por debajo de la piel se encuentra una capa de fibras de musculatura estriada, la zona palpebral del músculo orbicular de los párpados, y las fibras de inserción del elevador palpebral superior. También se encuentran haces delgados de musculatura lisa, los músculos palpebrales de Müller.

Por detrás de la capa muscular se encuentra una capa fibrosa que incluye una capa delgada de tejido fibroso en sentido periférico (tabique orbitario) y la placa tarsal. Las placas tarsales son láminas de tejido conectivo denso, curvadas para adoptar la forma del globo ocular; la superior tiene forma de D con su borde horizontal inferior que corresponde al borde del párpado. La placa tiene 10 a 12 mm de ancho, pero la placa inferiores una banda estrecha (5 mm) que se encuentra en la región central del párpado inferior. En ambas placas tarsales hay una hilera única de glándulas sebáceas grandes, las glándulas tarsales (de Meibomio) cuyos conductos se abren en el borde del párpado. De los conductos principales, numerosas ramificaciones laterales pasan para desembocar a alvéolos secretorios únicos o múltiples. La cara profunda posterior de cada placa tarsal se une con la conjuntiva, que se continúa con la epidermis, en el borde interno del borde palpebral. ⁽¹⁶⁾

c) Cejas

Se da este nombre a dos prominencias arqueadas y provistas de pelos, situados sobre los párpados. Ambas tienen la forma de un arco,

dirigido transversalmente y de concavidad inferior. Se distinguen en ellas: la extremidad interna o cabeza; la parte media o cuerpo; la extremidad externa o cola. Las cabezas de las dos cejas están separadas, en la línea media, por una superficie desprovista casi siempre de pelos y dimensiones muy variables según individuos, llamada entrecejo o espacio intercilial.

d) **Conjuntiva**

La conjuntiva es la membrana mucosa que reviste la cara interna de los párpados, a partir de la que se refleja en la cara anterior del globo ocular. Se continúa con el epitelio de la córnea en el borde corneal y con la piel en las márgenes palpebrales.

El epitelio de la conjuntiva varía con su situación, pero incluye una capa basal de células cúbicas, una capa superficial de células cónicas o cilíndricas y, especialmente sobre el párpado inferior, de una a tres capas intermedias de células poligonales. Diseminadas entre las células epiteliales hay algunas células calciformes que secretan moco.

Constituyen un órgano de protección. Por el mecanismo del reflejo óculo-parpebral. Sus afecciones se conocen con el nombre de blefaritis. ⁽¹⁶⁾

1.6 FUNCIÓN DEL OJO

El ojo funciona como órgano receptor del aparato visual. Los rayos luminosos que llegan son enfocados por la córnea y el cristalino para formar la imagen invertida, real, reducida del objeto en la copa fotosensible de conos y bastones retiniados. El enfoque es llevado a cabo por la alteración de la convexidad del cristalino. En la posición de descanso, con el músculo ciliar en relajamiento, el cristalino está aplanado por la tensión elástica de la zónula. La contracción del músculo ciliar, especialmente en las fibras externas meridionales, hace que se desplacen hacia delante las coroides y el cuerpo ciliar. Ello relaja la tensión de la zónula y permite que el cristalino, que es elástico, aumente su convexidad y con ello su capacidad de refracción.

En los segmentos exteriores de los bastones y conos se encuentran dos pigmentos visuales: **rodopsina** en los bastones que es sensible a la visión escotópica (adaptación a la oscuridad), **yodopsina** en los conos. Estos pigmentos incluyen proteína específica unida a vitamina A aldehído. La luz que llega a estos pigmentos, por una serie de cambios químicos, produce despolarización de la membrana receptora celular y la formación de un potencial de acción que después de ello es conducido por una serie de neuronas (incluidas las células bipolares y ganglionares) al cerebro. ⁽¹⁶⁾

1.7 CARACTERÍSTICAS DEL LÍQUIDO LACRIMAL

La superficie del globo ocular se mantiene húmeda merced a las lágrimas, secretadas por el tracto lacrimal, y a las secreciones mucosas oleosas provenientes de los otros órganos y células secretantes de la conjuntiva y los párpados. Las lágrimas propiamente dichas, están compuestas por moco y secreciones provenientes de las glándulas lacrimales.

Una proteína enzimática de intensa alcalinidad, es la lisozima, sustancia antibacterica que describió por primera vez Fleming en 1922, y es responsable del bajo recuento bacterico de las lágrimas humanas normales, de las secreciones nasal, bronquial y gástrica; se halla en tejidos y en clara de huevo, de donde se puede obtener con relativa facilidad.

El pH de las lágrimas es de alrededor de 7.2 y se torna más alcalino cuando el lagrimeo es continuo. Los límites son 7.0 a 7.4. Este líquido posee una densidad de 1.001 a 1.005 y un descenso crioscópico de 0.551°C .⁽³⁾

Composición Química de las Lágrimas:

constituyentes	Gramo por ciento
Agua	98.2
Residuo	1.8
Cenizas	1.05
Materias orgánicas	0.75
Proteínas totales	0.669
Albúmina	0.394
Globulinas	0.275
Nitrógeno total	0.158
Nitrógeno no proteico	0.051
Urea	0.030
Glucosa	0.65
Cloro	0.658
Sodio	0.44
Potasio	0.12
Amoníaco	0.005

2. ABSORCION DE PRINCIPIOS ACTIVOS OFTALMICOS

Parte del principio activo administrado puede ligarse a las proteínas tanto en las lágrimas como en la parte anterior del ojo, lo cual influirá negativamente en la biodisponibilidad del mismo.

Los principios activos disueltos en la película lacrimal penetran en el globo ocular casi exclusivamente a través de la córnea, ya que gran parte del principio activo que atraviesa la conjuntiva se pierde rápidamente en la corriente sanguínea y sólo una pequeña cantidad difunde a través de la zona limbal y de la esclerótica. ⁽²⁾

Cuando los principios activos alcanzan el espacio subconjuntival pasan rápidamente al torrente sanguíneo, pudiendo penetrar en los tejidos más profundos.

Debido a la constitución en capas lipófilas e hidrófilas de la córnea para poder pasar a través de una córnea intacta las sustancias deben ser a la vez liposolubles e hidrosolubles, ya que las exclusivamente hidrosolubles no pueden atravesar el epitelio y las liposolubles no pueden atravesar el estroma.

Las sustancias liposolubles (no polares), y de estructura atómicas simétricas, penetran más rápidamente en el interior del ojo cuando el epitelio

corneal está intacto, y más difícilmente cuando está lesionado (lo contrario ocurre evidentemente con las sustancias hidrosolubles).

Los tensioactivos, algunos de los cuales se usan como conservadores oftálmicos, reducen la resistencia de las células epiteliales (tal es el caso del cloruro de benzalconio, que puede destruir las capa celular más exterior.)

La permeabilidad del epitelio corneal varía considerablemente de acuerdo con la disociación de las sustancias que depende principalmente del pH de la solución. ⁽²⁾

3. GENERALIDADES DE LOS COLIRIOS

3.1 DEFINICION DE COLIRIOS

Los colirios llamados soluciones oftálmicas están preparados con materias primas de calidad y por un método que asegure su esterilidad y evite la introducción de contaminantes así como el crecimiento de microorganismos. Entre otras definiciones se citan:

“Los colirios son disoluciones o suspensiones estériles, acuosas u oleosas que contienen una o varias sustancias medicamentosas destinadas a la instilación ocular”. ⁽²⁾

“Las soluciones oftálmicas son soluciones estériles, esencialmente libre de partículas extrañas, compuestas y envasadas adecuadamente para la instilación en el ojo”.⁽¹¹⁾

“Los colirios son soluciones que, en un medio acuoso contienen uno o más principios activos y cuya finalidad es la aplicación tópica en los ojos, en forma de gotas. Algunos autores incluyen dentro de estas soluciones baños oculares, soluciones oleosas y hasta formas sólidas”.⁽³⁾

“Colirio medicamento líquido o pastoso que se emplea para el tratamiento de trastornos oculares o palpebrales”.⁽⁷⁾

3.2 CONDICIONES DE LAS SOLUCIONES OFTÁLMICAS

— Presión Osmótica

Los colirios deben ser isotónicos con el líquido lacrimal. Esta isotonía se logra con el agregado de cloruro de sodio, u otra sal, en el caso de existir incompatibilidad.

En un principio, se admitió la concentración 1.4% de cloruro de sodio como solución isotónica con las lágrimas. Estudios posteriores, demostraron que una solución acuosa de 0.9 % de cloruro de sodio, tiene propiedades coligativas semejantes a la del suero sanguíneo, mantiene una presión osmótica similar a la de las lágrimas. Se indicó que conviene preparar las

soluciones de manera que tengan el mismo descenso del punto de congelación de las lágrimas, -0.52°C . Posteriormente, los márgenes considerados como no irritantes para el ojo, se encontraban entre 0.5 — 0.6% y 2% de cloruro de sodio cuyos descensos crioscópicos se hallan entre -0.3°C y -1.1°C

Instilando soluciones que van desde 2.5 hasta el 30%, se ha comprobado que el dolor se produce a partir de las concentraciones de 5%, siendo irregular la cantidad de pacientes a los que les resultan molestas hasta llegar a 12.5% y a partir de esta concentración resultan molestas para casi todos los pacientes tratados. Un factor importante que es necesario tener en cuenta es que la cantidad de principio activo no debe sobrepasar el 5%. Todos estos trabajos permiten determinar que la regulación de la presión osmótica es de importancia secundaria cuando se emplean como vehículos soluciones tamponadas y que, aunque fuesen hipertónicas, las lágrimas producen una inmediata dilución del colirio tendiendo a corregir la tonicidad.

Las molestias producidas o el dolor provocado por la aplicación de un colirio, pueden obedecer a características propias de la droga en sí, tales como su poder tensioactivo y la posible desnaturalización de proteínas. ⁽³⁾

— Claridad de las Soluciones

Todo colirio debe ser por completo transparente y no ha de contener partículas, fibras ni filamentos extraños, se pasa a través de filtros bacteriológicos y se recibe en zona estéril en un recipiente de vidrio o acero inoxidable según los volúmenes filtrados.

Es fundamental que el equipo filtrante esté limpio y haya sido bien enjuagado para no aportar partículas con el mismo dispositivo destinado a eliminarlas. Las operaciones realizadas en ambientes limpios, el uso de cubierta de flujo laminar y la indumentaria apropiada, que no emita pelusa, contribuyen en conjunto a preparar soluciones límpidamente claras, libre de toda partícula extraña. En muchos casos se consigue claridad y esterilidad en el mismo paso de filtración.

Es esencial comprender que la claridad de la solución, también esta en función de la limpieza del recipiente y del cierre que se piensan usar. Ambos deben estar impecablemente limpios, estériles y sin pelusa. Es decir, el recipiente o el cierre no deben aportar partículas a la solución durante el prolongado contacto. ⁽⁹⁾

—pH

A pesar de la capacidad de las lágrimas de neutralizar, tanto soluciones ácidas como básicas, llevándolas a términos confortables, la estabilización del pH, dentro de límites determinados de las soluciones

oftálmicas, es una de las condiciones más importantes a tenerse en cuenta. A pesar de ello, se encuentran en el mercado colirios con valores de pH ampliamente extendidos. Ello es posible, debido a la acción neutralizante de las lágrimas y al incremento de secreción lacrimal subsiguiente a la instilación. Se considera que las lágrimas llegan a neutralizar, llevando a límites confortables, instantáneamente, soluciones que van de pH 3.5 hasta 10.5. Si la posibilidad de neutralización de las lágrimas es sobrepasada, se lesiona la córnea, produciéndose la sensación de dolor. Por lo tanto, aquel colirio cuyo pH corresponde aproximadamente al pH normal de la secreción lacrimal, será menos irritante. El pH del líquido lacrimal es como promedio, 7.0 a 7.4, variando en personas enfermas.

Al estudiarse toda nueva fórmula de soluciones oftálmicas, debe tenerse especial cuidado con este requisito, ya que, no sólo se brindará mayor confort al paciente, sino que, algunos principios activos de uso en oftalmología, se conservan bien a un pH dado, asegurando una mayor estabilidad a la fórmula y llegando en varios casos a aumentarse la actividad terapéutica de los mismos.

La optimización de estas tres cualidades, brindan un colirio ideal; pero, en muchos casos es sumamente difícil lograr un pH tal, que satisfaga estos fines. En estos casos, se debe dar preferencia a la actividad terapéutica y estabilidad de las soluciones.

Los distintos autores afirman que es la base libre, obtenida de la hidrólisis de muchas de las sales utilizadas en oftalmología, la que es absorbida y produce el efecto terapéutico buscado. Es por esto, que algunos autores han hecho adaptaciones con el fin de administrar suficiente base libre, causando irritación mínima y brindando estabilidad química a las soluciones. Por otro lado, otros insisten en que el poder tampón de las lágrimas es suficiente para regular soluciones débiles instiladas en los ojos y consideran que no es provechoso utilizar soluciones de la base, en lugar de la sal. Además, la mayoría de las bases son insolubles.

Drogas como el bitartrato de epinefrina producen soluciones realmente ácidas, y para ellas se requiere seleccionar una buena solución amortiguadora como vehículo.

Es sumamente importante, la correcta selección de la sal a utilizar, ya que, como en el caso de la epinefrina, si se utiliza el tartrato en lugar de un clorhidrato, por ejemplo, se dispone de un hidroxilo libre, el que requerirá una mayor fuerza neutralizante para llegar a los niveles deseados.⁽³⁾ Las soluciones de drogas con pH alcalino se utilizan generalmente sin amortiguar.

Algunos autores aconsejan, en los casos de los ojos enfermos, considerando que el pH de las lágrimas se ha alterado, el uso de soluciones de pH contrario al que presentan las mismas. Para ello, en los traumatismos

o úlceras de la córnea indican el uso de una solución ácida, ya que las lágrimas se encuentran entre pH 8.0 — 8.4. En caso de infección mixta aconsejan el uso de soluciones de pH 7.3. En infecciones por neumococos, como no puede desarrollarse a pH menor de 7.0 aconsejan soluciones ácidas, mientras que, dado que los estafilococos y estreptococos tienden a formar ácido, estas infecciones se las debe tratar con soluciones alcalinas.

El farmacéutico fabricante de colirios utiliza desde el simple agregado de ácido clorhídrico e hidróxido de sodio para el ajuste de pH, hasta variadas combinaciones de sales, con el fin de lograr una óptima solución para uso oftálmico. Entre las distintas soluciones que se utilizaron para adecuar el pH de las soluciones oftálmicas a las lágrimas, se encuentran las llamadas Gifford, las que están compuestas por una solución de ácido bórico y una de carbonato de sodio. Estas soluciones ya no se utilizan, por ser hipertónicas.

La solución de 19 g de ácido bórico cristalizado en 1000 mL de agua destilada estéril, es isotónica y tiene un pH 4.8. Su uso es aconsejable para una serie de drogas. Debido a que el ácido bórico es débilmente disociado, las soluciones se neutralizan más despacio en el ojo y poco a poco se desprende la base libre, la que es absorbida, disminuyéndose notablemente la irritación. ⁽³⁾

Como soluciones reguladoras en colirios se usan básicamente las de ácido bórico-borato de sodio, y las de fosfatos.

Para el empleo de las soluciones reguladoras debe tenerse en cuenta las posibles reacciones con el o los principios activos incorporados. Así, por ejemplo, los tampones de boratos secuestran a muchos polioles para formar quelatos y tanto los tampones de boratos como los de fosfatos son incompatibles con sales de plata, de magnesio y de cinc. Por ello en la literatura se encuentra, otras soluciones reguladoras, como por ejemplo, las de citrato- fosfato. ⁽²⁾

Desde el punto de vista práctico, a modo orientativo y salvo excepciones puede decirse que los colirios cuyas formulaciones incluyen antibióticos se formulan con soluciones reguladoras bórico-borato y los que llevan esteroides, sulfamidas, antihistamínicos o alcaloides se preparan con soluciones fosfato-difosfato.

La actividad fisiológica del principio activo puede variar en función del pH por tanto no es, siempre indicado llevar el colirio al pH de las lágrimas, pero hay otras razones entre las cuales las más importantes son las incompatibilidades a que conduce el ajuste de pH a esta zona, como son: precipitación de alcaloides base, precipitación de hidróxidos metálicos, reacciones de hidrólisis y disminución, de actividad fisiológica y aparición en algunos casos de coloraciones (Ejemplo: Adrenalina.) ⁽²⁾

En la preparación de colirios conviene considerar que un medicamento presenta varios valores óptimos de pH (pH óptimo a la conservación química, pH óptimo a la actividad terapéutica, pH óptimo de tolerancia) y que se debe investigar hasta encontrar un compromiso entre estos valores.

Habitualmente se tienen sobre todo en cuenta los valores de pH capaces de asegurar una buena conservación y una actividad terapéutica máxima, puesto que, como se ha indicado la mucosa ocular presenta una excelente tolerancia a variaciones relativamente grandes de pH. Sin embargo, cuando no es posible que el pH óptimo para la conservación permita una aceptable tolerancia ocular se debe recurrir a presentar el colirio como polvo estéril a disolver en el momento del empleo. ⁽²⁾

—Determinación del pH de los colirios:

Es indispensable la determinación potenciométrica del pH de los colirios en los ensayos de control.

Si el pH observado fuese ácido o alcalino, se adicionará al colirio, si es que debe ser neutro, y teniendo en cuenta las incompatibilidades eventuales, o una sustancia alcalina o una solución alcalina en cantidad calculada (citrato sódico, fosfato disódico) o una sustancia ácida o una solución ácida (ácido cítrico, ácido bórico o fosfato monosódico.) se volverá a verificar el pH.

Deberá tenerse en cuenta la cantidad de ácido o de álcali añadido, en el cálculo de la isotonía especialmente cuando la concentración en principio activo del colirio sea importante. ⁽²⁾

Las soluciones Sorensen, son también utilizadas como vehículo en las preparaciones líquidas oftálmicas, siendo éstas una combinación de sales de fosfatos (monosódico y disódico); se las hace isotónicas con el agregado de cloruro de sodio. La mezcla en partes iguales de las dos soluciones brinda un pH 6.8 siendo este pH utilizado para un grupo importante de drogas. La solución de fosfato monosódico, utiliza 8.00 g de fosfato monosódico anhidro y cantidad suficiente de agua destilada estéril para llevar a 1000 mL. La solución de fosfato disódico, utiliza 9.47 g de fosfato disódico anhidro y cantidad suficiente de agua destilada estéril para llevar a 1000 mL ⁽³⁾

La búsqueda del pH óptimo a utilizar para los distintos preparados de uso oftálmico, han llevado a utilizar, además de las combinaciones de sales descritas a muchas otras más. Con mayor razón en los momentos actuales, en que los laboratorios de especialidades medicinales elaboran la mayor parte de los colirios de uso corriente, es importante asegurar la estabilidad de la solución en un periodo de tiempo razonable, que con seguridad será mayor que el de cualquier solución oftálmica elaborada magistralmente. Por lo tanto, se deberá dar suma importancia a este punto, pero, teniendo muy presente que es necesario asegurar la actividad terapéutica del producto, no

dejando de lado el confort del paciente. Las combinaciones de ácido bórico (1 % a 2%) con borato de sodio (0.05% a 0.2%), citrato de sodio (0.10% a 0.30%) o fosfato de sodio (0.10%); la de fosfato de sodio (0.20%) con ácido cítrico (0.10%); las de nitrato de sodio (0.80% a 1.0%) con ácido nítrico y las de acetato de sodio (0.1%) con ácido acético, son corriente

SOLUCIONES REGULADORAS DE SORENSEN

Solución de fosfato monosódico (0.8%p/v) mL	Solución de fosfato disódico (0.947%p/v) mL	pH de la solución resultante	Cloruro de sodio necesario para isotonzar g
90	10	5.91	0.52
80	20	6.24	0.51
70	30	6.47	0.50
60	40	6.64	0.49
50	50	6.81	0.48
40	60	6.98	0.46
30	70	7.17	0.45
20	80	7.38	0.44
10	90	7.73	0.43
5	95	8.04	0.42

4. CONDICIONES DE FABRICACIÓN

Uno de los requisitos más importantes, y a la vez más difíciles de conseguir en la elaboración de colirios es evitar la contaminación por partículas extrañas en las soluciones oftálmicas. Aunque se utilicen componentes de la mejor calidad, el producto final puede resultar inaceptable si el área en la cual se prepara el colirio no es aséptica. De aquí la gran importancia que tiene el diseño del área de elaboración, su grado de limpieza y que el aire circulante en el área de producción sea filtrado por filtros HEPA.

En consecuencia, las instalaciones para producción y el procedimiento que se emplee para procesar el producto debe ajustarse a normas adecuadas. Cuando más perfecta sea esta norma, mejor y más seguro será el producto.

Normalmente el área de producción debe dividirse en cinco secciones. (ver anexo 1)

- Área de limpieza
- Área de composición
- Área aséptica o de envasado
- Área de cuarentena
- Área de producto terminado o empacado.

Las características de construcción de estas áreas deben ser tales que permitan una fácil limpieza y la mínima acumulación de polvo. Se debe utilizar suelos de baldosa vinílica con las hendiduras perfectamente selladas.

Las paredes y techos deberán ser lisos con curvas sanitarias, sin zonas rugosas para evitar la acumulación de partículas. Todas las superficies se han de cubrir con pintura epoxi a la que se puede añadir una pintura fungicida. Los ángulos que forman las paredes y techos deben ser redondeados para facilitar su limpieza. ⁽⁴⁾

Por otra parte, el mobiliario debe ser de un material que no libere partículas, tal como el acero inoxidable. Estas son las características de toda el área de elaboración. ⁽⁴⁾

4.1 ÁREA DE LIMPIEZA

Esta área tiene como objeto la limpieza de los envases y utensilios que se van a usar en la elaboración. Para no aumentar grandemente la contaminación, no se deberá vaciar aquí los frascos desde las cajas de cartón, sino que han de llegar en recipientes metálicos. Esta zona ha de estar construida de tal forma que las paredes, techos y suelo resistan la humedad, vapor y detergentes que se van a utilizar. Por ello las paredes deben ser impermeables para que la humedad resbale y no sea retenida.

También debe estar bien ventilada para poder eliminar, fácilmente el calor y la humedad. Aunque no tiene porque ser aséptica deberá evitarse la acumulación de suciedad y el crecimiento de microorganismos debido a la alta temperatura y excesiva humedad. ⁽⁵⁾

4.2 ÁREA DE PREPARACIÓN

Es el lugar donde se realiza la composición de las fórmulas en los Colirios, para pasarlas posteriormente a la área aséptica donde se realizará el proceso de llenado. Esta área debe tener como ya se dijo, las paredes y el techo lisos, recubierto de pintura epoxi que proporciona una superficie continua libre de agujeros y grietas. Sin necesidad de llegar a la asepsia, aumentándose los controles en mayor proporción que en el área de limpieza.

Las mesas que se usen en esta área serán preferiblemente de acero inoxidable, por su fácil limpieza y poco desprendimiento de partículas. ⁽⁴⁾

La preparación de las soluciones se elabora en recipientes de acero inoxidable, provistos de agitador.

La incorporación de los distintos componentes de la formulación al solvente, que en la gran mayoría de los casos es el agua, se realiza en el orden indicado por sus características de solubilidad, en los recipientes antes dichos, en una zona limpia estéril.

Esta solución obtenida se esteriliza pasándola a través de filtros bacteriológicos y se recibe, en zona estéril, en un recipiente de vidrio o acero inoxidable según los volúmenes filtrados.

El fraccionamiento de esta solución se realiza por medio de una pipeteadora bajo campana de flujo laminar, en los envases en que se expende el producto.

Entre los componentes de la formulación que intervienen derivados celulósicos, se elabora por separado una dispersión de estas materias primas, humectándolas en agua caliente a 50° y esterilizándolas posteriormente a 120° .

Una vez fría se mezcla bajo continua agitación y en un recipiente de acero inoxidable con la solución madre del preparado que contiene el resto de los ingredientes, esta operación se realiza en zona estéril. ⁽³⁾

4.3 ÁREA ASÉPTICA

El área aséptica debe tener rasgos de construcción diseñados para obtener una seguridad máxima. El cielo raso, las paredes y el piso deben ser sellados para que se puedan lavar y desinfectar según necesidad. Todas las mesas deben ser de acero inoxidable y estar empotradas en la pared para que no se acumule suciedad junto al piso. Los apliques de luces, tuberías de

servicio y ventiletes o respiraderos deben estar a ras de las paredes o cielo raso para eliminar relieves, uniones y otros sitios donde se acumulan polvillo y suciedad. En la medida de lo posible los tanques que contienen el producto compuesto debe estar fuera del área de envasado aséptico y el producto debe llegar al área mediante mangueras. Los equipos mecánicos que se encuentran en el área aséptica deben estar alojados de la manera más compleja posible dentro de un gabinete de acero inoxidable para sellar sus partes móviles.

Las partes mecánicas que tienen contacto con el producto deben ser desarmables de manera que se puedan esterilizar.

Con respecto al personal que ingresa al área aséptica sólo debe entrar a través de una trampa de aire, la indumentaria debe consistir en una prenda enteriza estéril con gorro, botas y guantes estériles. El movimiento dentro del área debe ser mínimo y se debe restringir estrictamente la entrada y salida de personal durante la operación de envasado. ⁽¹⁰⁾

Los requisitos para preparar el área y para el personal puede atenuarse un poco si el producto se ha de esterilizar después en un recipiente sellado. Sin embargo, algunos sostienen que es mejor atenerse a un solo procedimiento estándar con los requisitos más estrictos. ⁽⁹⁾

4.4 PLAN DE CIRCULACIÓN EN LAS ÁREAS DE FABRICACIÓN

En general los componentes de un producto estéril circulan desde el depósito hacia:

1. El área de composición, como sucede con los componentes de la fórmula.
2. El área de limpieza como sucede con los equipos y recipientes.

Después de ser procesado en estas áreas, los componentes pasan a la seguridad del área aséptica para cargar el producto en los recipientes apropiados.

Desde aquí el producto entra en el área de cuarentena donde queda detenido hasta que se completan todas las pruebas necesarias. Si el producto se ha de esterilizar en su recipiente final, normalmente el proceso se interrumpe una vez que el producto sale del área aséptica para ser sometido a la esterilización. Al comprobar que el producto es eficaz e inocuo, pasa al área de terminado para su etiquetado y embalaje final. A veces en este plan de circulación se introducen variantes para satisfacer las necesidades específicas de un producto individual o para adaptarlo a la instalación disponible. ⁽¹⁰⁾

MONOGRAFÍAS DE LOS COMPONENTES DE LAS FÓRMULAS DE LOS COLIRIOS EN ESTUDIO

CLORANFENICOL

Sinónimo: D-treo-(-)-2,2-Dicloro-N-[β-hidroxi-α-(hidroximetil)-p-nitrofenil]-acetamida.

Descripción: Consiste en finos cristales similares a agujas o láminas alargadas, de color blanco a blanco grisáceo o blanco amarillento; es inodoro y tiene un sabor intensamente amargo; el pH (de una solución saturada) está entre 4.5 y 7.5; es razonablemente estable en soluciones neutras o moderadamente ácidas pero resulta rápidamente destruido en soluciones alcalinas; funde entre 149^o y 153^o.⁽¹⁰⁾

Cloranfenicol es originalmente un antibiótico del amplio espectro obtenido del *Streptomyces venezuelae*. Es principalmente bacteriostático y actúa por inhibición de síntesis de la proteína, interfiriendo con la transferencia de aminoácidos activados de ARN solubles en los ribosomas. Se ha observado que el cloranfenicol se encuentra en cantidades mensurables en el humor acuoso subsiguiente a la aplicación local al ojo. El desarrollo de resistencia al cloranfenicol puede considerarse como mínimo para el *Staphylococcus* y muchas otras especies de bacterias.

Indicaciones y Uso: el cloranfenicol sólo debe usarse en aquellas infecciones serias. Bacteriológicamente deben realizarse estudios para determinar el organismos causante y su sensibilidad al cloranfenicol.

El cloranfenicol es activo contra las siguientes bacterias patógenas comunes del ojo:

Staphylococcus aureus

Streptococcus, incluyendo *Streptococcus pneumoniae*

Escherichia coli

Haemophilus influenzae

Klebsiella / especies *Enterobacter*

Moraxella lacunata(*bacillus de Morax-Axenfeld*)

Las especies de *Neisseria*

No proporciona adecuada cobertura contra:

Pseudomonas aeruginosa

Serratia marcescens

El uso prolongado del antibiótico puede producir el crecimiento excesivo de organismos no susceptibles, incluyendo hongos. Si las nuevas infecciones aparecen durante la medicación, la droga debe discontinuarse y se deben tomar medidas apropiadas.

En todo las infecciones serias el uso tópico de cloranfenicol debe ser complementado por la apropiada medicación sistémica.

Reacciones adversas: Alergia o reacciones de inflamación debido a la hipersensibilidad individual y ocasionalmente quemadas o picadas puede ocurrir con el uso de cloranfenicol. La discrasia sanguínea puede ser reportada en asociación con el uso de cloranfenicol.

Dosis y administración: Aplicar 0.25 mg a 0.5 mg de cloranfenicol 4 o 6 veces por día durante las primeras 72 horas, dependiendo en la severidad de la condición. Pueden aumentarse intervalos entre las aplicaciones después de los primeros dos días. Entonces la acción de la droga es principalmente bacteriostático, la terapia debe continuarse durante 48 horas después de que se ha logrado una cura. ⁽⁸⁾

CLORHIDRATO DE NAFAZOLINA

Es un principio activo que ejerce acción terapéutica en una de las fórmulas en estudio, debido a que presenta un mecanismo de acción sobre los receptores alfa adrenérgicos en las arteriolas de la conjuntiva produciendo vasoconstricción, lo cual ocasiona una disminución de la congestión conjuntival.

El clorhidrato de nafazolina está indicado en el nivel temporal de la congestión, picor, irritación leve de los ojos producidos por alergias relacionadas con el polen, polvo, viento, contaminación, natación, por el uso de lentes de contacto o por el trabajo excesivo de los ojos ya sea leyendo, trabajando a corta distancia visual, viendo televisión o conduciendo.

Este principio activo no debe usarse cuando existen los siguientes problemas médicos.

- I Glaucoma de ángulo estrecho. Debido a que la nafazolina puede producir midriasis significativa que precipite un ataque agudo de glaucoma de ángulo estrecho.
- II. Enfermedades oculares graves, infecciones o lesiones.
- III. Hipertiroidismo.
- IV. Hipertensión.

El clorhidrato de nafazolina rara vez presenta efectos secundarios, sin embargo la dosificación excesiva o el uso prolongado puede producir un aumento de la irritación de la conjuntiva y efectos secundarios sistemáticos.⁽⁴⁾

ANTAZOLINA FOSFATO.

La antazolina fosfato es un receptor antagonista H₁, que produce efecto antihistamínico, la antazolina fosfato más la nafazolina clorhidrato

combinan el efecto de la antihistamina y la vasoconstricción; la solución oftálmica de esta combinación esta indicada para el alivio de alguna señal o síntomas de alergia por conjuntivitis. ⁽⁶⁾

TIMOLOL MALEATO

Descripción. Cristales blancos que funden a 202°, el pH (de la solución acuosa al 5%) es aproximadamente cuatro.

Solubilidad. Completamente soluble en agua, soluble en alcohol, poco soluble en cloroformo, prácticamente insoluble en éter.

Usos. Es un antagonista no selectivo de los receptores adrenérgicos β con todos los usos posibles. Los usos aprobados en los EE.UU. incluyen el tratamiento de muchos tipos de *glaucoma*. Como el primer antagonista β a ser usado en los EE.UU. para el tratamiento del glaucoma, no posee actividades agonista intrínseca ni anestésica local. Sin embargo puede producirse su absorción sistémica a través de los conductos lagrimales y debe usarse con precaución en los pacientes con asma, enfisema, insuficiencia cardiaca congestiva, diabetes y bloqueo cardíaco superior al de primer grado. Debido a su alta potencia, tiene buena eficacia tópica en el ojo. Alrededor del 80% es eliminado por metabolismo hepático y el 20% por excreción renal. La vida media de eliminación es de unas 3 a 4 horas en los metabolizadores rápidos y de 7.5 horas en los metabolizadores lentos.

EL PHYSICIANS' DESK REFERENCE (PDR) para oftalmología, describe una solución oftálmica que contiene: 5.0 mg de timolol (6.8 mg de timolol maleato por mililitro.) Ingredientes inactivos: fosfato de sodio monobásico y dibásico, hidróxido de sodio para ajustar el pH, agua para inyectables se ha agregado cloruro de benzalconio 0.01% como preservante.

Dosis y administración: la solución Oftálmica está disponible en concentraciones de 0.25 y 0.5 por ciento. La dosis de arranque usual es una gota de 0.25 por ciento en el ojo afectado dos veces al día, si no hay respuesta clínica adecuada, la dosificación puede cambiarse a una gota de 0.5 por ciento de solución en el ojo afectado dos veces al día.

Subsecuentemente en algunos pacientes la contestación presión-amenazadora al colirio puede requerir unas semanas para estabilizar, la evaluación debe incluir una determinación de presión del intraocular después de aproximadamente 4 semanas de tratamiento con el colirio. ⁽⁸⁾

GENTAMICINA SULFATO

Gentamicina sulfato es un antibiótico soluble en agua del grupo de los aminoglucósidos.

La gentamicina se obtiene de cultivos de *Micromonospora purpurea*. Es una mezcla de la sal sulfato de gentamicina C1, C2 y C1a. Los tres componentes

aparecen para tener una actividad microbiana. Gentamicina sulfato existe como un polvo blanco brillante que es soluble en agua e insoluble en alcohol.

EL PHYSICIANS' DESK REFERENCE (PDR) para oftalmología, describe una solución oftálmica que contiene: Cada mL de sulfato de gentamicina contiene un equivalente a 3 mg (0.3%) de gentamicina base con: Alcohol polivinílico 14 mg (1.4%); cloruro del benzalconio; edetato de sodio; fosfato de sodio dibásico; cloruro de sodio; ácido clorhídrico y / o hidróxido de sodio para ajustar el pH; y agua purificada. La solución es acuosa, es una solución amortiguadora con un pH de 7.2 - 7.5.

Indicaciones y uso: La gentamicina sulfato es activo *in vitro* contra muchas clases de los siguientes microorganismos : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*, y *Serratia marcescens*.

La gentamicina sulfato se usa como tratamiento tópico de infecciones bacterianas oculares incluyendo: conjuntivitis, queratitis, keratoconjuntivitis, úlceras de la córnea, blefaritis, blefaroconjuntivitis, meibomianitis agudo, y dacriocistitis, causadas por las siguientes clases susceptibles de microorganismos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter*

aerogenes, Escherichia coli, Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae, Neisseria gonorrhoeae, Pseudomonas aeruginosa, y Serratia marcescens.

Reacciones adversas: durante el tratamiento con preparado oftálmico de gentamicina se han desarrollado las úlceras de la córnea, bacterianas y fungicas.

Las reacciones adversas frecuentemente son quemadura oculares e irritación en la instilación de la droga de la conjuntivitis no específicas, defecto en epitelio conjuntival, e hiperemia conjuntival.

Otras reacciones adversas que raramente han ocurrido son reacciones alérgicas, trombocitopenia púrpura y alucinaciones.

Dosificación y Administración: Instile una o dos gotas del colirio (Gentamicina Sulfato 0.3%) en el ojo afectado cada cuatro horas. En infecciones severas la dosificación puede incrementarse a más de dos gotas por cada hora. ⁽⁸⁾

EDTA

Actúa como agente quelante, formando complejos metálicos de gran importancia especialmente en el campo farmacéutico, ya que la quelación es la coordinación de un metal con un ligando polidentado. El complejo así formado puede llevar a la precipitación del metal o la formación de un

compuesto soluble estable. Si el ligando forma un quelato metálico hidrosoluble estable, se dice que es un agente secuestrante. El secuestro es la suspensión de una propiedad o reacción de un metal sin la remoción de éste, del sistema o de la fase por ningún proceso de precipitación o extracción y se realiza habitualmente por quelación. ⁽⁹⁾

Otra de las propiedades que tiene el EDTA es la de potencializar agentes antimicrobianos, generalmente no es un bactericida poderoso frente a microorganismos Gram positivos, pero si tiene efecto frente a bacterias Gram negativas, especialmente contra *Pseudomonas aeruginosa*.

Entre los preservantes usados más frecuentemente y cuya actividad es potencializada por el EDTA se citan ⁽⁴⁾

PRESERVANTES	AGENTES PRESERVANTES
Catiónico	Cloruro de Benzalconio Digluconato de Clorhexidina
Aniónico	Ácido Sórbico Sorbato de Potasio Parabenos

CLORURO DE SODIO

Actúa como agente osmótico, quien tiene la finalidad de que los colirios sean isotónicos con el líquido lagrimal. De manera que una solución isotónica de cloruro de sodio puede ser inoculada sin afectar la presión osmótica del líquido lagrimal y sin causar una disminución apreciable en su composición química.

Por lo tanto las soluciones isotónicas hacen a los colirios menos irritantes, suprimiendo la sensación de quemadura causadas por soluciones hipotónicas e hipertónicas. ⁽⁹⁾

METIL Y PROPIL PARABEN

Los ésteres del ácido parahidroxibenzoico mejor conocido como parabenos, fueron admitidos para usarse ampliamente en la industria farmacéutica; de todos los preservantes, éstos han sido los más estudiados y los que tienen mayor aplicación farmacéutica e industrial.

Estos agentes preservantes tienen la característica de ser estables en la mayor parte de sistemas farmacéuticos y pueden hidrolizarse solamente bajo condiciones drásticas; además son activos en un amplio rango de pH, presentando mayor actividad en soluciones ácidas que en soluciones neutras ó alcalinas.

Las investigaciones realizadas presentan que los parabenos, son efectivos contra microorganismos en soluciones ácidas o neutras que tienen un rango de pH entre 4 y 7.

La actividad de los parabenos resulta notablemente disminuida por macromoléculas como gelatina, metilcelulosa, polietilenglicol 4000, polivinil pirrolidona, Tween 80 y por coloides.

En cuanto a los materiales de envase no todos son inertes a los parabenos y es aconsejable hacer ensayos antes de su empleo. Se ha encontrado que el vidrio, el PVC, polietileno y polipropileno causan una reducida pérdida cuando se hallan en medios acuosos.

Estos preservantes, tienen la característica de ser efectivos contra bacterias y mohos a bajas concentraciones, ellos son incoloros, inodoros, tienen mínimos problemas en el sabor en las concentraciones usadas, no son irritantes parenteralmente y tienen baja toxicidad. Son estables, activos sobre un amplio rango de pH y temperatura, no volátiles y relativamente económicos. Varios autores establecen que los parabenos son los que más se aproximan al conservador ideal.

La actividad de los parabenos es mayor contra mohos, hongos y bacterias Gram positivas que frente a bacterias Gram negativas; pero son usados para prevenir o inhibir el crecimiento de estos microorganismos. En

estudios realizados concluyen que son más fungistáticos que fungicidas y sugieren el uso de combinaciones en soluciones acuosas. ⁽⁴⁾

Cuando se usa el éster metílico éste presenta particular efectividad contra bacterias aunque es menos efectivo contra hongos, pero a medida que incrementa la cadena química la actividad de los ésteres aumenta volviéndose tan eficaz para frenar el desarrollo de bacterias como de hongos. Sykes demostró que la concentración requerida del éster metílico, para la destrucción de bacterias en estado vegetativo es de 24 horas a una concentración de 0.15 - 0.20%, pero el éster propílico es efectivo frente a hongos en concentraciones de 0.012%.

Estos preservantes son los primeros bacteriostáticos que tienen efectos contra algunas bacterias Gram negativas, particularmente *Pseudomonas aeruginosa*. Riegelman establece que los ésteres no son considerados preservativos satisfactorios para preparados oftálmicos de dosis múltiple. ⁽⁴⁾

En la preparación de soluciones oftálmicas, se usa una mezcla de metil y propil parabén en una proporción de (2:1) correspondiente a 0.06—0.03% respectivamente. ⁽⁴⁾

El Codex de la Farmacopea Británica recomienda el uso de 0.0229% de metil éster, combinado con 0.011% de propil éster. Sin embargo a varios

investigadores les ha llamado la atención de que a estas concentraciones la efectividad contra *Pseudomonas aeruginosa* es tres veces menor y recomiendan el uso de 0.1% de metil parabén. Se ha encontrado que el uso de estos ésteres resulta ser irritante ocular, lo cual limita que sea un preservativo ideal en soluciones oftálmicas. ⁽⁴⁾

Hugo y Foster descartan la posibilidad de que una especie de *Pseudomonas aeruginosa* obtenida en infecciones de ojo humano crezca en soluciones de ésteres para hidroxibenzoato, Montgoney y Halsan no están de acuerdo con Hugo y Foster; y establecen que las concentraciones de 0.02% de metil y 0.01% de propil parabén son insuficientes.

Foster establece que a una concentración de 0.08% de ésteres para hidroxibenzoatos fue bacteriostático frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

Para producir una actividad bactericida es necesario tener una concentración total de 0.2% de parabenos, pero esta concentración es irritante en el ojo.

Se ha encontrado que las soluciones que contienen 0.15% de metil hidroxibenzoato y 0.05% de etil o propilhidroxibenzoato, permiten el crecimiento de varias especies gram negativas que son inoculadas excesivamente con agua y suelo. Una mezcla de etil, metil y

propilhidroxibenzoato al 0.1% de igual forma no destruye las *Pseudomonas sp.* , En varias concentraciones inoculadas.

En estudios realizados por otros investigadores, se ha encontrado que el tiempo necesario para esterilizar soluciones oftálmicas contaminadas con *Pseudomonas aeruginosa* a una concentración de 10^{-8} , depende de la concentración del preservativo antimicrobiano usado en soluciones oftálmicas. De manera que cuando se usó una concentración de 0.2% de metil y 0.04% de propilhidroxibenzoato el tiempo de esterilización fué de 3 horas; pero al usar una concentración de 0.18% de metil y 0.02% de propil hidroxibenzoato el tiempo de esterilización fué de 6 horas.

A estos agentes antimicrobianos no se les considera bacteriostáticos eficientes y su acción antimicrobiana es lenta. Además se les atribuye irritación y ardor en los ojos al usuario en preparados oftálmicos.

El uso continuo de estos preservativos en la mucosa, puede dar lugar a eczemas de contacto y sensibilización, por este motivo no es aconsejable su utilización para la conservación de colirios. ⁽⁴⁾

Foster y Anderson indican que los hidroxibenzoatos son ahora considerados insatisfactorios y no son muy recomendables como preservativos en soluciones oftálmicas. Brown y Norton en sus estudios encontraron que *Pseudomonas aeruginosa* tiene la capacidad de utilizar el P-hidroxibenzoato

como fuente de carbón, lo cual parece excluir el uso parecido como preservativo en soluciones oftálmicas.⁽⁴⁾

Estos agentes antimicrobianos por ser compuestos lipofílicos, tienen su sitio de acción probablemente en la membrana celular, sin descartar el efecto producido sobre el sistema enzimático que puede ser por acción competitiva.

Otros investigadores consideran que los derivados fenólicos son sustancias citotóxicas típicas que en concentraciones elevadas coagulan las proteínas celulares.⁽⁴⁾

HIDROXIPROPIL METIL CELULOSA

Éter metílico de hidroxipropilcelulosa disponible en grados de pureza que contienen 16.5 a 30.0% de grupos metoxi y 4 a 32% de grupos hidroxipropoxi, así como en viscosidades y temperaturas de gelificación térmica de las soluciones de concentración específica.

Descripción. Polvo blanco a blanquizco, fibroso o granular, que fluye libremente.

Solubilidad. Se hincha en agua y produce una mezcla coloidal clara a opalescente, viscosa; sufre transformación reversible de sol a gel al calentar y enfriar, respectivamente. Insoluble en alcohol anhidro, éter o cloroformo.

Usos. Es un coloide protector útil como agente dispersante y espesante, y en soluciones oftálmicas para proporcionar la acción demulcente y las

propiedades viscosas esenciales para el uso de lentes de contacto y en formulaciones de “lágrimas artificiales”.⁽¹⁰⁾

ÁCIDO BÓRICO

Ácido bórico (H_3BO_3); ácido borácico; ácido ortobórico

Ácido bórico H_3BO_3 peso molecular: 61.83 g / mol

Descripción. Escamas incoloras de apariencia algo perlado, o cristales, pero más un polvo blanco ligeramente untuoso al tacto; inodoro y estable al aire; se volatiliza por vapor.

Solubilidad. Un gramo en 18 mL de agua, 18 mL de alcohol, 4 mL de glicerina, 4 mL de agua hirviendo o 6 mL de alcohol hirviendo.

Usos. Es un buffer, y éste es el uso reconocido oficialmente. Es un *germicida* muy débil *antiinfeccioso local*. Sus propiedades no irritantes hacen que sus soluciones sean adecuadas para la aplicación en estructuras tan delicadas, como la córnea del ojo. Las soluciones acuosas se usan como colirio, colutorios y para irrigar la vejiga. Una solución al 2.2% es isotónica con el líquido lagrimal. Las soluciones de ácido bórico, aun cuando se hagan isotónicas, hemolizan los glóbulos rojos.⁽¹⁰⁾

BORAX (BORATO DE SODIO)

Descripción. Cristales transparentes, incoloros, o polvo blanco cristalino; inodoro; los cristales están frecuentemente recubiertos por polvo

blanco debido a la eflorescencia; la solución es alcalina al tornasol y la fenolftaleína; pH alrededor de 9.5.

Solubilidad. Un gramo en 16 mL de agua, 1 mL de glicerina, 1 mL de agua hirviente; insoluble en alcohol.

Usos. Es una necesidad farmacéutica, utilizado como agente alcalinizante y como buffer para soluciones alcalinas. Sus propiedades alcalinizantes proporcionan las bases para su uso en adhesivos para prótesis dentales y su acción buffer, las bases de su uso en formulaciones de colirios. ⁽¹⁰⁾

CLORURO DE BENZALCONIO

Descripción. Consiste en un gel espeso o en piezas gelatinosas blancas o de color blanco amarillento: tiene olor aromático y un sabor muy amargo; las soluciones son alcalinas frente al tornasol y forman mucha espuma cuando se les agita.

Solubilidad. Es muy soluble en agua y alcohol; 1 g de la forma anhidra se disuelve en aproximadamente 6 mL de benceno y unos 100 mL de éter.

Incompatibilidad. Como otros agentes catiónicos activos en la superficie el cloruro de benzalconio es incompatible con el jabón y otros agentes aniónicos. Los grandes iones orgánicos de los dos agentes tienen

carga opuesta y en concentración suficiente, pueden precipitar de la solución. El ácido nítrico y los nitratos, producen precipitación.

Usos. El cloruro de benzalconio es bacteriostático en bajas concentraciones y bactericida en concentraciones elevadas. Las bacterias grampositivas son más sensibles que las gramnegativas. De hecho, se sabe que algunas bacterias gramnegativas en especial *Pseudomonas cepacia*, crecen en las soluciones de esta droga y así producen epidemias de infecciones hospitalarias. *Mycobacterium tuberculosis* también es relativamente resistente. El antiséptico tiene una acción lenta: se requieren 7 minutos para que el recuento de bacterias sobre la piel disminuya en un simple 50%. mientras que se necesitan sólo 36 segundos con etanol al 70%: para lograr una reducción del 90% se requieren 25 minutos para el cloruro de benzalconio. en comparación con 2 minutos para el etanol al 70%. Algunas bacterias gramnegativas necesitan horas de exposición para ser destruidas.

El cloruro de benzalconio se aplica en la piel y las mucosas. También se lo utiliza ampliamente en soluciones oftálmicas de venta libre y como aplicaciones para lentes de contacto. El cloruro de benzalconio tiene una toxicidad sistémica relativamente baja, pero se han comunicado casos de envenenamiento después de la ingestión oral. Su empleo reiterado a veces causa dermatitis. Como otros agentes catiónicos activos en superficie tiene ciertas limitaciones. No destruye las esporas bacterianas, resulta ineficaz contra algunos virus, es inactivado por el jabón y otros agentes tensioactivos

aniónicos de superficie y cuando se lo aplica sobre la piel, muestra tendencia a formar una película debajo de la cual las bacterias se mantienen viables. Como la materia orgánica del tejido inactiva a la droga, ésta, tiene una eficacia limitada en la desinfección de las heridas. El cloruro de benzalconio es absorbido por distintas sustancias orgánicas y en consecuencia, la concentración en una solución esterilizante puede caer por debajo del nivel antibacteriano y la esterilización de los guantes quirúrgicos, las esponja y otros elementos de este tipo puede ser irregular. Es posible que esta droga cause irritación y daño de la epidermis y además puede producir alergias. En vista de la disponibilidad de antisépticos más confiables y de acción más rápida, existen pocos argumentos para recomendar su uso continuo.

Dosis. Como tópico, solución al 0.02-0.5%: en la conjuntiva, 0.1 mL de solución acuosa al 0.01%. ⁽¹⁰⁾

ALCOHOL POLIVINÍLICO

Descripción. Polvo o gránulos blancos a color crema; inodoro.

Solubilidad. Completamente soluble en agua; la solución se realiza con rapidez a temperaturas algo elevadas.

Usos. Es un agente de suspensión y un emulsionante, sea con la ayuda de un surfactante o sin ella. Se emplea por lo general como lubricante y protector en diferentes preparaciones oftálmicas, como descongestivos, lágrimas artificiales y en productos para lentes de contacto.

Incompatibilidad. Incompatible con la mayoría de las sales inorgánicas, sobre todo sulfatos y fosfatos. Los fosfatos causarán una precipitación del 5% al alcohol polivinílico en solución acuosa. ⁽¹⁰⁾

FOSFATO MONOBÁSICO DE SODIO – FOSFATO DIBÁSICO DE SODIO.

Fosfato monobásico de sodio:

Descripción. Cristales incoloros o blancos, polvo cristalino; inodoro y levemente delicuescente; las soluciones son ácidas con el tornasol y son efervescentes con el bicarbonato de sodio.

Solubilidad. Completamente soluble en agua; prácticamente insoluble en alcohol.

Fosfato dibásico de sodio:

Descripción. Sal granular incolora o blanca; eflorescente en aire seco y caliente; las soluciones son alcalinas frente al tornasol y la fenolftaleína (pH de alrededor de 9.5)

Solubilidad: Un gramo en 4 mL de agua; muy poco soluble en alcohol. ⁽⁹⁾

Vehículo de fosfatos isotónicos (solución reguladora) :

El sistema regulador de fosfatos ajustado para isotonicidad, proporciona un margen de pH de 5.9 a 8 Este vehículo requiere preparar dos soluciones, una conteniendo 8 g de fosfato monobásico de sodio por litro y

otra conteniendo 9.47 g de fosfato dibásico de sodio por litro: estos pesos están dados en base anhidra. (ver p. 50)Este vehículo es adecuado para muchos principios activos oftálmicos. ⁽²⁾

POLIETILENGLICOL 300

Se presenta como líquido viscoso transparente, incoloro o ligeramente amarillento, de olor débil pero característico, sabor amargo y ligeramente ardiente

Es soluble en alcohol, glicoles, acetona, glicerina y benceno, todos los polietilenglicoles son solubles en agua y miscibles en todas proporciones con los otros miembros de la serie, lo que permite obtener compuestos que cubren un amplio campo de viscosidad, consistencias y solubilidades.

Algunas de sus propiedades le hace altamente ventajoso y acredita sus múltiples usos en tecnología farmacéutica: hidrosolubilidad, poder disolvente, poder humectante, baja volatilidad, poder gelificante, consistencia variable, no sustenta crecimiento microbiológico. ⁽²⁾

6. FUNDAMENTOS TEÓRICOS DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS

6.1 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)

Esta técnica es conocida también como cromatografía líquida de alta resolución o cromatografía líquida moderna.

El éxito en la aplicación del CLAR para un compuesto dado depende de la combinación correcta de las condiciones de operación, es decir: el tipo de la columna, la fase móvil, la longitud y diámetro de la columna, la velocidad del flujo de la fase móvil, etc.

La migración diferencial en CLAR es resultado del equilibrio de distribución de los componentes de una mezcla entre la fase estacionaria y la fase móvil dichos componentes se separan en la columna y al salir de ésta son conducidos por la fase móvil y en el orden que emergieron, hacia un detector donde se registran sus concentraciones y sus tiempos de retención en la columna. El cromatograma resultante muestra cada compuesto que sale de la columna en forma de picos simétricos con un tiempo de retención, t_r , se mide desde el momento de la inyección de la muestra hasta el momento en que aparece el pico de interés en el cromatograma .

El mismo procedimiento se realiza para el estándar, luego se procede a determinar la cantidad de principio activo por muestra haciendo uso de la fórmula siguiente:

$$\text{Cantidad de Principio Activo(mg)} = \frac{\text{Cst} \cdot \text{Amx}}{\text{Ast} \cdot 1000} \cdot \text{FD}$$

Cst : Concentración del estándar en microgramos por mililitro

Amx : Área del pico de la muestra

Ast : Área del pico del estándar

FD : Factor de dilución

1000: Factor de conversión

6.2 MÉTODO POTENCIOMÉTRICO

Esta prueba se basa en la determinación de la actividad de iones hidrógeno, empleando un instrumento potenciométrico con sensibilidad para reproducir valores de pH de 0.05 unidades usando un electrodo indicador al ion hidrógeno como electrodo de vidrio y un electrodo de referencia apropiado, tal como el de calomel o el de cloruro de plata – plata.

El pH se define convencionalmente como el logaritmo negativo de la actividad del ion hidrógeno.

6.3 PRUEBA DE ESTERILIDAD DEL COLIRIO

Para realizar esta prueba se utiliza el “Método de Inoculación Directa” descrita en la Farmacopea de los Estados Unidos Americanos en su vigésima sexta revisión (USP XXVI), en la cual se emplean como medios de cultivo caldo caseína soya digestiva y caldo de tioglicolato con resazurina sódica como indicador.

El ensayo se aplica a las sustancias, preparaciones que, según la Farmacopea, deben ser estériles. Sin embargo, un resultado favorable solamente significa que no ha sido encontrado ningún microorganismo contaminante en la muestra examinada en las condiciones del ensayo. El grado de garantía que supone la ausencia de contaminantes en la muestra analizada es, respecto a la calidad del lote, función de la eficacia del plan de muestreo adoptado. La extensión de este resultado a todo un lote de producción requiere la certeza de que todas las unidades que lo componen se prepararon en condiciones homogéneas. Es evidente que esto depende de las precauciones tomadas en el transcurso de la fabricación. Para los productos sometidos a un proceso de esterilización en sus envases finales y sellados, la prueba física, con fundamento biológico y documentada automáticamente, que registra el desarrollo correcto del tratamiento de esterilización en la totalidad del lote, es de una fiabilidad superior a la del ensayo de esterilidad. Este último es, sin embargo, el único método analítico

adecuado para productos preparados en condiciones asépticas y, por otra parte, constituye en todos los casos el único método analítico

6.4 PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE PRESERVANTES

Los preservantes son agentes antimicrobianos no antibióticos que se adicionan principalmente a los preparados farmacéuticos multidosis para protegerlos de la contaminación. La prueba tiene como objeto demostrar la efectividad del sistema preservante del preparado farmacéutico.

MICROORGANISMOS DE PRUEBA.

<i>Candida albicans</i>	ATCC N _o . 10231
<i>Aspergillus níger</i>	ATCC N _o . 16404
<i>Escherichia coli</i>	ATCC N _o . 8739
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC N _o . 9027
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC N _o . 6538

A esta lista de microorganismos puede agregarse contaminantes comunes del producto o del ambiente de fabricación.

MEDIOS DE CULTIVO: agar soya tripticaseina, agar dextrosa sabouraud.

DILUYENTE: solución salina pectonada.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO.

Para bacterias: a partir de cultivos de 24 horas inocular cada cepa de prueba en botellas Roux que contengan agar soya tripticaseina, incubar a $32.5^{\circ} \pm 2.5^{\circ}$ de 18 a 24 horas.

Para hongos filamentosos y levaduras: a partir de cultivos recientes inocular cada cepa en botella Roux que contenga agar dextrosa sabouraud.

PROCEDIMIENTO:

La prueba se efectúa en 5 unidades o más del producto de acuerdo al número de cepas que se usen, transferir porciones de 20 mL del preparado farmacéutico a cada uno de cinco frascos estériles.

Inocular cada porción del producto con el volumen necesario de la suspensión ajustada para cada gramo o mililitro del producto contenga aproximadamente un millón de células. El volumen del inóculo no debe exceder al uno por ciento del producto a probar en peso o volumen. Mezclar el inóculo. Efectuar la cuenta control, inoculando frascos conteniendo 20 mL de solución salina pectonada estéril. Con el mismo volumen de la suspensión microbiana de prueba. Determinar la concentración microbiana, mediante el método de cuenta en placa utilizando como medio de cultivo agar soya tripticaseina.

DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE MICROORGANISMOS EN EL PREPARADO FARMACÉUTICO INOCULADO.

Una vez que cada frasco sea inoculado con el microorganismo de prueba, efectuar de inmediato la cuenta al tiempo cero aplicando el método de cuenta en placa. Los frascos inoculados se almacenan en la oscuridad a $22.5^{\circ} \pm 2.5^{\circ}$. Aplicar el mismo procedimiento que para el tiempo cero a los tiempos indicados a continuación: Para inyectables y oftálmicos alas 6,24y 48 horas y a los 7,14,21 y 28 días.

EVALUACIÓN.

Para oftálmicos de dosis múltiples: el sistema preservante es efectivo cuando en cada mililitro del preparado farmacéutico las bacterias inoculadas experimentan una reducción de 2 potencias después de 24 horas y 5 potencias después de 7 días. En el caso de los hongos cada mililitro debe experimentar una reducción de 2 potencias después de 14 días y no aumentar al término del ensayo.

6.5 POTENCIA MICROBIOLÓGICA DE ANTIBIÓTICOS.

Realizar la difusión del antibiótico contenido en un cilindro vertical o disco de papel filtro, a través de una capa de agar solidificado en una caja petri o placa, en una extensión tal, que el crecimiento de microorganismo

agregado se detenga en un área circular o “zona” alrededor del cilindro que contiene la solución del antibiótico. ⁽¹⁾

Este procedimiento se efectúa de la siguiente manera: se mide un equivalente del antibiótico para hacer diluciones hasta obtener una concentración final que determina la monografía de la sustancia a analizar, para las diluciones se usan soluciones reguladoras que determina la monografía, además se prepara una serie de 5 estándares que van en una concentración creciente, usualmente con el factor de dilución de 1.25 obteniéndose una tabla en el que el estándar intermedio coincida con la concentración del antibiótico en estudio, y obtener una curva patrón.

Se utiliza un microorganismo de prueba y a partir de este se prepara el inóculo a una transmitancia de 25% y a una longitud de onda de 580 nm, se utilizan 15 placas con el medio base y el inóculo, posteriormente se colocan 6 cilindros en cada placa (tres placas para cada dilución), intercalando en cada una las disoluciones de los estándares con el estándar intermedio, en las tres placas restantes se coloca la dilución de la muestra y la del estándar intermedio, las placas se incuban a la temperatura y tiempo especificados por la monografía, al final del tiempo se hacen las lecturas de los halos de inhibición y se procede a determinar la cantidad de antibiótico por muestra analizada haciendo uso de una curva de calibración (mcg/ml X mm de halos de inhibición) y se expresa el resultado en miligramos o unidades internacionales. ⁽¹⁾

6.6 PRUEBA DE IRRITABILIDAD OCULAR

Tiene por objeto evaluar a los colirios normalizados demostrar que no presentan algún grado de irritabilidad en el ojo al ser aplicados.

Se eligen conejos adultos, sanos y de una especie adecuada que no presenten defectos y sin irritación ocular. Se instila 0.1 mL de colirio, sujetando con suavidad pero firmemente al conejo hasta que permanezca quieto. Separar cuidadosamente el párpado inferior, hacia a fuera del globo ocular a manera de formar un recipiente en donde se instila la muestra. Mantener el párpado cerrado durante 30 segundos. La prueba se considera satisfactoria si durante el periodo de observación la muestra aplicada no causa irritación ocular significativa. ⁽¹⁾

6.7 PRUEBA DE OSMOLARIDAD

La osmolaridad es una expresión de la concentración total de partículas disueltas en una solución, sin considerar el tamaño de la partícula, la densidad, la configuración o carga eléctrica. Los medios indirectos para la medición de la osmolaridad son permitidos porque la adición de partículas de soluto a un solvente, cambia su energía libre en las moléculas del solvente. Esto produce una modificación de las propiedades del solvente, por ejemplo: presión de vapor, punto de congelación, y punto de ebullición. Comparando con el solvente puro, la presión de vapor, y el punto de congelación, de una solución son bajos cuando el punto de ebullición es

elevado, de tal manera que el solvente solo se comporta generalmente de manera más compleja.

Las propiedades químicas de las soluciones dependen de la naturaleza del soluto y de la del solvente y, hasta cierto punto de sus concentraciones, La solubilidad de un soluto en un solvente, depende también de la naturaleza del soluto y el solvente. Sin embargo, algunas propiedades de las soluciones dependen ya no tanto de la naturaleza del soluto y el solvente como de la concentración de las partículas del soluto, sea cual fuera su tipo. A estas propiedades se les llama coligativas y son cuatro: reducción de presión de vapor, incremento del punto de ebullición, disminución del punto de congelación y creación de una presión osmótica.

La medición de la concentración total de una solución o la osmolaridad, puede ser hecha solamente por una comparación de la propiedades coligativas de una solución con la correspondiente propiedad esencial del solvente puro. Los primeros instrumentos de laboratorio desarrollados para la medición rutinaria de osmolaridad eran basados en la depresión del punto de congelación y hasta los recientes años, todos los osmómetros eran basados en esta metodología.

La nueva tecnología se basa en una medida de depresión de vapor, hecha posible por el higrómetro de una termocupla. El método de presión de vapor tiene ventaja intrínseca significativa sobre la medición de depresión del

punto de congelación o elevación del punto de ebullición ya que se puede realizar sin la necesidad de un cambio en el estado físico de la sustancia. Para la medición es necesario 10 microlitros de la solución a ser probada, esta es pipeteada hacia un pequeño disco de papel whatman #1 que se inserta en una cámara de muestra y se cierra. Un higrómetro de la termocupla está integralmente incorporado dentro de la cámara. Este verificador de temperatura opera sobre la base de una única energía termal que equilibra al principio para medir el punto de depresión de temperatura del rocío dentro de la cámara. Este parámetro encierra una propiedad coligativa de la solución, es una función explícita de la presión de vapor de una solución.

6.8 MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO (UV/VIS MÉTODO 1 SCAN/MAN)

La espectrofotometría de absorción consiste en la medida de la absorción, por las diferentes sustancias de una radiación electromagnética de longitud de onda situadas en una banda definida y estrecha esencialmente monocromática.

PROCEDIMIENTO:

Se enciende el equipo y se digita el número del método.

Se programa el equipo de acuerdo a los parámetros que se necesiten para realizar el análisis(longitud de onda máxima y mínima, corrección de blanco, cantidad de muestras a leer, escala, etc.)

Se corrige o mide el blanco de acuerdo al solvente que establezca la monografía, llenando las dos celdas del equipo con el solvente.

Se descarta el blanco de una celda y se llena con la muestra que se quiera medir.

Se activa el aparato y se espera que el valor de la medición aparezca en pantalla.

Se lavan las celdas con agua destilada y se apaga el equipo.

Se calcula la cantidad de principio activo por la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de Principio Activo(mg)} = \frac{\text{Cst} \times \text{Amx}}{\text{Ast} \times 1000} \text{ FD}$$

Cst: Concentración del estándar en microgramos por mililitro.

Amx: Absorbancia de la muestra.

Ast: Absorbancia del estándar.

FD: Factor de dilución.

1000: Factor de conversión

6.9 ESTABILIDAD ACELERADA

La validez e idoneidad de un preparado es consecuencia de su estabilidad y de los productos de degradación que se formen en su seno, los que además de ser inactivos desde el punto de vista clínico, pueden llegar a ser perjudiciales para la salud de las personas.

Las pruebas de estabilidad aceleradas son aceptadas para obtener datos de una expiración tentativa de un producto, proporcionando la información de la estabilidad de la sustancia activa.

Las condiciones recomendadas por la FDA (Food & Drug Administration) y Norma Salvadoreña de Estabilidad (año 2000), para una prueba de estabilidad acelerada son: $40^{\circ} \pm 2$ y 75 % de humedad relativa (HR) para sustancias sólidas.⁽¹³⁾

La sustancia debe analizarse inicialmente a las condiciones ambientales luego someterla a la prueba acelerada de 1, 2 y 3 meses bajo los parámetros de $40^{\circ} \pm 2$ y 75% de humedad relativa (HR)., realizándoles sus análisis (potencia del principio activo, propiedades organolépticas, etc.) respectivamente por cada mes. Si al final de los 3 meses el resultado es satisfactorio se establece un tiempo de expiración tentativo de 24 meses para que la sustancia pueda ser degradada.⁽¹³⁾

CAPITULO II
PARTE EXPERIMENTAL

PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo está encaminado a aplicar controles de calidad a prefórmulas de colirios; de Cloranfenicol, Antazolina - Nafazolina, Timolol y Gentamicina con el objeto de encontrar fórmulas adecuadas que cumplan los parámetros de calidad establecidos tales como; estabilidad acelerada, microbiológico, fisicoquímicos y biológicos .

1. METODOLOGÍA

1.1 MATERIAL Y EQUIPO, REACTIVOS (ver anexo No. 12)

1.2 DESARROLLO DE LA FORMULACIÓN

Este proceso comprende la correcta selección del vehículo que favorezca la distribución de la droga, coadyuvantes, aplicación y permanencia en el ojo. Es importante en este proceso el estudio de ciertos parámetros como son: importancia y ajuste de pH, agente como: bufferizante, isotonzante, viscosante y preservante; que contribuyan a la correcta formulación deseada que cumpla los requisitos básicos siguientes: que sea químicamente estable, que tenga óptima actividad terapéutica, que no sea irritante, que sea clara y transparente, que no contenga microorganismos y que se mantenga de esa manera por tiempo razonable. La formulación tiene su base en la investigación bibliográfica, permite seleccionar adecuadamente los componentes que sirvan y

aprovechen en los ensayos. A continuación se presentan las diferentes fórmulas que fueron elaboradas y evaluadas en este trabajo de investigación.

PREFORMULACIÓN

CUADRO N^o1 CLORANFENICOL

MATERIA PRIMA	ENSAYO	ENSAYO	ENSAYO	ENSAYO
	(1-A)	(2-A)	(3-A)	(1-B)
	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/ 100 MI
CLORANFENICOL BASE	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
METILPARABEN	0.0300	0.0300	0.0300	
PROPILPARABEN	0.0100	0.0100	0.0100	
CLORURO DE BENZALCONIO				0.0100
EDTA	0.0300	0.0300	0.0300	0.0300
ÁC. BORICO	1.1000	1.1000	1.1000	1.1000
BORAX	0.2660	0.2660	0.2660	0.2660
CLORURO DE SODIO	0.4800	0.3100	0.2900	0.2900
POLIETILENGLICOL 300	0.3000	0.3000	0.3000	0.3000
AGUA ESTERIL c.s.p	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000
pH	7.34	7.40	7.40	

OSMOLARIDAD				
(mOsmol / Litro)	473	336	293	

Este cuadro presenta dos fórmulas (A Y B), la formula A en tres diferentes ensayos denota que la variante es la cantidad de cloruro de sodio hasta obtener la cantidad que hace al colirio isotónico con el líquido lagrimal siendo el ensayo 3-A.

La fórmula B precipita con la incorporación de cloruro de benzalconio.

CUADRO N^o 2 ANTAZOLINA – NAFAZOLINA

MATERIA PRIMA	ENSAYO	ENSAYO	ENSAYO	ENSAYO
	(1-A)	(2-A)	(1-B)	(2-B)
	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/ 100 mL
ANTAZOLINA FOSFATO	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
NAFAZOLINA				
CLORHIDRATO	0.0500	0.0500	0.0500	0.0500
POLIETILENGLICOL 300	0.5000	0.5000	0.5000	0.5000
CLORURO DE SODIO	1.3200	0.8000	0.3000	0.8600
ALCOHOL POLIVINILICO	1.4000	1.4000		
HIDROXIPROPILMETIL- CELULOSA			0.2500	0.2500
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100	0.0100	0.0100	0.0100
EDTA	0.0300	0.0300	0.0300	0.0300
AGUA ESTERIL c.s.p	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000
pH	5.95	5.68	6.08	5.83
OSMOLARIDAD				
(mOsmol / Litro)	140	296.5	134	298

Estas soluciones fueron formuladas con dos diferentes agentes humectantes: alcohol polivinilico e hidroxipropilmetil celulosa obteniendo resultados satisfactorios de osmolaridad al ajustar las cantidades de cloruro de sodio para los ensayos 2 – A y 2 – B.

CUADRO N^o 3 TIMOLOL MALEATO

MATERIA PRIMA	ENSAYO	ENSAYO	ENSAYO
	(1-A)	(2-A)	(1-B)
	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/ 100 mL
TIMOLOL MALEATO	0.6800	0.6800	0.6800
SODIO FOSFATO MONOBÁSICO	0.3200	0.3200	0.3200
SODIO FOSFATO DIBÁSICO	0.5682	0.5682	0.5682
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100	0.0100	0.0100
CLORURO DE SODIO	0.3300	0.400	0.4100
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA			0.2500
AGUA ESTERIL c.s.p	100.0000	100.0000	100.0000
pH	7.03	6.99	6.95
OSMOLARIDAD (mOsmol / Litro)	282.3	290.3	299.5

Los ensayos 2 –A y 1 – B, presentan osmolaridades que cumplen con las osmolaridades de la lagrima humana (290 – 310 mOsmol / Litro), el ensayo 1 – B, posee hidroximetilcelulosa como agente humectante con el fin de evitar la irritabilidad en el ojo.

CUADRO N^o 4 GENTAMICINA SULFATO

	ENSAYO (1-A)	ENSAYO (2-A)	ENSAYO (3-A)	ENSAYO (1-B)	ENSAYO (2-B)
MATERIA PRIMA	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/ 100 mL	g/100 mL	g/100 mL
GENTAMICINA SULFATO	0.4637	0.4637	0.4637	0.4637	0.4637
ALCOHOL POLIVINILICO	1.4000	1.4000	1.4000	1.4000	1.4000
HIDROXIPROPILMETIL- CELULOSA				0.2500	0.2500
COLORURO DE BENZALCONIO	0.0100	0.0100	0.0100	0.0100	0.0100
EDTA	0.0300	0.0300	0.0300	0.0300	0.0300
SODIO FOSFATO MONOBÁSICO	0.3200	0.3200	0.3200	0.3200	0.3200
SODIO FOSFATO DIBÁSICO	0.5682	0.5682	0.5682	0.5682	0.5682
COLORURO DE SODIO	0.1300	0.3400	0.5000	0.3400	0.5300
AGUA ESTERIL c.s.p	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000	100.0000
pH	7.32	7.36	7.33	7.33	7.00

OSMOLARIDAD (mOsmol / Litro)	175.5	253	300	242.3	298
---	--------------	------------	------------	--------------	------------

El ensayo 3 – A y el 2 – B, presentan la osmolaridad deseada a la del líquido lagrimal, ambos ensayos con un aproximado de 0.5% de cloruro de sodio

COLIRIOS NORMALIZADOS

Se tomó de base para esta normalización los valores de osmolaridad que están en el rango de la osmolaridad del líquido lagrimal.

CLORANFENICOL

COLIRIO 3-A	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
CLORANFENICOL BASE	0.5000
METILPARABEN	0.0300
PROPILPARABEN	0.0100
EDTA	0.0300
ÁC. BORICO	1.1000
BORAX	0.2660
CLORURO DE SODIO	0.2900
POLIETILENGLICOL 300	0.3000
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000
Osmolaridad (mOsmol / L)	293

ANTAZOLINA – NAFAZOLINA

COLIRIO 2-A	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
ANTAZOLINA FOSFATO	0.5000
NAFAZOLINA CLORHIDRATO	0.0500
POLIETILENGLICOL 300	0.5000
CLORURO DE SODIO	0.8000
ALCOHOL POLIVINILICO	1.4000
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100
EDTA	0.0300
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000
Osmolaridad (mOsmol / L)	307

COLIRIO 2-B	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
ANTAZOLINA FOSFATO	0.5000
NAFAZOLINA CLORHIDRATO	0.0500
POLIETILENGLICOL 300	0.5000
CLORURO DE SODIO	0.8600
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA	0.2500
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100
EDTA	0.0300
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000

Osmolaridad (mOsmol / L)	303
--------------------------	-----

TIMOLOL MALEATO

COLIRIO 2-A	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
TIMOLOL MALEATO	0.6800
SODIO FOSFATO MONOBÁSICO	0.3200
SODIO FOSFATO DIBÁSICO	0.5682
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100
CLORURO DE SODIO	0.4000
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000

Osmolaridad (mOsmol / L)	290.3
--------------------------	-------

COLIRIO 1-B	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
TIMOLOL MALEATO	0.6800
SODIO FOSFATO MONOBÁSICO	0.3200
SODIO FOSFATO DIBÁSICO	0.5682
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100
CLORURO DE SODIO	0.4100
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA	0.2500
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000

Osmolaridad (mOsmol / L)	299.5
--------------------------	-------

GENTAMICINA SULFATO

COLIRIO 3-A	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
GENTAMICINA SULFATO	0.4637
ALCOHOL POLIVINILICO	1.4000
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100
EDTA	0.0300
SODIO FOSFATO MONOBÁSICO	0.3200
SODIO FOSFATO DIBÁSICO	0.5682
CLORURO DE SODIO	0.5000
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000

Osmolaridad (mOsmol / L)	300
--------------------------	-----

COLIRIO 2-B	
MATERIA PRIMA	CANTIDAD (g)
GENTAMICINA SULFATO	0.4637
HIDROXIPROPILMETILCELULOSA	0.2500
CLORURO DE BENZALCONIO	0.0100
EDTA	0.0300
SODIO FOSFATO MONOBÁSICO	0.3200
SODIO FOSFATO DIBÁSICO	0.5682
CLORURO DE SODIO	0.5300
AGUA ESTERIL c.s.p.	100.0000

Osmolaridad (mOsmol / L)	307.5
--------------------------	-------

2. PROCEDIMIENTO

2.1 TÉCNICA GENERAL DE ELABORACIÓN DE COLIRIOS

Una vez seleccionadas las fórmulas, la técnica de elaboración se realizó en ambiente estéril, en recipientes de acero inoxidable, se aplicaron todas las medidas de asepsia necesarias dentro del área, tales como: el uso de una prenda entera estéril con gorro, botas, mascarilla y guantes estériles. La técnica utilizada fue la simple disolución que se describe a continuación:

1. Se prepara el buffer adecuado con agua destilada, se mide el pH para comprobar si es el esperado, sino se ajusta el pH.
2. Se incorporan los demás componentes de la fórmula, con agitación constante hasta obtener una completa disolución.
3. En caso de las soluciones humectantes, primero se prepara el mucílago con ayuda de calor aproximadamente 50 °, utilizando agua destilada como vehículo, manteniendo con agitación constante hasta que el mucílago sea completamente homogéneo; el cual se deja humectar durante 12 horas ante de la elaboración para facilite la formación del mucílago, se esteriliza esta solución en autoclave a 120 ° por 20 minutos antes de ser usada.
4. Incorporar el mucílago a los demás componentes de la fórmula del numeral 2.
5. Realizar el control en proceso contra especificaciones de pH, si el producto no cumple con las especificaciones de pH proceder a ajustar.

6. Cuando el producto cumple con las especificaciones proceder a filtrar. Durante la filtración verificar el buen uso del equipo de filtración y que los filtros sean de 20 micrones.
7. Llenar en frascos estériles para colirio.

2.2 MARCHAS DE ANÁLISIS

SOLUCIÓN OFTÁLMICA DE CLORANFENICOL

Solución oftálmica de cloranfenicol, es una solución estéril, que contiene no menos que 90 por ciento y no más que 130 por ciento de la cantidad rotulada de cloranfenicol ($C_{11}H_{12}N_2O_5$)

IDENTIFICACIÓN: El tiempo de retención del pico mayor en el cromatograma de la preparación del ensayo corresponde al cromatograma de la preparación del estándar.

VALORACIÓN DE CLORANFENICOL

CLORANFENICOL ESTÁNDAR RS, USP: No secar antes de usar, mantener en un contenedor ajustado, protegido de la luz.

FASE MOVIL: Prepare una mezcla filtrada de agua, metanol y ácido acético glacial (55:45:01)

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR: Pesar una cantidad de cloranfenicol USP como estándar de referencia, disolver y diluir con fase móvil para obtener una solución que contenga una concentración cerca de 100 µg por mililitro, filtrar una porción de esta solución a través de un filtro con porosidad de 0.5 µm y use el filtrado claro como la preparación del estándar.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA: Transferir cuidadosamente medido un volumen de solución oftálmica, equivalente a unos 10 mg de cloranfenicol para un frasco volumétrico de 100 mL diluir con fase móvil a volumen y mezclar, filtrar y usar el filtrado claro como la preparación de la muestra obteniendo una concentración de 100 µg / mL

SISTEMA CROMATOGRÁFICO: El cromatógrafo líquido está equipado con un detector a 280 nm y una columna de 4.6 mm x 10 cm, C 18, el flujo de fase móvil es de 1.0 mL por minuto.

PROCEDIMIENTO: Separadamente inyectar volúmenes (cerca de 20 µL) de la preparación del estándar y la preparación de la muestra en el cromatógrafo, grabar el cromatograma y medir el área del pico correspondiente al cloranfenicol. ⁽¹²⁾

Calcular la cantidad en mg de cloranfenicol por cada mL de la solución oftálmica tomada, por la formula siguiente:

$$\text{Cantidad de Principio Activo(mg)} = \frac{\text{Cst. Amx}}{\text{Ast. 1000}} \cdot \text{FD}$$

Cst : Concentración del estándar en microgramos por mililitro

Amx : Área del pico de la muestra

Ast : Área del pico del estándar

FD: Factor de dilución

100: Factor de conversión

SOLUCIÓN OFTÁLMICA DE ANTAZOLINA FOSFATO-NAFAZOLINA CLORHIDRATO

La combinación de la antazolina fosfato con la nafazolina clorhidrato como solución oftálmica no aparece en la USP, por lo que a continuación se presentan las especificaciones de estos principios activos en forma individual.

ANTAZOLINA FOSFATO: Es una solución estéril, buffer que contiene no menos que el 90 por ciento y no más que el 115.0 por ciento de $C_{17}H_{19}N_3.H_3PO_4$.

NAFAZOLINA CLORHIDRATO SOLUCIÓN OFTÁLMICA: es una solución estéril, buffer de nafazolina clorhidrato en agua ajustado a una adecuada tonicidad. Que contiene no menos que el 90.0 por ciento y no más que el 115.0 por ciento de la cantidad rotulada de $C_{14}H_{14}N_2.HCl$. Que contiene un adecuado preservante.

ANTAZOLINA FOSFATO (METODO ADAPTADO DE SALES ORGANICAS DE BASES NITROGENADAS)

IDENTIFICACIÓN: El espectro de absorción ultravioleta de la preparación del ensayo corresponde al espectro de absorción de la preparación del estándar.

ANTAZOLINA FOSFATO ESTÁNDAR RS, USP: Antes de usar secar una porción a 105° por tres horas mantener en un contenedor ajustado, protegido de la luz.

PREPARACIÓN DEL PATRÓN

1. Secar previamente por 3 horas a 105° .
2. Pesar con exactitud 25 mg de antazolina fosfato RS USP.
3. Disolver y llevar a volumen de 50 mL con ácido sulfúrico 0.5 N
4. Tomar 2 mL de esa solución.
5. Transferir a frasco volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con ácido sulfúrico 0.5 N obteniendo una concentración de $10 \mu\text{g} / \text{mL}$

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Medir exactamente un volumen de 5 mL de colirio equivalente a 25 mg de antazolina fosfato.

2. Transferir a un separador de 125 mL
3. Agregar 4 mL de ácido Sulfúrico 0.5 N.
4. Agregar 20 mL de éter agitar cuidadosamente.
5. Pasar la fase ácida a un separador de 125 mL
6. Agitar el éter con 2 volúmenes por 2 mL de ácido Sulfúrico 0.5 N.
7. Pasar los extractos ácidos al embudo de 125 mL y descartar el éter.
8. A los extractos ácidos agregar 5 mL de hidróxido de sodio 1.0 N.
9. Agregar 50 mL de éter y agitar vigorosamente, pero con cuidado.
10. Transferir la fase acuosa a un segundo separador de 125 mL conteniendo 50 mL de éter.
11. Agitar este separador y pasar la fase acuosa a un tercer separador.
12. El separador contiene 50 mL de éter, agitar nuevamente y descartar la fase acuosa.
13. Unir los extractos etéreos, y lavar con 3 porciones sucesivas de 20 mL de agua.
14. Descartar el agua y extraer con 2 volúmenes cada una de 20 mL de ácido sulfurico 0.5 N y finalmente una de 5 mL con el diluyente usado.
15. Combinar los extractos ácidos en un frasco volumétrico de 50.0 mL.
16. Diluir hasta la marca con el mismo ácido y homogenizar obteniendo una concentración de 500 µg / ml

PROCEDIMIENTO:

1. De la solución anterior medir 2 mL y colocar en un frasco volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con ácido sulfúrico 0.5N obteniendo una concentración de 10 µg / mL
2. Concomitantemente determine las absorbancias de la solución patrón y solución de la muestra.
3. Utilizar celdas de 1 cm y un detector de longitud de onda de máxima absorbancia de 242 nm.
4. Utilizar como blanco ácido sulfúrico 0.5 N.

Calculo: mg de antazolina fosfato = $C/V \times Au/As \times FD$.

C: Concentración del estándar (µg/mL)

V: Volumen tomado.

Au: Absorbancia de la muestra.

As: Absorbancia del estándar.

FD: Factor de dilución.

NAFAZOLINA CLORHIDRATO

IDENTIFICACIÓN: El tiempo de retención del pico mayor en el cromatograma de la preparación del ensayo corresponde al cromatograma de la preparación del estándar.

NAFAZOLINA CLORHIDRATO RS, USP: Antes de usar secar una porción a 105° por dos horas mantener en un contenedor ajustado, protegido de la luz.

VALORACIÓN

BUFFER FOSFATO: Disolver 3 g de fosfato de potasio monobásico en 900 mL de agua, agregar 3 mL de trietanolamina ajustar el pH hasta un valor de 3 ± 0.5 , diluir con agua para hacer 1000 mL, y mezclar.

FASE MÓVIL: Prepare una mezcla filtrada y desgasificada de buffer fosfato y acetonitrilo (80:20)

PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR: Pesar cuantitativamente 5 mg de nafazolina clorhidrato USP como estándar de referencia, y disolver con agua, el siguiente paso es diluir cuantitativamente con fase móvil para obtener una solución de concentración conocida de $5 \mu\text{g} / \text{mL}$

PREPARACIÓN DEL ENSAYO: Cuidadosamente medir un volumen de 10 mL de solución oftálmica equivalente a 5 mg nafazolina clorhidrato, transferir a un frasco volumétrico de 100 mL y diluir con fase móvil hasta la marca y mezclar para obtener una solución de concentración de $5 \mu\text{g} / \text{mL}$

SISTEMA CROMATOGRÁFICO: El cromatógrafo líquido está equipado con un detector a 285 nm y una columna de 4.6 mm x 15 cm, L 11, la temperatura de la columna se mantiene a 40⁰ y el flujo de retención cerca de 1.5 mL por minuto.

PROCEDIMIENTO: Separadamente inyectar volúmenes (cerca de 10 µL) de la preparación del estándar y la preparación de la muestra en el cromatógrafo, grabar el cromatograma y medir el área del pico correspondiente a nafazolina. ⁽¹²⁾

Calcular la cantidad en mg de C₁₄H₁₄N₂.HCl en cada mL de la solución oftálmica tomada, por la formula siguiente:

$$\text{Cantidad de Principio Activo (mg)} = \frac{\text{Cst} \cdot \text{Amx}}{\text{Ast} \cdot 1000} \cdot \text{FD}$$

Cst : Concentración del estándar en microgramos por mililitro

Amx : Área del pico de la muestra

Ast: Área del pico del estándar

FD: Factor de dilución

1000: Factor de conversión

SOLUCIÓN OFTÁLMICA DE TIMOLOL MALEATO

Solución oftálmica de timolol maleato, es una solución acuosa estéril de timolol maleato, que contiene una cantidad de $C_{13}H_{24}N_4O_3S \cdot C_4H_4O_4$ equivalente a no menos que 90 por ciento y no más del 110 por ciento de la cantidad rotulada de timolol ($C_{13}H_{24}N_4O_3S$)

IDENTIFICACIÓN: El tiempo de retención del pico mayor en el cromatograma de la preparación del ensayo corresponde al cromatograma de la preparación del estándar.

TIMOLOL MALEATO RS, USP: Secar en vacío a 100^0 hasta peso constante.

VALORACIÓN DE TIMOLOL MALEATO

BUFFER FOSFATO pH 2.8: Disolver 11.1 g de fosfato de sodio monobásico en 1000 mL de agua destilada, ajustar con ácido fosfórico a pH de 2.8 ± 0.05 , filtrar y degasificar.

DILUENTE: Prepare una mezcla de acetonitrilo y de buffer fosfato pH 2.8 (2:1)

FASE MÓVIL: Prepare una mezcla de buffer fosfato pH 2.8 y metanol (65:35)

PREPARACIÓN DEL ESTANDAR: Pesar cuidadosamente 34 mg de timolol maleato USP como estándar de referencia, transferir a un frasco volumétrico de 25 mL, disolver y diluir con agua hasta la marca de aforo y

mezclar, transferir 5 mL de esta solución stock a un frasco volumétrico de 50 mL, agregar 15 mL de diluyente, y diluir con agua hasta la marca y mezclar obteniendo una concentración de 136 µg / mL.

PREPARACIÓN DEL ENSAYO: Cuidadosamente medir un volumen de 2 mL de solución oftálmica equivalente a 10 mg de timolol, transferir a un frasco volumétrico de 100 mL y agregar 30 mL de diluyente, diluir con agua hasta la marca y mezclar para obtener una solución de concentración de 100 µg / mL

SISTEMA CROMATOGRÁFICO: El cromatógrafo líquido está equipado con un detector a 295 nm y una columna de 4.6 mm x 15 cm, C 18, la temperatura de la columna se mantiene a 40⁰ y el flujo de fase móvil es de 1.2 mL por minuto.

PROCEDIMIENTO: Separadamente inyectar volúmenes (cerca de 20 µL) de la preparación del estándar y la preparación de la muestra en el cromatógrafo, grabar el cromatograma y medir el área del pico correspondiente al timolol. ⁽¹²⁾

Calcular la cantidad en mg de timolol en cada mL de la solución oftálmica tomada, por la fórmula siguiente:

$$\text{Cantidad de Principio Activo (mg)} = \frac{\text{Cst} \cdot \text{Amx}}{\text{Ast} \cdot 1000} \cdot \text{FD}$$

Cst : Concentración del estándar en microgramos por mililitro

Amx : Área del pico de la muestra

Ast : Área del pico del estándar

FD : Factor de dilución

1000: Factor de conversión

SOLUCIÓN OFTÁLMICA DE GENTAMICINA SULFATO

Es una solución estéril, buffer de gentamicina sulfato con preservantes. Que contiene no menos que el 90.0 por ciento y no más del 135.0 por ciento de la cantidad rotulada de gentamicina.

GENTAMICINA SULFATO: VALORACION (POTENCIA) POR
MÉTODO MICROBIOLÓGICO: CILINDRO PLACA

IDENTIFICACIÓN: Disolver 10 mg de gentamicina sulfato en 1 mL de agua, agregar 5 mL de una solución de ácido sulfúrico al 40 %, calentar en baño maría por 100 minutos, enfriar y diluir a 25 mL con agua. La solución muestra una absorbancia máxima entre 240 y 330 nm.

Gentamicina sulfato RS, USP: Secar por 3 horas a vacío a 110⁰, a una presión diferencial no mayor de 5mm de mercurio.

CONDICIONES DE TRABAJO:

Medios de cultivo: Medio antibiótico No. 11

Medio antibiótico No. 1

Microorganismo de prueba: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Solventes: Solución 0.1 M de fosfato de potasio pH8

Solución 0.85% estéril de cloruro de sodio

PREPARACION DEL INÓCULO

Suspensión concentrada de *Staphylococcus aureus*.

Inocular un tubo con agar inclinado antibiótico No.1 e incubar por 18-24 horas a 32 - 35⁰. Lavar el crecimiento con 3 mL de solución estéril de cloruro de sodio 0.85% y transferir la suspensión a una botella Roux que contiene 250 mL de medio antibiótico No.1 Dispersar homogéneamente la suspensión e incubar por 24 horas a 32 – 35⁰. Agregar 50 mL de solución estéril de cloruro de sodio 0.85% y perlas de ebullición, lavar la superficie del medio cuidando de no romperla. Transferir la suspensión a un erlenmeyer estéril de 300 mL y guardar en refrigeración.

NOTA: La suspensión refrigerada permanece estable durante 1 semana.

SUSPENSIÓN DE TRABAJO

Estandarizar un espectrofotómetro a 100% de transmitancia y a una longitud de onda de 580 nm utilizando solución de cloruro de sodio 0.85%, posteriormente estandarizar el microorganismo de prueba a una transmitancia del 25%. Inocular 150 mL de medio antibiótico No. 1 con el microorganismo estandarizado, considerando que para cada 100 mL de medio de cultivo se añadirán 2 mL del medio estandarizado (2%)

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MUESTRA

Mezclar el contenido de 10 frascos en un frasco estéril. Tomar 19.6 mL y transferir a un frasco volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con solución buffer pH 8. Mezclar. Transferir 10.0 mL a un frasco volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con el mismo solvente. Mezclar. De esta solución transferir 10.0 mL a un frasco volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con el mismo solvente. Ver Pág.133

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTANDAR STOCK

Pesar exactamente cerca de 150 mg del estándar de Gentamicina Sulfato que previamente han sido secados a 110° por 3 horas y a una presión de 5 mm de Hg o menos. Colocarlos en un frasco volumétrico de 100 mL, disolver y diluir con solución buffer pH 8. Mezclar. De esta solución transferir 10.0 mL a un frasco volumétrico de 100 mL, diluir a volumen con el mismo solvente y mezclar obteniendo una concentración de 150 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Ver Pág.133

PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES ESTANDAR

De la solución estándar stock (concentración 150 µg / mL) tomar 6.4, 8.0, 10.0, 12.5 y 15.6 mL, transferirlos a frascos volumétricos de 100 mL, diluir a volumen con solución buffer pH 8.0. Designar cada solución como S₁, S₂, (S₃ o concentración óptima) S₄ y S₅. Se obtienen concentraciones cercanas a 6.4, 8.0, 10.0, 12.5 y 15.6 µg/mL. Ver Pág.133

PREPARACIÓN DE LAS PLACAS

Agregar a cada una de 15 placas de petri 21 mL de medio antibiótico No. 11 fundido y termostatzado a $45 \pm 1^{\circ}$. Dejar solidificar. Agregar 4 mL del medio estandarizado al 2% (inóculo), inclinar y rotar las cajas para extenderlo sobre la superficie y dejar endurecer. Hacer 5 series de 3 placas; marcar el fondo de cada placa con S₁-S₃ hasta M-S₃. Colocar los cilindros en forma radial, 6 por caja sobre los puntos rotulados. Llenar los cilindros con 0.2 mL de las soluciones estándar y muestra alternando con la solución óptima del estándar (S₃). Hacer lo mismo con la solución muestra siempre alternando con S₃. Dejar que el antibiótico difunda a temperatura ambiente durante 1 hora como mínimo. Incubar las placas a 37° por 24 horas.

PREPARACIÓN DE LAS PLACAS CONTROL

Agregar 21 mL del medio antibiótico No. 11 fundido y termostatzado a $45 \pm 1^{\circ}$ a 6 placas de petri. Rotular las primeras 3 como control (-). A las 3

placas restantes agregarles 4 mL del inóculo, rotular las placas como control (+). Incubar las placas a 37° por 24 horas.

PROCEDIMIENTO

Después del periodo de incubación retirar los cilindros . Se obtienen 36 zonas de inhibición para la dilución óptima del estándar (S_3), 9 zonas de inhibición para cada dilución estándar, y 9 zonas para la solución muestra.

PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Medir las zonas de inhibición con un vernier, promediar los diámetros de las 9 zonas de inhibición correspondientes a cada una de las soluciones de trabajo, obteniéndose X_a , X_b , X_d y X_c , y los diámetros de las 9 zonas de inhibición de la solución de referencia correspondiente obteniéndose X_{ra} , X_{rb} , X_{rd} y X_{rc} . Promediar los 36 diámetros de las zonas de inhibición de la solución óptima (S_3) obteniéndose X_R . Este valor se considera como el diámetro correcto y por lo tanto se usa para corregir los otros diámetros.

VALORACIÓN DE LA POTENCIA DE LA MUESTRA

Después del período de incubación se obtienen 9 zonas de inhibición para la muestra y 9 para la solución óptima (S_3). Medir las zonas con un vernier de igual forma que para la preparación de la curva de calibración. Promediar cada serie. Se obtienen X_M y X_{rM} .

CALCULOS

Calcular la potencia con los datos obtenidos, utilizando una transformación logarítmica, método de línea recta por un procedimiento adecuado de mínimos cuadrados y una prueba de linealidad.

2.3 DETERMINACIÓN DE pH

1. Se enjuagan los electrodos con agua libre de CO₂.
2. Se ambienta el electrodo con solución amortiguadora; pH 4
3. Se llena un vaso de precipitado de 100 mL con la solución amortiguadora pH 4.
4. Se introduce el electrodo en la solución hasta que el bulbo esté sumergido y libre de burbujas de aire.
5. Se lee el pH y se ajusta a pH 4, si es necesario.
6. Se enjuaga el electrodo con agua destilada y se seca.
7. Se elige el amortiguador de pH 7 y se repite el proceso igual como el del pH 4.
8. Ya estandarizado el pHmetro, se procede a la lectura de los datos de los colirios en estudio directamente.

2.4 ESTERILIDAD DEL COLIRIO

Esta prueba se realiza en 24 tubos con tapón de rosca de la siguiente manera:

Se transfiere asépticamente 1.0 mL de colirio a 10 tubos con tapón de rosca que contiene 9.0 mL de caldo caseína soya digestiva estéril, luego se agita suavemente para obtener una completa homogenización.

Transferir asépticamente 1.0 mL de colirio a 10 tubos con tapón de rosca que contienen 9.0 mL de caldo de tioglicolato con indicador, se agita suavemente hasta obtener una completa homogenización.

PREPARACIÓN DE LOS CONTROLES POSITIVOS Y NEGATIVOS

Los controles positivos están constituidos por dos tubos uno -con caldo caseína soya digestiva y otro con 9.0 mL de caldo tioglicolato con indicador, los cuales son inoculados con 1.0 mL de una suspensión estandarizada de *Pseudomonas aeruginosa* que contiene una concentración de 10⁶ unidades formadoras de colonias por mL

Los controles negativos están constituidos por dos tubos uno con 9.0 mL de caldo caseína soya digestiva y otro con 9.0 mL de caldo tioglicolato con indicador, ambos sin adicionarles muestras de colirios.

PROCESO DE INCUBACIÓN

Después de la preparación de muestra, control positivo y control negativo, se procede a incubar los tubos a diferentes temperaturas de acuerdo a el medio de cultivo usado. Los tubos que contienen caldo de tioglicolato se incuban a una temperatura de 30 a 35 ° y los de caseína soya digestiva a una temperatura de 20 a 25 ° los cuales se observan periódicamente a los 3, 4, 5, 7, 8, 14 días de incubación, para visualizar cualquier cambio físico (turbidez, cambio de color, precipitación.)

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Muestra: Los tubos que contienen a la muestra en caldo caseína soya digestiva y en caldo tioglicolato con indicador no se debe observar ningún cambio físico, lo cual demuestra que el producto cumple con la prueba de esterilidad.

En caso contrario se repite la prueba, para comprobar si el producto es el contaminado o si el crecimiento que se observa es por una inadecuada técnica durante el proceso del análisis.

Control positivo: se debe observar una turbidez uniforme, la cual demuestra crecimiento de la bacteria.

Control negativo: no se debe observar indicio de turbidez o cualquier cambio físico en ningún tubo durante todo el periodo de observación.

2.5 EFECTIVIDAD DE PRESERVANTES

PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN BACTERIANA

1. Se siembra el microorganismo de prueba *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027 en tubos inclinados de agar caseína soya digestiva, los cuales se incuban de 30 a 35⁰ por 18 a 24 horas.
2. Se recolecta el crecimiento de la bacteria con 2 mL de solución salina TS (0.85%) estéril y con la ayuda de perlas de ebullición.
3. La suspensión bacteriana recolectada se vierte sobre una botella Roux que contiene 250 mL de caseína soya digestiva, la cual se distribuye uniformemente, se incuba a una temperatura de 30 a 35⁰ por 18 a 24 horas.
4. El crecimiento bacteriano obtenido en la botella Roux se recolecta con 10 mL de solución salina TS (0.85%) estéril y se traslada a un frasco estéril.
5. Se estandariza la suspensión bacteriana con solución salina (0.85%) estéril, efectuando diluciones hasta obtener una turbidez de 25% de transmitancia, a una longitud de onda de 580 nanómetros.
6. De la solución estandarizada se efectúan una serie de diluciones (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1000000, etc.) hasta obtener aproximadamente 10^8 cfu / mL, para la

cual se transfiere 1 mL de la suspensión estandarizada a un tubo que contiene 9 mL de solución salina (0.85%) estéril obteniendo 1:10, se agita suavemente y se transfiere 1 mL de la solución anterior a un tubo que contiene 9 mL de solución salina (0.85%) estéril, agitando suavemente para obtener una dilución 1:100 y de esta forma se continua la dilución hasta que se obtiene la concentración de 10^8

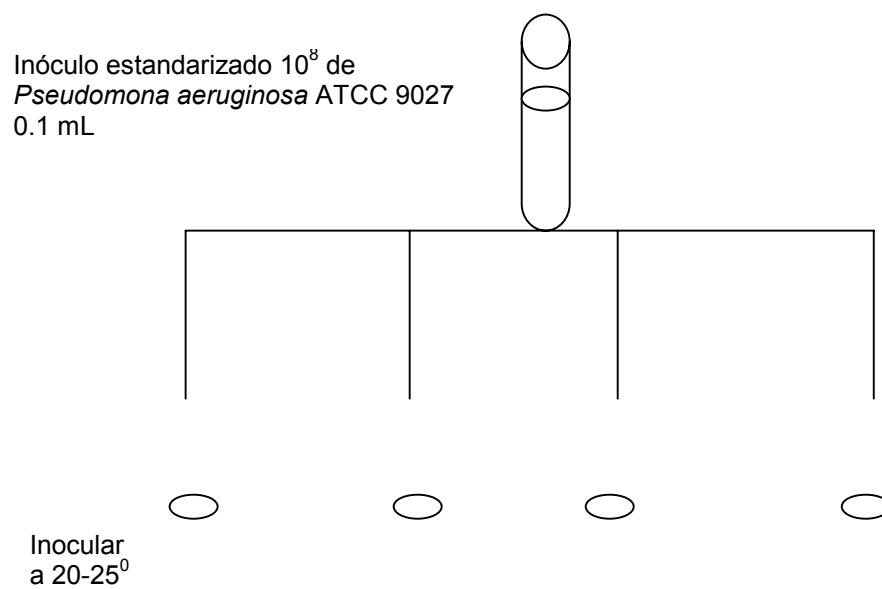
PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE PRESERVANTE

1. Transferir asépticamente 20 mL del colirio con una jeringa estéril a un tubo con tapón de rosca estéril, luego se inocula con 0.1 mL de la suspensión bacteriana estandarizada de 10^8 , se agita en un vortex para homogenizar completamente.
2. Preparación del control positivo: 20 mL de caldo caseína soya digestiva más 0.1 mL de suspensión estandarizada de *Pseudomona aeruginosa* cuya concentración es de 10^8 bacterias por mL
3. Preparación de control negativo: 20 mL de caldo caseína soya digestiva o un tubo con 20 mL de colirio.
4. Conteo total de bacterias viables: se efectúa a cada una de las preparaciones ya sea a los tubos de prueba del preservante y a los controles positivos y negativos. Se transfiere con pipeta estéril 1 mL de cada uno de los tubos de preparación a una placa estéril, a la que se le agrega de 10 a 20 mL de agar caseína soya digestiva rotando

suavemente hasta homogenizar, luego incubar a una temperatura de 30 a 35⁰ por 24 a 48 horas.

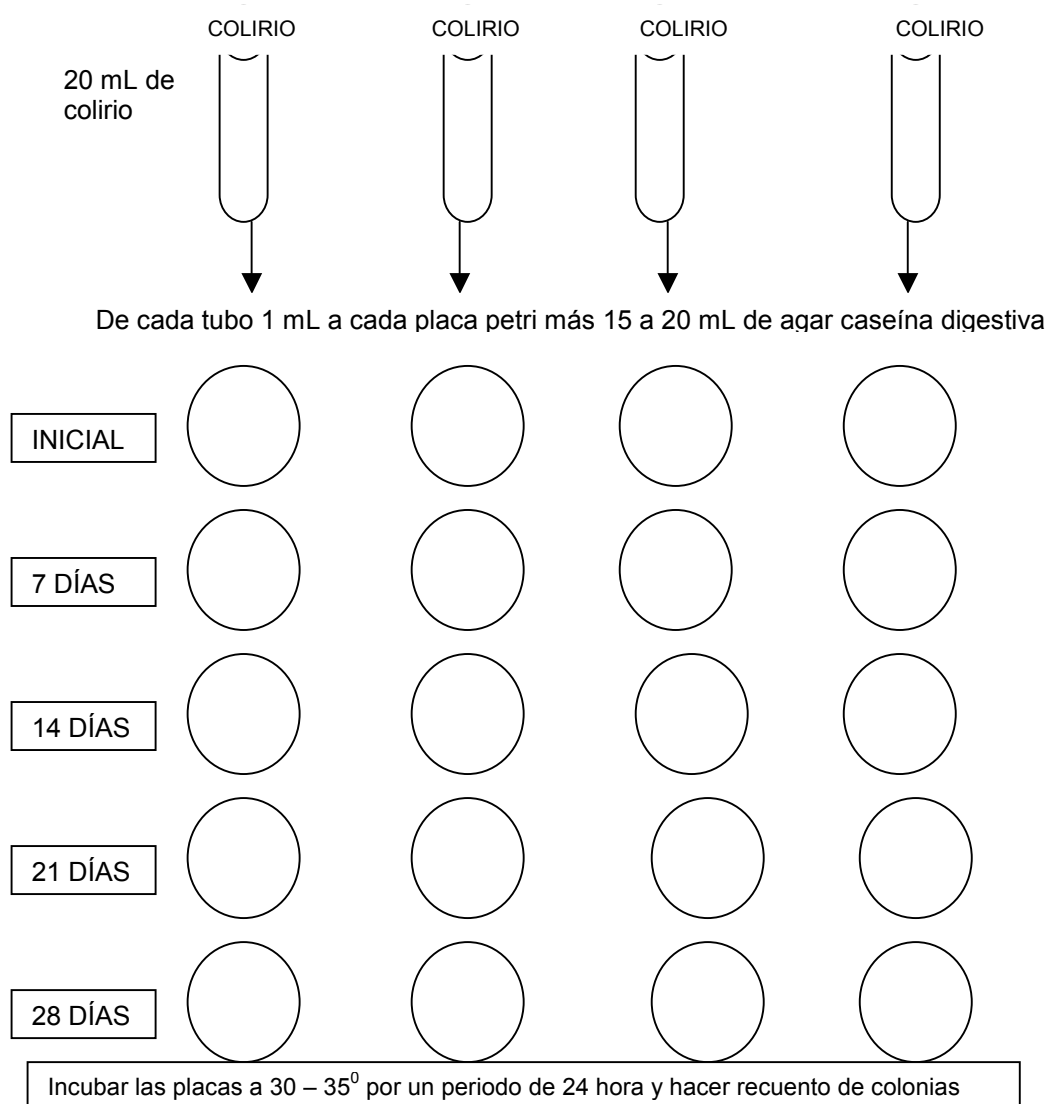
5. Los tubos inoculados se incuban a una temperatura de 20 a 25⁰ por un periodo de 28 días, anotando cualquier cambio que se observe en su apariencia física, durante el tiempo de incubación se determina periódicamente el número de microorganismos por el método placa vertida a los 7, 14, 21 y 28 días.
6. Evaluación de resultados: el preservante es efectivo en el colirio si la concentración de bacterias viables es reducida a no más de 0.1% de la concentración inicial hasta el 14 día. La concentración de hongos y levaduras permanece a la misma concentración o a una concentración menor durante los primeros 14 días. La concentración de cada uno de los microorganismos permanece al mismo nivel durante el resto del periodo de prueba 28 días.

ESQUEMA PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE PRESERVANTE



2.6 DETERMINACIÓN DE LA IRRITABILIDAD OCULAR

Los conejos se inmovilizan para aplicar de dos a tres gotas del producto en estudio sobre el ojo derecho de cada conejo y sobre el ojo



izquierdo se aplica solución salina normal (0.9%) estéril en la misma proporción que el producto. Se observa si el colirio causa irritación (enrojecimiento, lagrimeo o inflamación) a los 5 minutos, 1 hora y 24 horas.⁽⁴⁾

2.6 DETERMINACIÓN DE LA OSMOLARIDAD

Se determina con un osmómetro digital, con operación automática para ensayos simples de muestra, presentando unidades de mOsmol/litro. La técnica de medición es la siguiente:

1. Calibrar el osmómetro usando 2 μL de los estándares de 100, 280 y 1000 mOsmol/ litro, se humedecen los discos de papel whatman #1 con los estándares y se insertan en la cámara de muestra, se cierra y se procede a leer cada una de las mediciones de los estándares.
2. Cargar un solo disco de papel en el centro del poseedor de la muestra. Puede necesitar usar las pinzas para separar los discos que están juntos o atrancados.
3. Colocar la muestra en el centro del disco del papel. Asegurar que el disco se sature completamente.
4. Cerrar la cámara de la muestra para empezar el ciclo de la medida.
5. Cuando la medida está completa, abrir la cámara de la muestra y retirar el disco de papel.
6. Limpiar completamente el poseedor de la muestra de todo residuo, usar una tela de tejido de algodón para limpiar.

2.8 PROCEDIMIENTO DE LA ESTABILIDAD ACELERADA

Los colirios normalizados se sometieron a la estabilidad acelerada para luego determinar el contenido de principio activo, el procedimiento fue el siguiente:

1. Los colirios normalizados se distribuyen en cuatro partes.
2. Hacer análisis fisicoquímico inicial a los colirios de la parte uno antes de someter las demás partes a las condiciones de estabilidad acelerada.
3. Los colirios normalizados de las partes 2, 3 y 4 se someten a las condiciones de 40⁰ de temperatura y 37% de humedad relativa, en la estufa climatizada por un periodo de 1, 2 y 3 meses respectivamente.
4. Proceder a sacar los colirios de las partes 2, 3 y 4 de la estufa al cumplir los periodos de 1, 2 y 3 meses de estabilidad acelerada respectivamente.
5. Hacer análisis químicos y físicos a los colirios que fueron sometidos a estabilidad acelerada y comparar con el resultado de los análisis de la primera parte correspondiente al estudio inicial.
6. Proceder a establecer el tiempo de expiración tentativo de acuerdo a los resultados obtenidos. ⁽¹³⁾

3. CÁLCULOS DE LA PRUEBA DE ANÁLISIS QUÍMICO

COLIRIO DE CLORANFENICOL

CÁLCULO DE ANÁLISIS QUÍMICO CORRESPONDIENTE AL COLIRIO DE CLORANFENICOL BASE EN FASE INICIAL.

Pureza del estándar: 98.23%

Peso del estándar: 11.8145 mg Cloranfenicol base USP.

$$\begin{array}{r} 11.8145 \text{ mg Cloranfenicol} \text{ ————— } 100\% \\ \quad \quad \quad \times \quad \quad \quad \text{————— } 98.23\% \end{array}$$

$$\frac{11.8145 \text{ mg} \times 98.23\%}{100\%} = 11.6054 \text{ mg Cloranfenicol usp. Peso real del estándar.}$$

Dilución del estándar:

$$11.6054 \text{ mg} \text{ ————— } 100 \text{ mL}$$

Concentración del estándar (Cst.):

$$\frac{11.6054 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} = 116.054 \text{ } \mu\text{g} / \text{ mL de cloranfenicol.}$$

Porcentaje del producto: rotula 0.5%

Calculo de volumen equivalente de muestra:

$$\begin{array}{r} 5 \text{ mg Cloranfenicol} \text{ ————— } 1 \text{ mL} \\ \quad \quad \quad \times \quad \quad \quad \text{————— } 2 \text{ mL} \end{array}$$

$$x = 10 \text{ mg de cloranfenicol.}$$

Dilución de la muestra:

2 mL de colirio equivalente a 10 mg de cloranfenicol ————— 100 mL

Factor de Dilución (FD) : FD = 100

Area promedio del estándar (Ast) :2504285 (ver cromatograma en anexo 2)

Area promedio de la muestra (Amx):2481901(ver cromatograma en anexo 3)

Cantidad de principio activo (mg) en la muestra:

Cantidad de principio activo (mg) = $\frac{Cst \times Amx}{Ast \times 1000} \times FD.$

Cantidad de principio activo (mg) = $\frac{116.054 \mu\text{g/mL} \times 2481901 \times 100}{2504285 \times 1000}$

= 11.5017 mg de cloranfenicol.

Porcentaje del principio activo en el colirio:

11.5017 mg de cloranfenicol ————— 2 mL de muestra

x ————— 1 mL

x = 5.7509 mg de cloranfenicol

5 mg de cloranfenicol ————— 100%

5.7509 mg de cloranfenicol ————— x

x = 115% de principio activo.

**COLIRIO DE ANTAZOLINA FOSFATO – NAFAZOLINA
CLORHIDRATO**

CÁLCULO DE ANÁLISIS QUÍMICO CORRESPONDIENTE AL
COLIRIO DE ANTAZOLINA FOSFATO – NAFAZOLINA CLORHIDRATO “A”
EN FASE INICIAL

Nota: este colirio contiene dos activos que poseen métodos de análisis diferentes. Este trabajo presenta sus métodos (ver marchas de análisis p.106), pero solo se analizó la antazolina fosfato, por carecer de los recursos para el análisis de la nafazolina clorhidrato.

Calculo para la antazolina fosfato:

Pureza del estándar: 99.35%

Peso del estándar: 25.9361 mg Antazolina fosfato USP.

$$\begin{array}{r} 25.9361 \text{ mg Antazolina fosfato} \text{ ————— } 100\% \\ x \text{ ————— } 99.35\% \end{array}$$

$$\frac{25.9361 \text{ mg} \times 99.35\%}{100\%} = 25.7675 \text{ mg Antazolina fosfato usp. Peso real del estándar}$$

Dilución del estándar:

$$\begin{array}{r} 25.7675 \text{ mg} \text{ ————— } 50 \text{ mL (515.35 } \mu\text{g / mL)} \\ | \\ 2 \text{ mL} \text{ ————— } 100 \text{ mL (10.307 } \mu\text{g / mL)} \end{array}$$

Concentración del estándar (Cst.):

$$\frac{25.7675 \text{ mg} \times 2 \text{ mL}}{50 \text{ mL} \times 100 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ } \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} = 10.3070 \text{ } \mu\text{g} / \text{ mL de antazolina fosfato.}$$

Porcentaje del producto: rotula 0.5%

Calculo de volumen equivalente de muestra:

5 mg de antazolina fosfato _____ 1 mL

25 mg de antazolina fosfato _____ x

$$x = 5 \text{ mL de antazolina fosfato.}$$

Dilución de la muestra:

5 mL de colirio equivalente _____ 50 mL

a 25 mg de antazolina fosfato

2 mL _____ 100 mL (10 $\mu\text{g} / \text{ mL}$)

$$\text{Factor de Dilución (FD) : FD} = \frac{50 \times 100}{2} = 2500$$

Absorbancia del estándar (Ast) : 0.436 (ver espectro en anexo 4)

Absorbancia de la muestra (Amx) : 0.396 (ver espectro en anexo 4)

Cantidad de principio activo (mg) en la muestra:

$$\text{Cantidad de principio activo (mg)} = \frac{\text{Cst} \times \text{Amx}}{\text{Ast} \times 1000} \times \text{FD.}$$

$$\text{Cantidad de principio activo (mg)} = \frac{10.3070 \mu\text{g/mL} \times 0.396 \times 2500}{0.436 \times 1000}$$

$$= 23.4035 \text{ mg de antazolina fosfato} / 5 \text{ mL}$$

En 1 mL de colirio se tiene: 4.6807 mg de antazolina fosfato.

Porcentaje del principio activo en el colirio:

5 mg de antazolina fosfato _____ 100%

4.6807 mg de antazolina fosfato _____ x

$$x = 93.61\% \text{ de principio activo.}$$

COLIRIO DE TIMOLOL MALEATO

CÁLCULO DE ANÁLISIS QUÍMICO CORRESPONDIENTE AL
COLIRIO DE TIMOLOL MALEATO "A" EN FASE INICIAL:

Pureza del estándar: 98.79%

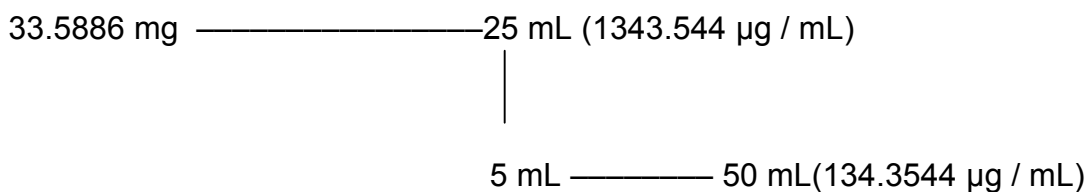
Peso del estándar: 34 mg Timolol maleato USP.

34 mg Timolol maleato _____ 100%

x _____ 98.79%

$$\frac{34 \text{ mg} \times 98.79\%}{100\%} = 33.5886 \text{ mg de timolol maleato USP. Peso real del estándar.}$$

Dilución del estándar:



Concentración del estándar (Cst.):

$$\frac{33.5886 \text{ mg} \times 5 \text{ mL}}{25 \text{ mL} \times 50 \text{ mL}} \times \frac{1000 \mu\text{g}}{1 \text{ mg}} = 134.3544 \mu\text{g / mL de timolol maleato.}$$

Porcentaje del producto: rotula 0.5%

Calculo de volumen equivalente de muestra:

$$\begin{array}{c}
 25 \text{ mg de timolol} \text{ ————— } 5 \text{ mL de colirio} \\
 \times \text{ ————— } 2 \text{ mL de colirio}
 \end{array}$$

$$x = 10 \text{ mg de timolol.}$$

Dilución de la muestra:

$$\begin{array}{c}
 2 \text{ mL. de colirio equivalente ————— } 100 \text{ mL (100 } \mu\text{g / mL)} \\
 \text{a 10 mg. de timolol}
 \end{array}$$

Factor de Dilución (FD) : FD = 100

Área promedio del estándar (Ast) : 1745227 (ver cromatograma en anexo 5)

Área promedio de la muestra (Amx) :

$$\frac{\mathbf{Amx1} + \mathbf{Amx2}}{\mathbf{2}} \quad (\text{Correspondiente a dos tomas de muestra, ver cromatograma, anexos 6 y 7})$$

$$\text{Amx} = \frac{1877486 + 1876133}{2} = 1876809.5$$

Cantidad de principio activo (mg) en la muestra:

$$\text{Cantidad de principio activo (mg)} = \frac{\text{Cst} \times \text{Amx}}{\text{Ast} \times 1000} \times \text{FD}$$

$$\text{Cantidad de principio activo (mg)} = \frac{134.3544 \mu\text{g/mL} \times 1876809.5 \times 100}{1745227 \times 1000}$$

$$= 14.4484 \text{ mg de timolol maleato/ 2 mL}$$

En 5 mL de colirio se tiene: 36.1210 mg de timolol maleato.

Conversión a base:

$$\frac{36.1210 \text{ mg de timolol maleato} \times 316.4 \text{ mg. de timolol}}{432.5 \text{ mg de timolol maleato.}} = 26.4447 \text{ mg de timolol.}$$

Rotulo del colirio: 25 mg de timolol / 5 mL de colirio.

Porcentaje del principio activo en el colirio:

$$25 \text{ mg de timolol} \quad \text{—————} \quad 100\%$$

$$26.4247 \text{ mg de timolol} \quad \text{—————} \quad x$$

$$x = 105.70\% \text{ de principio activo.}$$

COLIRIO DE GENTAMICINA SULFATO

CÁLCULO DE ANÁLISIS QUÍMICO CORRESPONDIENTE AL
COLIRIO DE GENTAMICINA SAULFATO "A" EN FASE INICIAL:

Pureza del estándar: 693 μg / mg

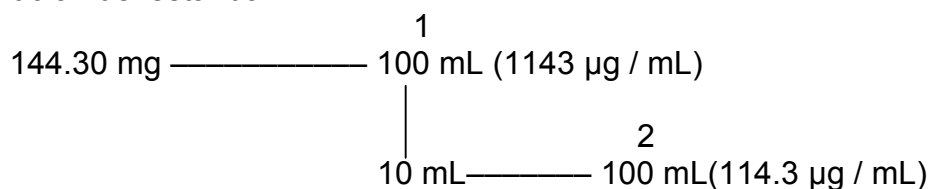
Peso del estándar: 100 mg gentamicina USP. Teórico

$$1 \text{ mg de estándar} \quad \text{—————} \quad 0.693 \text{ mg de gentamicina base.}$$

$$x \quad \text{—————} \quad 100 \text{ mg de gentamicina base}$$

$$\frac{1 \text{ mg} \times 100 \text{ mg}}{0.693 \text{ mg}} = 144.30 \text{ mg} \text{ Peso real del estándar equivalente a 100 mg de gentamicina base.}$$

Dilución del estándar:



Puntos de curva:

Número	mL tomados de solución estándar (114.3 $\mu\text{g / mL}$)	Volumen a diluir	Concentración final
1	6.40	100	6.40
2	8.00	100	8.00
3	10.00	100	10.00
4	12.50	100	12.50
5	15.60	100	15.60

Medio de cultivo: Agar antibiótico 1 y 11

Buffer : pH 8

Microorganismo: *Staphylococcus Aureus* ATCC 6538

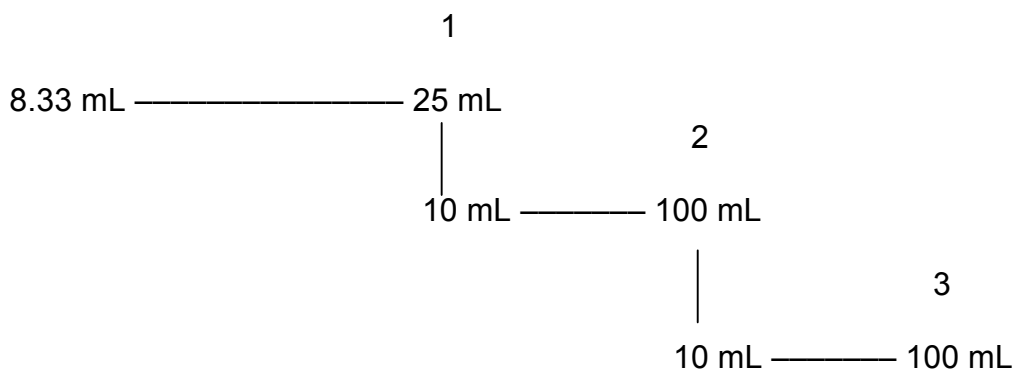
Calculo de volumen equivalente de muestra:

300 mg de gentamicina base ————— 100 mL de colirio

25 mg de gentamicina base ————— x

x = 8.33 mL de colirio.

Dilución de la muestra:



Porcentaje de principio activo en el colirio:

Factor de Dilución (FD) : 2500

Factor de Corrección (FC) = $FD / 1000 = 2500 / 1000 = 2.50$

Intercepto: 10.09 (ver cuadros de resultado de potencia y gráfica de curva de Calibración en anexos 8 , 9 y 10)

mg / muestra = Intercepto X FC.

$$= 10.09 \times 2.50 = 25.225 \text{ mg de gentamicina base.}$$

8.33 mL de colirio ————— 25.225 mg de gentamicina base.

100 mL de colirio ————— x

x = 302.82 mg de gentamicina base.

300 mg de gentamicina base. ————— 100%

302.82 mg de gentamicina base ————— x

$$x = 100.94\% \text{ de principio activo.}$$

CAPITULO III
RESULTADOS

RESULTADOS

CUADRO No. 5

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE ESTERILIDAD

NOMBRE DEL ENSAYO	MUESTRA	CALDO SOYA CASEINA DIGESTIVA	CALDO DE TIOGLICOLATO
Cloranfenicol	Colirio A	-	-
Antazolina - nafazolina	Colirio A	-	-
	Colirio B	-	-
Timolol	Colirio A	-	-
	Colirio B	-	-
Gentamicina	Colirio A	-	-
	Colirio B	-	-

Negativo (-)

Medio de cultivo claro sin crecimiento bacteriano.

Positivo (+)

Turbidez del medio de cultivo, lo que indica crecimiento bacteriano.

CUADRO No. 6

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE PRESERVANTES

Colirios Normalizados	Microorganismos viables incubados a 30 - 35 ⁰				
	Inicio	7 días	14 días	21 días	28 días
Cloranfenicol (3-A)	274,000	-	-	-	-
Antazolina - Nafazolina (2-A)	278,000	-	-	-	-
Antazolina - Nafazolina (2-B)	278,000	-	-	-	-
Timolol Maleato (2-A)	275,000	-	-	-	-
Timolol Maleato (1-B)	275,00	-	-	-	-
Gentamicina Sulfato (3-A)	270,000	-	-	-	-
Gentamicina Sulfato (2-B)	270,000	-	-	-	-
Control negativo	-	-	-	-	-
Control positivo	480,000	+++	+++	+++	+++

Negativo (-) No hubo crecimiento bacteriano

Positivo(+) Crecimiento bacteriano excesivo

CUADRO No. 7

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE OSMOLARIDAD Y pH AJUSTADO

NOMBRE	COLIRIO PREFORMULADO	OSMOLARIDAD mOsmol/L	pH AJUSTADO CON NaOH 10%
Cloranfenicol	1 – A	473	7.34
	2 – A	336	7.40
	3 – A	293	7.40
Antazolina - Nafazolina	1 – A	140	5.95
	2 – A	296.5	5.68
	1 – B	134	6.08
	2 – B	298	5.83
Timolol	1 – A	282.3	7.03
	2 – A	290.3	6.99
	1 – B	299.5	6.95
Gentamicina	1 – A	175.5	7.32
	2 – A	253	7.36
	3 – A	300	7.33
	1 – B	242.3	7.33
	2 – B	298	7.00
NOMBRE	COLIRIO NORMALIZADO	OSMOLARIDAD mOsmol/L	pH AJUSTADO CON NaOH 10%
Cloranfenicol	3 – A	293	7.40
Antazolina - Nafazolina	2 – A	307	5.90
	2 – B	303	5.60
Timolol	2 – A	290.3	6.99
	1 – B	299.5	6.95
Gentamicina	3 – A	300	7.33
	2 – B	307.5	7.26
ESPECIFICACIÓN IDEAL DE OSMOLARIDAD			
290 -310 mOsmol / Litro		La osmolaridad del suero humano equivalente a una solución de NaCl 0.9% y la osmolaridad de la lagrima humana en la película lagrimal.	

CUADRO N^o.8 ESTABILIDAD ACELERADA

PRODUCTO: CLORANFENICOL COLIRIO			FECHA DE INICIO: 14-01-2001		ENVASE: PLASTICO PEDH
LOTE: 3 – A			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-130% de Cloranfenicol (USP24)	115.00%	115.40%	95.00%	71.20%
pH	7.1-7.5 (USP24)	7.40	7.40	7.37	7.34
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución amarilla	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Tiempo tentativo de expiración de 16 meses.					

PRODUCTO: ANTAZOLINA – NAFAZOLINA COLIRIO			FECHA DE INICIO: 8-02-2001		ENVASE: PLASTICO PEDH
LOTE: 2 – A			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-115% de Antazolina fosfato(USP24) 90-115% de Nafazolina HCl	93.61%	94.00%	93.72%	93.45%
pH	5.5-6.3 (PDR24)	5.90	5.90	5.90	5.85
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución clara	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Por falta de recursos no se pudo cuantificar la nafazolina clorhidrato, por lo que no se puede dar un tiempo tentativo de vida útil.					

PRODUCTO: ANTAZOLINA – NAFAZOLINA COLIRIO			FECHA DE INICIO: 8-02-2001		ENVASE: PLASTICO PEDH
LOTE: 2 – B			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-115% de Antazolina fosfato(USP24) 90-115% de Nafazolina HCl	97.90%	97.42%	97.22%	97.30%
pH	5.5-6.3 (PDR24)	5.60	5.60	5.60	5.60
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución clara	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Por falta de recursos no se pudo cuantificar la nafazolina clorhidrato, por lo que no se puede dar un tiempo tentativo de vida útil.					

PRODUCTO: TIMOLOL MALEATO COLIRIO			FECHA DE INICIO: 8-02-2001	ENVASE: PLASTICO PEDH	
LOTE: 2 – A			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPEIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-110% de Timolol (USP24)	105.70%	105.23%	104.72%	107.49%
pH	6.5-7.5 (USP24)	7.40	7.40	7.37	7.34
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución clara	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Tiempo tentativo de expiración de 24 meses.					

PRODUCTO: TIMOLOL MALEATO COLIRIO			FECHA DE INICIO: 8-02-2001	ENVASE: PLASTICO PEDH	
LOTE: 1 – B			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPEIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-110% de Timolol (USP24)	98.57%	100.03%	101.50%	102.79%
pH	6.5-7.5 (USP24)	7.40	7.40	7.37	7.34
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución clara	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Tiempo tentativo de expiración de 24 meses.					

PRODUCTO: GENTAMICINA SULFATO COLIRIO			FECHA DE INICIO: 8-02-2001	ENVASE: PLASTICO PEDH	
LOTE: 3 – A			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPEIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-135% de Gentamicina (USP24)	100.94%	104.04%	98.03%	101.04%
pH	6.5-7.5 (USP24)	7.33	6.68	6.68	6.68
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución clara	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Tiempo tentativo de expiración de 24 meses.					

PRODUCTO: GENTAMICINA SULFATO COLIRIO			FECHA DE INICIO: 8-02-2001	ENVASE: PLASTICO PEDH	
LOTE: 2 – B			TEMPERATURA: 40 ^o C		
DETERMINACIONES	ESPECIFICACIONES	INICIO	1^o MES	2^o MES	3^o MES
ANÁLISIS QUÍMICO CONTENIDO (%)	90-135% de Gentamicina (USP24)	102.04%	102.34%	98.83%	103.14%
pH	6.5-7.5 (USP24)	7.26	6.72	6.72	6.72
OLOR	Inodoro	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
COLOR	Solución clara	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
CONCLUSIÓN: Tiempo tentativo de expiración de 24 meses.					

CUADRO No. 9**RESULTADOS DE LA PRUEBA DE IRRITABILIDAD OCULAR
EFECTUADA A CONEJOS ADULTOS Y SANOS**

NOMBRE	COLIRIO	5 MINUTOS	1 HORA	24 HORAS
Cloranfenicol	Colirio A	-	-	-
Antazolina - Nafazolina	Colirio A	+	-	-
	Colirio B	+	-	-
Timolol	Colirio A	-	-	-
	Colirio B	-	-	-
Gentamicina	Colirio A	-	-	-
	Colirio B	-	-	-

Negativo (-) Ninguna irritabilidad

Positivo (+) Irritación leve o ligera

CAPITULO IV
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

PRUEBA DE ESTERILIDAD

Los resultados de la prueba de esterilidad (cuadro 5) fueron favorables ya que los medios de cultivos caldo soya caseína digestiva y caldo tioglicolato no presentaron crecimiento bacteriano, esta prueba es de gran importancia, ya que se está garantizando que al ojo enfermo no se le agregará una nueva lesión por posible contaminación del colirio. Este resultado significa que no se encontró ningún microorganismo contaminante en las muestra analizadas, garantizando que todo el lote de producción se preparó en condiciones homogéneas.

PRUEBA DE EFECTIVIDAD DE PRESERVANTES

La prueba tubo como objeto demostrar la efectividad de los preservantes del colirio, se basó en el crecimiento de la *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027 observando la turbidez y el color de las soluciones durante el periodo de incubación; las muestras que fueron inoculadas presentaron turbidez al inicio, el cuadro N_{0.6} muestra la cantidad de microorganismos viables por mililitros inoculados a 30-35⁰ observando que la cantidad de preservantes en el colirio es demasiada ya que disminuye la cantidad de microorganismos inoculados en un aproximado del 45% El control positivo presentó turbidez debido al crecimiento bacteriano observándose un cambio de color del caldo caseína soya digestiva de café a

amarillo. El control negativo no presentó ningún tipo de cambios en el periodo de prueba.

PRUEBA DE OSMOLARIDAD

El cuadro No. 3 da a conocer las osmolaridades de los colirios preformulados, en el que se observa osmolaridades de 473 – 134 mOsmol/L, estos resultados conllevaron a que los colirios a formular deberían ser isotónicos con el líquido lagrimal, esta isotonía se logró con el agregado o disminución de cloruro de sodio en la formulación. Además, da a conocer la osmolaridad de los colirios normalizados, en el que se puede observar el rango de osmolaridad de 290.3 – 307.5 mOsmol/L, que permite compararlo con la osmolaridad del suero humano que es de 290 mOsmol/L, equivalente a una solución acuosa de cloruro de sodio al 0.9% y reconociendo que la osmolaridades de la lagrима humana normal es alrededor de 300 mOsmol/L, cuando está recién producida y de 305 – 310 mOsmol/L en la película lacrimal; de esta manera la isotonicidad hace a los colirios menos irritantes, suprime la sensación de quemadura causada por soluciones hipotónicas e hipertónicas, y facilita la difusión de solutos o bien la transferencia de fluidos a través de las membranas para que la absorción, distribución, biotransformación y excreción del fármaco sean satisfactorias.

PRUEBA DE pH

A pesar de la capacidad de las lágrimas de neutralizar soluciones ácidas como básicas llevándolas a términos confortables de estabilización de pH dentro de los límites determinados de las soluciones oftálmicas, fue necesario ajustar el pH de los colirios en estudio al pH especificado por los métodos de la USP 24 y el PHYSICIANS' DESK REFERENCE (PDR)

El cuadro No 7 presenta el pH de los colirios en fase inicial; esto quiere decir en el momento de elaboración, a demás da a conocer el pH de los colirios en la fase de su correspondiente estudio de estabilidad acelerada de 1,2 y 3 meses a 40 °, obteniendo resultados satisfactorios; dando de esta manera el pH estabilidad a las formulas y brindando un colirio ideal o apto para su aplicación.

Los colirios normalizados (antazolina fosfato – nafazolina clorhidrato) no presentan el pH óptimo del liquido lagrimal que es de 7.0 – 7.4, por lo que fue necesario brindar mayor estabilidad a las fórmulas y basarse en las especificaciones de la USP 24 y el PHYSICIANS' DESK REFERENCE (PDR), considerando que la lágrima llega a neutralizar soluciones que van de pH 3.5 – 10.5.

PRUEBA DE IRRITABILIDAD OCULAR

El cuadro No. 9 da a conocer los resultados de la instilación de los colirios normalizados en estudio, en conejos adultos y sanos, se pudo observar en esta prueba que en los tiempos de 5 minutos, 1 hora y 24 horas los colirios no mostraron irritabilidad excepto los de nafazolina – antazolina con una irritabilidad leve o ligera en los primeros 5 minutos, la cual se detectó por el enrojecimiento de la córnea de los conejos, después de este tiempo no se presentó ninguna irritabilidad.

PRUEBA DE ANÁLISIS QUÍMICO

Esta prueba es de suma importancia ya que da a conocer la validez e idoneidad de un preparado, el cuadro No. 8 muestra los resultados de la cantidad de principio activo en la fórmula al momento de su preparación y además en un tiempo de estudio de 1, 2, y 3 meses a 40⁰, correspondiente a su estudio de estabilidad acelerada, si el resultado de análisis químico y propiedades organolépticas es satisfactorio se establece un tiempo de expiración tentativo de 24 meses.

De los colirios evaluados se puede argumentar que:

El colirio de cloranfenicol, no es estable debido a que cumplió su estudio de estabilidad acelerada a un periodo de 2 meses con respecto al análisis del principio activo por lo que se le puede dar un tiempo de expiración tentativo de 16 meses, además sus características físicas y organolépticas no presentaron ningún cambio, asimismo se puede ver en el

cuadro No.6 que la degradación del cloranfenicol es de aproximadamente 20 % por mes de estabilidad acelerada, por lo que para dar un periodo de expiración de 24 meses es necesario agregar un 30 % más de exceso de cloranfenicol en el momento de su elaboración, este incremento no afecta la especificación del producto debido a que la USP 24 da un margen amplio de potencia que va del 90 – 130 % de principio activo.

El colirio de antazolina – nafazolina contiene dos principios activos que poseen métodos de análisis diferentes, pero solo se analizó la antazolina fosfato por carecer de los recursos para el análisis de la nafazolina clorhidrato.

Los colirios de timolol y gentamicina cumplen las especificaciones establecida para el análisis químico, además de los siguientes aspectos: transparencia, pH, color de las soluciones por un periodo de 3 meses a las condiciones de la estabilidad acelerada por lo que se establece un tiempo de expiración tentativo de 24 meses.

CAPITULO V
CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- De acuerdo con los resultados obtenidos puede comprobarse que se lograron los objetivos planteados, ya que fue posible la normalización de las cuatro fórmulas para uso oftálmico (colirios) cloranfenicol, antazolina – nafazolina; timolol y gentamicina.

- El resultado de los análisis refleja el cumplimiento de las G.M.P. en las instalaciones, el personal y los materiales para la fabricación de colirios se pudieron observar en la elaboración; que se realizó en ambiente estéril, en recipientes de acero inoxidable, se aplicaron todas las medidas de asepsia necesarias dentro del área, tales como: el uso de una prenda entera estéril con gorro, botas, mascarilla y guantes estériles y como resultado se obtuvieron pruebas de esterilidad satisfactorias.

- Para encontrar la fórmula correcta de cada principio activo, se realizó con dos preformulaciones, por lo que se demostró que lo mínimo de preformulaciones que se deben hacer es dos para tener opción de escoger la fórmula correcta y estable; por ejemplo, en el colirio de cloranfenicol de dos preformulaciones sólo la prefórmula 3 – A fue la que cumplió los parámetros establecidos.

- Se midieron y comprobaron los parámetros fisicoquímicos, químicos, bacteriológicos y biológicos de calidad establecidos por la USP 24 para esta forma farmacéutica, concluyendo con la identidad y calidad del producto.
- Se determinó que al cumplir los parámetros indicadores de calidad tales como; osmolaridad, pH, esterilidad y análisis químico en los colirios, las fórmulas son estables y pasan la prueba de irritabilidad.
- El cloruro de benzalconio al 0.01% es el agente más frecuentemente usado, pero no es compatible con soluciones de cloranfenicol ya que el cloruro de benzalconio precipita. Esto se observó en el colirio 1-B de cloranfenicol elaborado en la preformulación.
- El cloruro de benzalconio tiende a precipitar en presencia del ácido nítrico y los nitrato, por lo que la precipitación con el cloranfenicol pudiera deberse a la interacción con la acetamida y el grupo nitro del cloranfenicol.
- La combinación de la nafazolina clorhidrato con la antazolina fosfato como solución oftálmica no aparece en la USP 23, 24, 25, por lo que para su correspondiente especificación de potencia se estableció un rango del 90 – 115% de los principios activos, considerando este margen como un

valor permitido, ya que la solución oftálmica de nafazolina clorhidrato en forma individual posee dicho margen de potencia en la USP.

- Las soluciones buffer de ácido bórico – borato de sodio y las soluciones de fosfatos utilizadas en la formulas mantuvieron el pH durante el estudio de estabilidad quedando demostrado que no hubo degradación por catálisis ácida o básica.

- Con los resultados obtenidos en las pruebas de esterilidad del producto se comprobó su esterilidad.

CAPITULO VI
RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

- Para normalizar y desarrollar una nueva fórmula de colirios es de suma importancia la correcta selección del vehículo y excipientes (matrices) que favorezcan la distribución, de la droga, la aplicación y permanencia en el ojo
- Para garantizar la vida útil de los colirios es necesario determinar la estabilidad acelerada.
- Para normalizar una fórmula se recomienda iniciar con la investigación de las monografías de materia prima y revisión bibliográfica de formas farmacéuticas.
- Para futuras normalizaciones se recomienda, iniciar un estudio de preformulación, conocer la disponibilidad de técnicas analíticas que reúnan una característica adecuada para la correcta determinación cuali y cuantitativa del fármaco.
- Para formular colirios el agua debe ser destilada estéril y libre de partículas extrañas.

- Los conservadores no deben ser irritantes, ni tóxicos al tejido ocular, deben ser compatibles con los demás componentes de la fórmula, tener una alta actividad bacteriana frente a un amplio espectro de microorganismos.

- Sí se van a usar derivados de la celulosa en la preparación de soluciones oftálmicas es recomendable no esterilizar en auto clave el producto ya elaborado porque estos coagulan con el calor y luego al enfriarse, vuelven a disolverse, quedando partículas en suspensión, por lo que se recomienda realizar aparte el mucílago y luego esterilizar esta solución en autoclave a 120⁰ por 20 minutos antes de ser usada, luego teniendo el preparado puede esterilizarlo por filtración por membrana.

- No es siempre indicado llevar el colirio al pH de las lágrimas sin previa investigación de la estabilidad del principio activo a dicho pH.

GLOSARIO

GLOSARIO

1. Absorción: denota la rapidez con que un fármaco sale de su sitio de administración, y el grado en que lo hace.
2. Biodisponibilidad: llamase así al grado en que un fármaco llega a su sitio de acción, o a un líquido biológico desde donde tiene acceso a dicho sitio.
3. Concentración osmolar: generalmente son expresadas en miliosmoles (mOsmol) de soluto por litro de solución. En términos generales, el peso de un osmol es el peso molecular de una sustancia expresada en gramos dividido entre el número de iones o especies químicas que se forman en solución.
4. Crioscópico: punto de congelación de las disoluciones.
5. Glaucoma: trastorno consistente en la elevación de la presión en el ojo debido a la obstrucción del flujo salino del humor acuoso.
6. Hipertónico: solución que presenta una concentración de soluto mayor que otra y, por tanto, ejerce más presión osmótica; puede aplicarse a una solución salina que contenga más sal que los líquidos

corporales intra y extracelulares. Las células sumergidas en una solución hipertónica se deshidratan.

7. Hipotónico: solución que presenta una menor concentración de soluto que otra, ejerciendo por lo tanto menor presión osmótica que ésta, como sucede con la solución salina hipotónica, que contiene menos sal que la que se encuentra en los líquidos intra y extracelulares. En solución hipotónica, las células se expanden.
8. Isotónico: solución que tiene la misma concentración de soluto que otra, y, por tanto, en ambas existe la misma presión osmótica, como sucede en una solución salina que contiene una cantidad de sal igual a la que se encuentra en el líquido intra y extracelular.
9. Midriasis: dilatación de la pupila ocular por contracción del músculo dilatador del iris, vaina muscular que se irradia hacia afuera, como los radios de una rueda, desde el centro del iris alrededor de la pupila. Al disminuir la luz o bajo la acción de ciertos fármacos, el músculo dilatador arrastra el iris hacia fuera, agrandando la pupila. || Anomalía caracterizada por contracción del músculo dilatador que conduce a dilatación amplia de la pupila.
10. Normalización: sometimiento de las dimensiones y calidad de los productos industriales y del proceso productivo de los mismos a una norma para racionalizar y uniformar la fabricación.

11. Osmolaridad: presión osmótica de una solución expresada en osmoles o miliosmoles por litro de solución.

12. Osmosis: difusión de un líquido a través de una membrana semipermeable que separa dos disoluciones de diferente concentración.

13. Preformulación: proceso por el que se anticipa un conjunto de normas que sirven para escribir correctamente una fórmula.

14. Trombocitopenia: disminución de la tasa de las plaquetas sanguíneas.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFÍA

1. FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS, 5^a. Ed.,
Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, México 1988.
2. FAULII TRILLO, Tratado de Farmacia Galénica 1^a. Edición. Madrid:
Editorial Luzán5, S.A. de Ediciones 1993.
3. HELMAN, José, Farmacotecnia Teórica Práctica, 4^a. Edición. Editorial
Continental, México, 1984.
4. HIDALGO NERIO, Claudia Margarita, “Evaluación de la Efectividad
Preservativa del Metil y Propil Paraben en Colirios, Usando como
Microorganismo de Prueba Pseudomona Aeruginosa ATCC 9027”, El
Salvador: Facultad de Química y Farmacia, UES. 1992.
5. IBÁÑEZ, S. : SÁNCHEZ, J. Y FERNÁNDEZ, J. M. : Preparación de
formas de cosificación líquida estériles, AEFH, México, VIII, Enero 1984.
6. Mosby’s GenRX, THE COMPLETE REFERENCE FOR GENERIC AND
BRAND DRUGS, EIGHTH EDITION, 1998, Mosby – year Book, Inc. P. II
– 142.

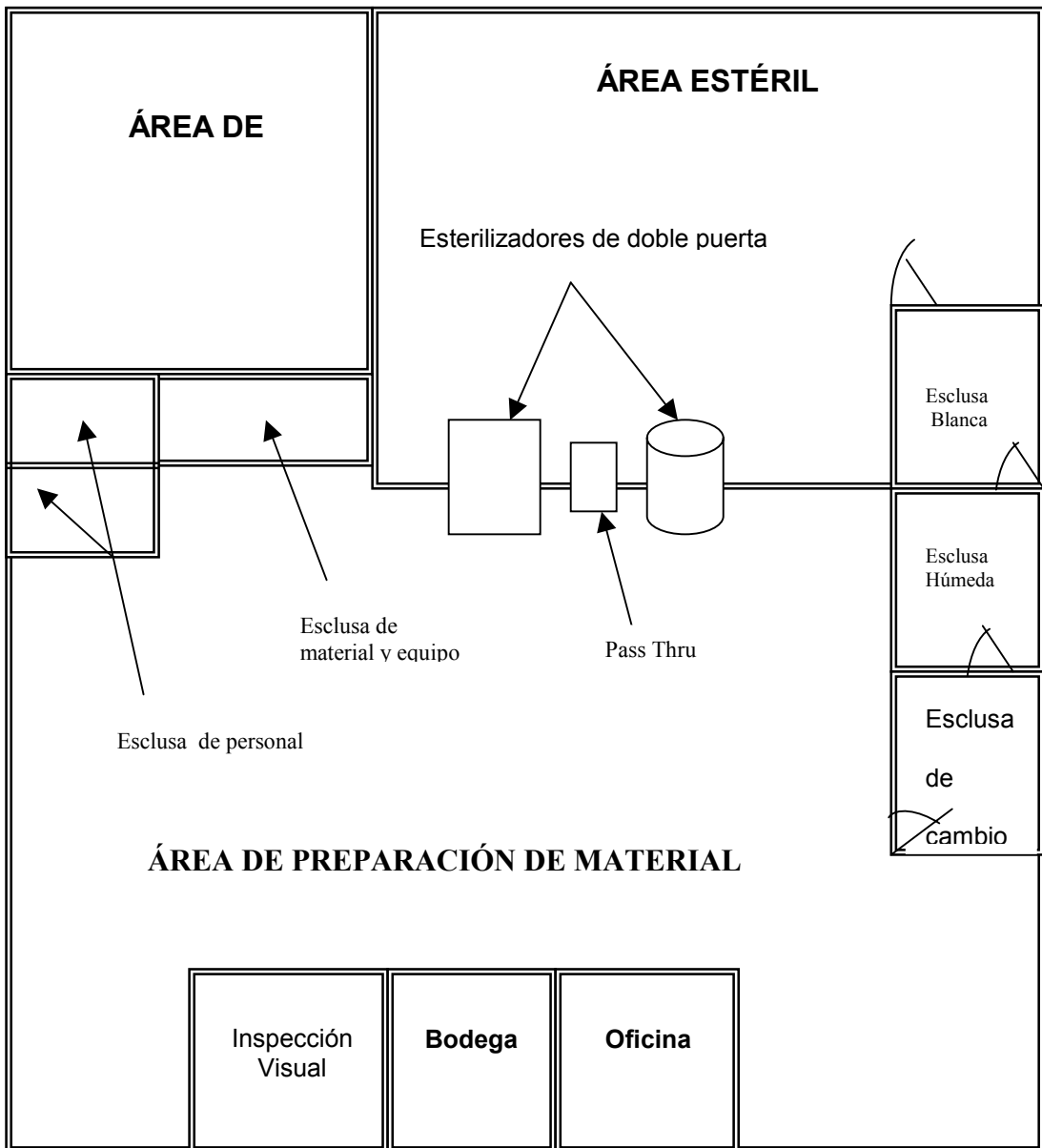
7. OCÉANO UNO COLOR. DICCIONARIO ENCICLOPÉDICO. Edición 2000, Sebastián Puigserver, José M^a Prats, Jaime Rovira. P. 391
8. PHYSICIANS' DESK REFERENCE (PDR) FOR OPHTHALMOLOGY. 24 EDITION, Editorial consultants and Contributors. 1996. P. 243, 244, 272, 273, 298 – 303, 310,
9. REMINGTON FARMACIA, Trad. por Dr. Merino, Arnoldo y Dra. Guerrero, Lucía, 17^a. Edición, Editorial Panamericana, Buenos Aires, 1985.
10. REMINGTON FARMACIA, 19^a Edición, Editorial Medica panamericana SA. Año 1995 Impreso en Argentina Tomo I y II. P. 1922, 1923, 2137, 2140.
11. THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL THE NATIONAL FORMULARY twentieth tree revision, and published by the board of trustes USA, 1995.
12. THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL THE NATIONAL FORMULARY. (USP 24, NF 19). Prepared by the Committee of Revision an Published by the Board of Trustees, Official from January 1, 2000.

13. UNITED STATES DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES PUBLIC HEALTH SERVICE; "Guideline for Submitting Documentation for the Stability of Human Drugs and Biologics". FOOD AND DRUG ADMINISTRATION February 1987.
14. USP. DI RIEW: Drug Information for the Health Care Professional, ninth edition, Ed. By Authority of the United States Pharmacopeial Convention Inc, Easton, USA, 1989, Vol. I A, I B. P. 1595.
15. Marroquin Gómez. 2001 El Ojo Humano. Consultado 15 febrero 2003.
Disponibile en:
[http://www.horusgo.com/El Ojo Humano ANATOMIA. htm](http://www.horusgo.com/El_Ojo_Humano_ANATOMIA.htm)
16. Ileana Santoiani. Consultado 16 febrero 2003. Disponible en:
[http://www.monografias.com/ Monografias_com-El Ojo Humano. htm](http://www.monografias.com/Monografias_com-El_Ojo_Humano.htm)

ANEXOS

ANEXO N^o. 1

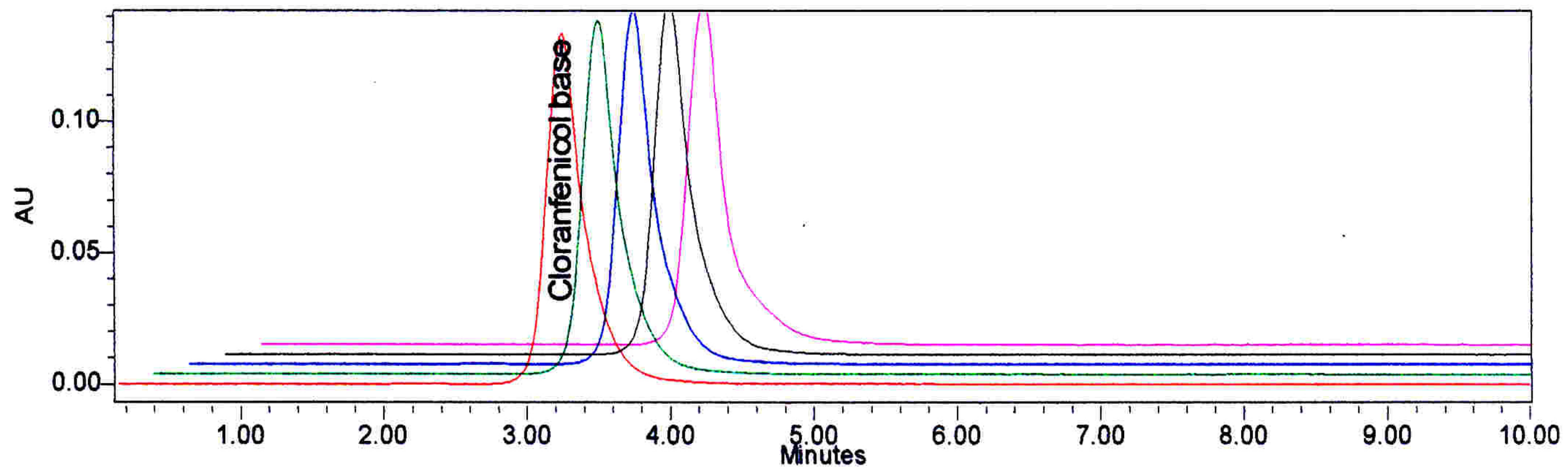
ÁREA DE PREPARACIÓN DE COLIRIOS



ANEXO No. 2

Cromatograma del estándar de cloranfenicol

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	St. Cloranfenicol base	Acquired By:	System
Sample Type:	Standard	Date Acquired:	4/29/02 12:35:06 PM, 4/29/02 12:46:21
Vial:	1	Acq. Method Set:	Cloranfenicol base Colirio
Injection #:	1, 2, 3, 4	Date Processed:	5/10/02 9:21:50 AM, 5/10/02 9:21:54 A
Injection Volume:	20.00 ul	Processing Method:	Cloranfenicol base
Run Time:	10.0 Minutes	Channel Name:	WvIn Ch1
Sample Set Name:	Cloranfenicol colirio	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 298.4 nm



—	SampleName St. Cloranfenicol base	Vial 1	Injection 1	Channel 996	Date Acquired 4/29/02 12:35:06 PM
—	SampleName St. Cloranfenicol base	Vial 1	Injection 2	Channel 996	Date Acquired 4/29/02 12:46:21 PM
—	SampleName St. Cloranfenicol base	Vial 1	Injection 3	Channel 996	Date Acquired 4/29/02 12:57:39 PM
—	SampleName St. Cloranfenicol base	Vial 1	Injection 4	Channel 996	Date Acquired 4/29/02 1:08:57 PM
—	SampleName St. Cloranfenicol base	Vial 1	Injection 1	Channel 996	Date Acquired 4/29/02 4:20:48 PM

Component Summary Table

	SampleName	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height	Amount	Units
1	St. Cloranfenicol base	1	996	Cloranfenicol base	3.240	2506137	133180		
2	St. Cloranfenicol base	1	996	Cloranfenicol base	3.208	2486606	130713		
3	St. Cloranfenicol base	2	996	Cloranfenicol base	3.236	2506656	134650		
4	St. Cloranfenicol base	3	996	Cloranfenicol base	3.227	2513063	134951		
5	St. Cloranfenicol base	4	996	Cloranfenicol base	3.226	2508962	135239		
Mean						2504285	133747		
Std. Dev.						10253	1872		
% RSD						0.4	1.4		

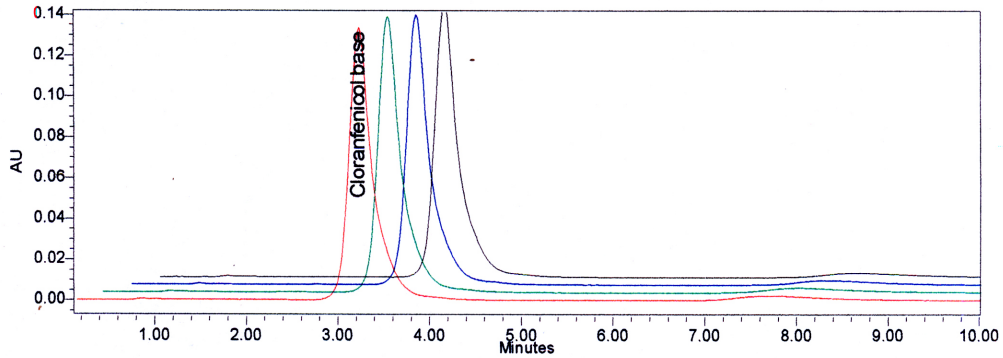
Component Summary Table

1	Vial	1	4	Vial	1	Std. Dev.	1
2	Vial	1	5	Vial	1	% RSD	1
3	Vial	1	Mean	Vial	1		

ANEXO No.3

Cromatograma de la muestra inicial de cloranfenicol

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Mx. Inicio Cloranfenicol colirio	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Date Acquired:	4/29/02 1:20:12 PM, 4/29/02 1:31:27 F
Vial:	2	Acq. Method Set:	Cloranfenicol base Colirio
Injection #:	1, 2, 3, 4	Date Processed:	5/10/02 10:15:54 AM, 5/10/02 10:15:54 AM
Injection Volume:	20.00 ul	Processing Method:	Cloranfenicol base colirio
Run Time:	10.0 Minutes	Channel Name:	WVIn Ch1
Sample Set Name:	Cloranfenicol colirio	Proc. Chnl. Descr.:	PDA 290.9 nm



- SampleName Mx. Inicio Cloranfenicol colirio Vial 2 Injection 1 Channel 996 Date Acquired 4/29/02 1:20:12 PM
- SampleName Mx. Inicio Cloranfenicol colirio Vial 2 Injection 2 Channel 996 Date Acquired 4/29/02 1:31:27 PM
- SampleName Mx. Inicio Cloranfenicol colirio Vial 2 Injection 3 Channel 996 Date Acquired 4/29/02 1:42:42 PM
- SampleName Mx. Inicio Cloranfenicol colirio Vial 2 Injection 4 Channel 996 Date Acquired 4/29/02 1:53:57 PM

Component Summary Table

	SampleName	Ini	Channel	Name	RT	Area	Height	Amount
1	Mx. Inicio Cloranfenicol colirio	1	996	Cloranfenicol base	3.227	2481841	133262	
2	Mx. Inicio Cloranfenicol colirio	2	996	Cloranfenicol base	3.227	2500386	135111	
3	Mx. Inicio Cloranfenicol colirio	3	996	Cloranfenicol base	3.228	2455140	132247	
4	Mx. Inicio Cloranfenicol colirio	4	996	Cloranfenicol base	3.221	2490237	134213	
Mean						2481901	133709	
Std. Dev.						19385	1232	
% RSD						0.8	0.9	

Component Summary Table

	Units	Vial
1		2
2		2
3		2
4		2

	Units	Vial
Mean		
Std. Dev.		
% RSD		

ANEXO No.4

Espectro del estándar y la muestra inicial de antazolina fosfato

PERKIN-ELMER
LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER

METH 20 SCAN/MAN

SAMPLE ID

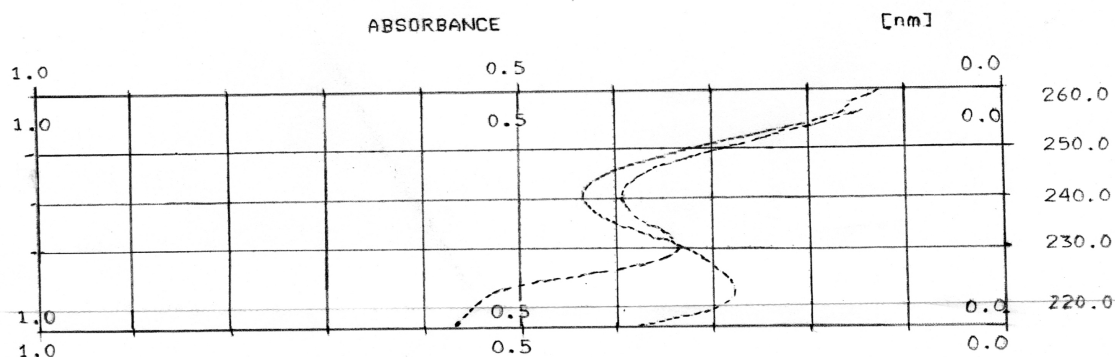
OPERATOR ID

ORDINATE MODE	ABS	:	GRAPHICS PLOT	YES
WAV. MAX	260NM	:	ORD.MAX	1.0 ABS
WAV. MIN	215NM	:	ORD.MIN	0.000 ABS
SPEED	120 NM/MIN	:	SCALE	10.0 NM/CM
SMOOTH	2 NM	:	GRID	YES
LAMP	UV+VIS	:	OVERLAY	YES
BACK CORR	YES	:	LINE TYPE	AUTO
SAMPLES/BATCH	2	:	PRINT DATA	YES
START SAMPLE	1	:	THRESHOLD	0.0ABS
CYCLES	1	:	AUTO METHOD	YES
CYCLE-TIME	0.1MIN	:	OPER. ID	22012002
		:	SAMPLE ID	22012002

PERKIN-ELMER LAMBDA 2 UV/VIS SPECTROMETER
DATE: 00/01/01 TIME: 00:31:06

METHOD NO.: 20 SCAN/MAN

SAMPLE ID: 22012002
OPERATOR ID: 22012002



THRESHOLD : 0.000

BATCH: 001

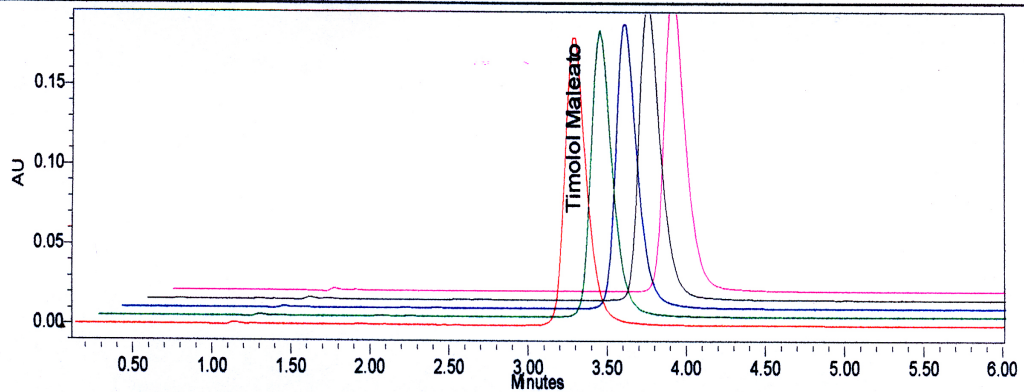
SAMPLE	CYCLE	WAVELENGTH	DATA
001	00:33	241.3 nm (MAX)	0.436 ABS
		222.5 nm (MIN)	0.280 ABS
002	00:34	241.0 nm (MAX)	0.396 ABS
		230.2 nm (MIN)	0.338 ABS

ANEXO No.5

Cromatograma del estándar de timolol maleato

SAMPLE INFORMATION

Sample Name: St. Timolol Maleato 1, St. Timolol Mal Acquired By: System
 Sample Type: Standard Sample Set Name TIMOLOL MALEATO
 Vial: 1 Acq. Method Set: Timolol Maleato
 Injection Volume: 20.00 ul Run Time: 6.0 Minutes



— SampleName St. Timolol Maleato 1 Vial 1 Injection 1 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 5:16:17 PM
 — SampleName St. Timolol Maleato 1 Vial 1 Injection 2 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 5:23:32 PM
 — SampleName St. Timolol Maleato 1 Vial 1 Injection 3 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 5:30:47 PM
 — SampleName St. Timolol Maleato1 Vial 1 Injection 1 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 11:29:21 PM
 — SampleName St. Timolol Maleato1 Vial 1 Injection 2 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 11:36:37 PM

Component Summary Table

	SampleName	Ini	Channel	Name	RT	Area	Height	Amount	Units
1	St. Timolol Maleato 1	1	996	Timolol Maleato	3.289	1735829	180547		
2	St. Timolol Maleato1	1	996	Timolol Maleato	3.282	1782742	186120		
3	St. Timolol Maleato 1	2	996	Timolol Maleato	3.295	1712436	179152		
4	St. Timolol Maleato1	2	996	Timolol Maleato	3.282	1784933	187160		
5	St. Timolol Maleato 1	3	996	Timolol Maleato	3.294	1710197	178253		
Mean						1745227	182246		
Std. Dev.						36656	4110		
% RSD						2.1	2.3		

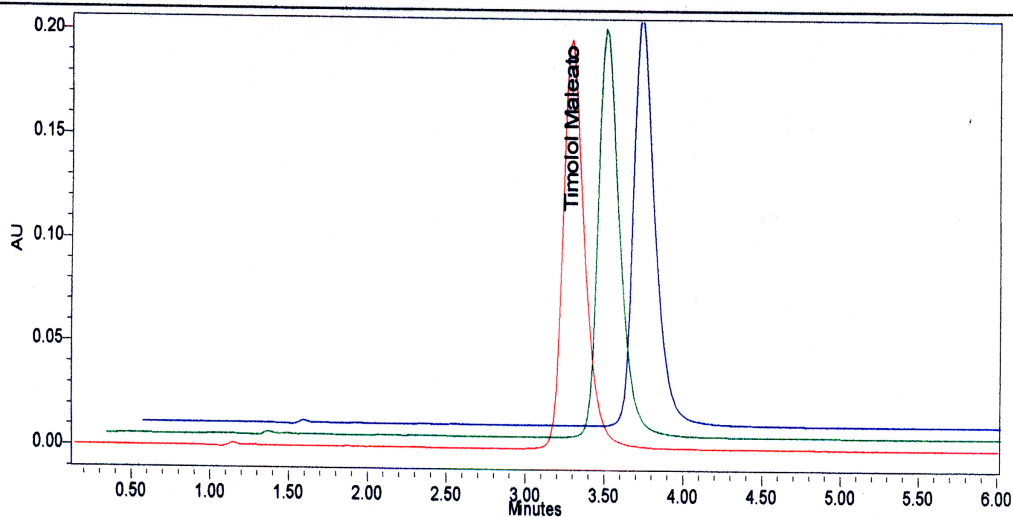
Component Summary Table

	Vial		Vial		Vial
1	1	4	1	Std. Dev.	
2	1	5	1	% RSD	
3	1	Mean			

ANEXO No.6

Cromatograma de la muestra 1 inicial de timolol maleato

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Mx. Timolol Maleato1	Acquired By:	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name:	TIMOLOL MALEATO
Vial:	2	Acq. Method Set:	Timolol Maleato
Injection Volume:	20.00 ul	Run Time:	6.0 Minutes



- SampleName Mx. Timolol Maleato1 Vial 2 Injection 1 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 5:38:05 PM
- SampleName Mx. Timolol Maleato1 Vial 2 Injection 2 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 5:45:20 PM
- SampleName Mx. Timolol Maleato1 Vial 2 Injection 3 Channel 996 Date Acquired 9/3/01 5:52:35 PM

Component Summary Table

	SampleName	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height	Amount	Units
1	Mx. Timolol Maleato1	1	996	Timolol Maleato	3.293	1878346	196474		
2	Mx. Timolol Maleato1	2	996	Timolol Maleato	3.293	1876877	197124		
3	Mx. Timolol Maleato1	3	996	Timolol Maleato	3.296	1877234	196392		
Mean						1877486	196663		
Std. Dev.						766	401		
% RSD						0.0	0.2		

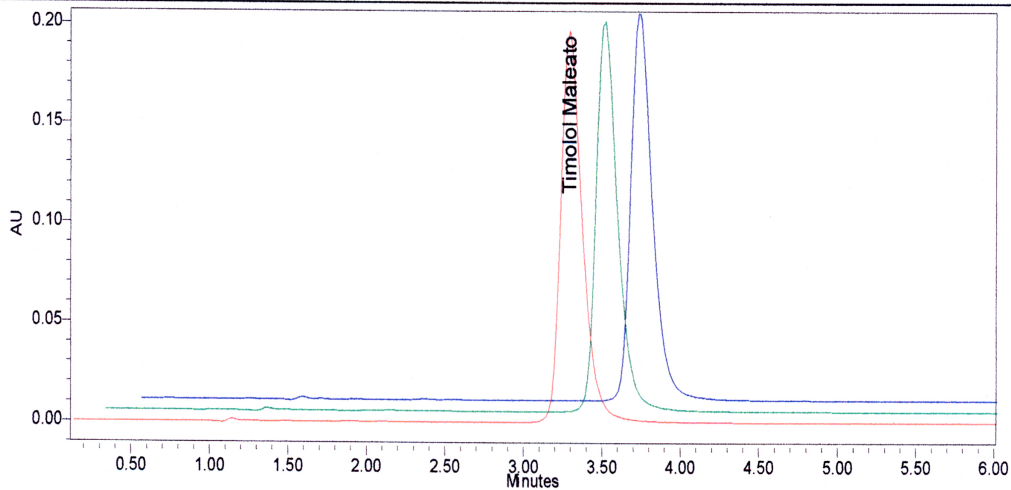
Component Summary Table

	Vial		Vial
1	2	Mean	
2	2	Std. Dev.	
3	2	% RSD	

ANEXO No.7

Cromatograma de la muestra 2 inicial de timolol maleato

SAMPLE INFORMATION			
Sample Name:	Mx. Timolol Maleato2	Acquired By :	System
Sample Type:	Unknown	Sample Set Name	TIMOLOL MALEATO
Vial:	3	Acq. Method Set:	Timolol Maleato
Injection Volume:	20.00 ul	Run Time:	6.0 Minutes



SampleName	Mx. Timolol Maleato2	Vial 3	Injection 1	Channel 996	Date Acquired 9/3/01 5:59:53 PM
SampleName	Mx. Timolol Maleato2	Vial 3	Injection 2	Channel 996	Date Acquired 9/3/01 6:07:08 PM
SampleName	Mx. Timolol Maleato2	Vial 3	Injection 3	Channel 996	Date Acquired 9/3/01 6:14:23 PM

Component Summary Table

	SampleName	Inj	Channel	Name	RT	Area	Height	Amount	Units
1	Mx. Timolol Maleato2	1	996	Timolol Maleato	3.294	1877587	196269		
2	Mx. Timolol Maleato2	2	996	Timolol Maleato	3.296	1876446	195799		
3	Mx. Timolol Maleato2	3	996	Timolol Maleato	3.294	1874367	196279		
Mean						1876133	196116		
Std. Dev.						1633	274		
% RSD						0.1	0.1		

Component Summary Table

	Vial		Vial
1	3	Mean	
2	3	Std. Dev.	
3	3	% RSD	

ANEXO No. 8

CUADRO DE DATOS Y RESULTADOS DE POTENCIA PARA LA CURVA DE GENTAMICINA SULFATO ESTÁNDARES.

No. De PLACA	LECTURA DE No. DE HALOS (nm)	S (-----) S		S (-----) S		S (-----) S		S (-----) S		CALCULOS
		1	3	2	3	4	3	5	3	
		6.4	10.0	8.0	10.0	12.5	10.0	15.6	10.0	Σ SUMATORIA \bar{X} MEDIA \bar{Mx} MEDIA CORREGIDA G.P. GRAN PROMEDIO $\bar{G.P} = 18.04$ $L = \frac{3(16.96)+2(17.94)+18.04 - 19.02}{5}$ L = 17.14 $H = \frac{3(19.09)+2(18.53)+18.04 - 16.96}{5}$ H = 19.22
1	1	18.4	18.4	19.4	17.4	19.2	18.3	15.9	18.4	
	2	16.5	18.0	16.9	18.3	18.5	17.4	19.3	19.0	
	3	17.6	19.6	18.4	18.7	17.8	18.3	19.6	17.6	
2	4	16.4	19.0	18.5	19.2	18.2	18.3	18.7	18.2	
	5	16.3	17.8	17.9	17.2	18.8	16.7	19.6	17.9	
	6	16.9	18.4	17.6	17.0	17.9	17.4	19.9	18.3	
3	7	16.9	17.0	18.2	18.4	19.3	18.8	20.1	18.2	
	8	16.1	16.8	16.6	16.8	18.2	16.3	19.9	17.8	
	9	18.4	18.2	17.8	19.1	17.1	19.1	20.3	18.4	
CALCULOS	Σ	153.5	163.2	161.3	162.2	165.0	160.6	173.3	163.8	
	MEDIA	17.05	18.13	17.92	18.02	18.33	17.84	19.25	18.2	
	MEDIA CORREGIDA	16.96	0.09	17.94	0.02	18.53	0.2	19.09	- 0.16	
	G.P.		18.13		18.02		17.84		18.2	

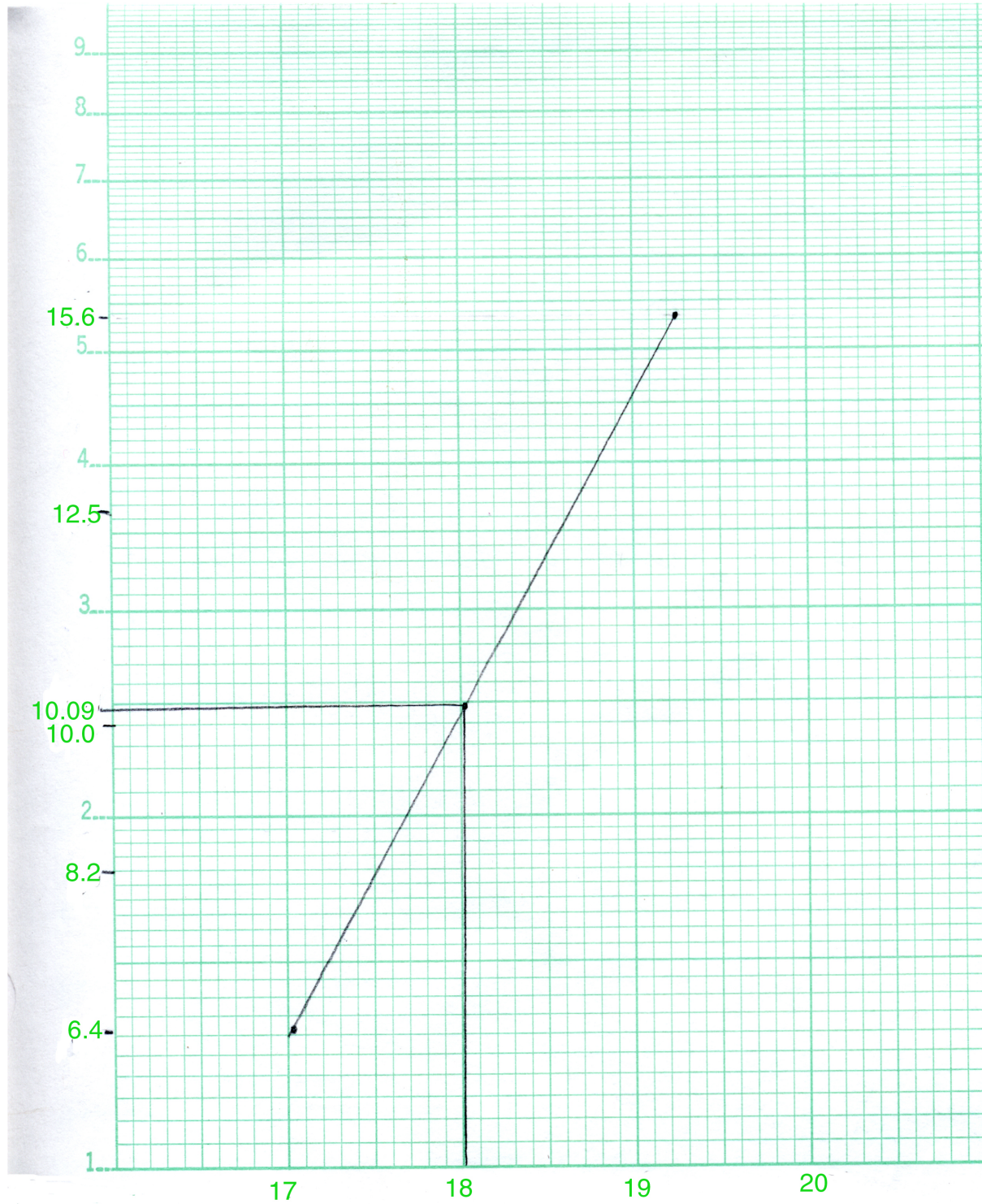
ANEXO No. 9

CUADRO DE DATOS Y RESULTADOS DE POTENCIA PARA LA CURVA DE GENTAMICINA SULFATO MUESTRA.

No. De PLACA	LECTURA DE No. DE HALOS (nm)	M (-----) S	
		1	3
		INICIO	10.0
1	1	17.6	18.6
	2	18.0	18.0
	3	18.0	18.0
2	4	18.0	17.6
	5	17.8	18.0
	6	18.8	19.4
3	7	18.2	18.4
	8	18.0	18.0
	9	18.6	18.0
C A L C U L O S	Σ	163.0.	164.0
	MEDIA	18.11	18.22
	MEDIA CORREGIDA	17.93	0.11
	G.P.	18.04	

ANEXO No.10

Curva de calibración de gentamicina sulfato; colirio "A"



Semi-logarithmic
2 Cycles x 10 to the inch

ANEXO No.11

INFORME DE ANÁLIS DE MATERIA PRIMA Y ESTÁNDARES

MATERIA PRIMA: DISODIO EDETATO (EDTA)

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACION	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo cristalino blanco, inodoro	Polvo cristalino blanco, inodoro
Solubilidad	Soluble en 11 partes de agua, ligeramente soluble en etanol (96%).insoluble en CHCl ₃	Soluble en agua, insoluble en alcohol
Identificación	Sodio presente literal "A"	Cumple
pH	Entre 4.0 - 5.5 solución 5.0 %	4.55
pH	Entre 4.0 - 5.5 solución 5.0 %	4.55
Ensayo	No < 98.0 % de C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ , 2H ₂ O	98.0 %
Microbiología	Limites microbianos	Cumple
Calcio	No se forma precipitado	Cumple

MATERIA PRIMA: SODIO FOSFATO DIBASICO ANHID. USP XXII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Cristales o polvo granular en color blanco, eflorece en caliente y es estable en el aire.	Polvo blanco, inodoro.
Solubilidad	Libremente soluble en agua muy ligeramente soluble en alcohol.	Soluble en agua, insoluble en alcohol.
Identificación	A) Fosfatos, B) Cloruros, C) Sulfatos.	Cumple.
Perdida por secado	Secar a 105 ° C por 3 horas: pierde no más de 5.0% de su peso.	0.080%
pH	Entre 8.0 - 9.1 solución 1.0 %	8.42
Ensayo	No menos de 98.0% y no más de 100.5 %	99.58 %

MATERIA PRIMA: DISODIO FOSFATO MONOBÁSICO ANHIDRO

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo cristalino blanco o cristales incoloros, inodoro y ligeramente deliquescente.	Cristales incoloros, transparentes, inodoro.
Solubilidad	Libremente soluble en agua insoluble en alcohol.	Cumple
Identificación	Sodio y Fosfatos presentes	Cumple
pH	Entre 4.1 - 4.5	4.36
Aluminio, Ca. y elementos relacionados	Sln. 1:10 más amoniaco TS: no hay turbidez	
Perdida por secado	Secado en estufa a 105 ° C: pierde entre 19.0% y 21.0% de su peso.	19.64%
Ensayo	No < 98.0 % y no >103.0% de NaH ₂ PO ₄ en B.S.	98.89 %
Prueba de sulfatos	Ausente	Cumple

MATERIA PRIMA: TIMOLOL MALEATO USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXII PAG. 1376 Y 1846		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo blanco o prácticamente blanco, inodoro	Polvo cristalino blanco, inodoro.
Solubilidad	Libremente soluble en agua, en alcohol y metanol, ligeramente soluble en cloroformo, insoluble en éter.	Soluble en agua y alcohol.
Identificación	Espectro en U.V. a 294nm. Usando excedente a 0.5%	Cumple.
Perdida por secado	Secado al vacío por 3 horas no debe exceder a 0.5%	0.030%
pH	Entre 3.8 - 4.3	3.96
Ensayo	No menos de 98.0% y no más de 101.0 %	100.35 %
Claridad y color de solución	Solución clara.	Cumple.

MATERIA PRIMA: BENZALCONIO CLORURO PASTA GELATINOSA

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Gel espesa o piezas gelatinosas, blanco amarilloso. Usualmente tiene un suave olor aromático.	Líquido incoloro; olor característico.
Solubilidad	Muy soluble en agua y alcohol.	Cumple
Identificación	Espectro en U.V. a 262nm. Usando agua destilada como solvente	Cumple.
Aminas extrañas	Ausentes.	Cumple
Materia insoluble en agua	Ausente.	Cumple
Ensayo	No menos de 97.0% y no más de 103.0 % de cloruro de benzalconio base seca	98.48 %
pH	7.60	7.88
Cloruro mercúrico	Se forma un precipitado blanco.	Cumple

MATERIA PRIMA: GENTAMICINA SULFATO USP 1993.

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo blanco o color crema	Polvo color crema, suave; inodoro.
Solubilidad	Soluble en agua, prácticamente insoluble en alcohol 96%, cloroformo y éter.	Cumple.
Acidez	Entre 3.5 - 5.5	4.17
Perdida por secado	Secado al vacío por 3 horas no debe exceder a 0.5%	0.030%
Ensayo	No menos de 590 µg / mg de gentamicina sulfato base seca.	693 µg / mg
Perdida por secado	No más del 18%, secado por 3 horas al vacío	0.15%
Claridad y color de solución	Se produce una solución clara.	Cumple.

MATERIA PRIMA: BORAX USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Cristales incoloros o transparentes o polvo blanco cristalino, inodoro, en solución es alcalina con fenolftaleína.	Polvo blanco fino, arenoso al tacto, inodoro.
Solubilidad	Soluble en agua , insoluble en alcohol.	Cumple.
Identificación	A) Sodio y borato: presente. B) Carbonato y bicarbonato: ausente	Cumple.
Ensayo	No menos de 99.0% y no más de 105.0 % de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	101.57 %
pH	Solución 5%. 9.0 - 9.6	9.58
Carbonato y bicarbonato	No debe ocurrir efervescencia	Cumple.
Cloruros y sulfatos	Ausente	Cumple.

MATERIA PRIMA: PROPIL PARABEN USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo blanco o pequeños cristales incoloros	Polvo color crema, fino; inodoro
Solubilidad	Muy ligeramente soluble en agua, libremente soluble en alcohol y éter , ligeramente soluble en agua hirviendo.	Insoluble en agua , soluble en alcohol.
Identificación	Espectro en U.V. a 255nm. aproximadamente en HCl 0.1N	Cumple.
Perdida por secado	No más de 0.5% secado sobre sílica gel por 5 horas	0.040%
Rango de fusión	Entre 95 ⁰ - 98 ⁰ C	95 ⁰ C
Ensayo	No menos de 99.0% y no más de 100.0 % de C ₁₀ H ₁₂ O ₃ en base seca	99.73 %
Acidez	Solución es ácida o neutra al litmus	Cumple.

MATERIA PRIMA: CLORANFENICOL BASE USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXI P-187,188,144; CLARK'S 2ª.ED.p.44		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Cristales como agujas, fino, blanco a blanco grisáceo o blanco amarillos.	Cristales en forma de agujas, ligeramente amarillento, inodoro.
Solubilidad	Ligeramente soluble en agua, libremente soluble en alcohol propilenglicol, acetona y etil acetato.	Insoluble en agua , soluble en alcohol y acetona.
Identificación	Absorción de luz a 278nm. En solución acuosa.	Cumple.
Perdida por secado	Secado a 105 °C a peso constante: pierde no más de 0.5% de su peso.	0.020%
Punto de fusión	Entre 149 ⁰ - 153 ⁰ C	150 °C
Ensayo	No menos de 97.0% y no más de 103.0 % de cloranfenicol.	99.83 %
Acidez	No más de 1.0 mL.	Cumple (0.1 ml)
pH	Entre 4.5 - 7.5	4.78

MATERIA PRIMA: NAFAZOLINA HCl. BP 1993

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXI P. 543 Y1143		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo cristalino blanco, inodoro con sabor amargo.	Polvo cristalino blanco, inodoro, suave al tacto.
Solubilidad	Ligeramente soluble en agua y en alcohol, muy ligeramente soluble en cloroformo, prácticamente insoluble en éter.	Soluble en agua y alcohol, insoluble en cloroformo y éter.
Identificación	Literal "B" y "C"	Cumple.
Perdida por secado	No más de 0.5% secado a 105 ⁰ C por 2 horas	0.34%
Punto de fusión	Aproximadamente 255 ⁰ C con descomposición	262 ⁰ C
Ensayo	No menos de 98.0% y no más de 105.0 % de C ₁₄ H ₁₄ N ₂ . HCl. calculado en base seca	99.42 %
pH	Entre 5.0 y 6.6 en una solución 1:100 en agua libre de dióxido de carbono y la solución es clara e inodora	6.30

MATERIA PRIMA: SODIO CLORURO USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXI ,P.966 Y 1475		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Cristales cúbicos incoloros o polvo cristalino blanco, sabor salino.	Cristales incoloros, inodoro.
Solubilidad	Libremente soluble en agua, ligeramente más soluble en agua hirviendo, ligeramente soluble en alcohol.	Soluble en agua ,insoluble en alcohol.
Identificación	Sodio y cloruro presente.	Cumple.
Perdida por secado	Secado a 105 ⁰ C por 2 horas : pierde no más de 0.5% de su peso.	0.010%
Sulfatos	No mayor al estándar de H ₂ SO ₄ 0.02N	Cumple
Ensayo	No menos de 99.0% y no más de 101.0 % de cloruro de sodio.	99.85 %
Bario	Solución clara.	Cumple.

MATERIA PRIMA: HIDROXIPROPIL METIL CELULOSA USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo granulado o fibroso blanco o ligeramente blanco.	Polvo color crema, fino suelto, inodoro.
Solubilidad	Insoluble en alcohol, eter y cloroformo.	Cumple.
Identificación	Literal "B" y "C"	Cumple.
Perdida por secado	Secado a los 105 °C por 2 horas: pierde no más de 5.05% de su peso.	1.66%
Viscosidad	No menor al 80.0% y no mayor al 120.0%, para la que rotula 100 cps o menos; y no menor al 75.0% y no mayor al 140.0% para el que rotula mayor a 100cps.	38.21 cps.
pH	Entre 5.5 - 8.0 solución al 1.0 % en agua	6.44
Microbiológico	Limites microbianos.	Cumple.

MATERIA PRIMA: ANTOZOLINA FOSFATO USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXII- P.98 -1809		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Polvo cristalino blanco o casi blanco, sabor amargo.	Polvo blanco, suave al tacto, inodoro.
Solubilidad	Soluble en agua, lentamente soluble en etanol, prácticamente insoluble en benceno o eter.	Soluble en agua , insoluble en alcohol.
Identificación	El espectro IR. de una dispersión en aceite mineral, exhibe maximo a la misma que el estandar.	Cumple.
Perdida por secado	Secado a 105 ⁰ C por 4 horas: pierde no más de 0.5% de su peso.	0.050%
Punto de fusión	Entre 194 ⁰ C- 198 ⁰ C con descomposición.	196 ⁰ C
Ensayo	Contiene no menos de 98.0% y no más de 101.0% en base seca.	99.37 %
pH	Entre 4.0- 5.0	4.36

MATERIA PRIMA: ACIDO BORICO USP XXIII

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Cristales o polvo cristalino blanco brillante, inodoro y untuoso al tacto.	Polvo blanco, fino, suave al tacto, inodoro.
Solubilidad	Soluble en agua, libremente insoluble en alcohol.	Soluble en agua, insoluble en alcohol.
Identificación	Responde a prueba para boratos	Cumple.
pH	Entre 3.8 - 4.8	4.73
Solubilidad en alcohol	1 g. En 10 mL de alcohol	Cumple
Ensayo	No menos de 99.5% y no más de 100.5 % de H ₃ BO ₃ en base seca	99.66 %
Perdida por secado	Secado sobre sílica gel por 5 horas : pierde no más de 0.5 % de su peso	0.030 %

MATERIA PRIMA: ALCOHOL POLIVINILIVO

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII, P.1248 Y 2103		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Gránulos o polvo blanco o amarillo pálido, inodoro.	Gránulos blancos coloreados a crema, inodoro.
Solubilidad	Libremente soluble en agua.	Soluble en agua caliente, insoluble en alcohol.
pH	Entre 5.0 - 8.0 (una solución 1:25)	5.89
Perdida por secado	Secado a 110 °C en estufa a peso constante: pierde no más de 5.0% de su peso.	4.02 %

MATERIA PRIMA: METIL PARABEN

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Pequeños cristales incoloros o polvo cristalino blanco, inodoro o con ligero olor.	Polvo cristalino blanco, fino, inodoro.
Solubilidad	Ligeramente soluble en agua, benceno, tetracloruro de carbono, libremente soluble en alcohol y éter.	Insoluble en agua, soluble en etanol.
Identificación	Espectro en U.V. a 257nm. Aproximadamente.	Cumple.
Perdida por secado	No más de 0.5% secado sobre sílica gel por 5 horas	0.26%
Punto de fusión	Entre 125 ⁰ – 128 ⁰ C	125 ⁰ C
Ensayo	No menos de 99.0% y no más de 100.5 % de C ₈ H ₈ O ₃ .	99.56 %
Claridad y color de solución	No más de 0.5% solución clara	Cumple.
Acidez	Ausente	Cumple.

MATERIA PRIMA: POLIETILENGLICOL 300

METODO ANALÍTICO DE REFERENCIA: USP XXIII - BP 93		
DETERMINACIÓN	ESPECIFICACIONES	RESULTADO
Descripción:	Líquido viscoso claro, incoloro o prácticamente incoloro, tiene ligero olor característico	Líquido incoloro, viscoso, ligero olor característico
Solubilidad	Miscible con agua, con etanol 96% y con glicoles, prácticamente insoluble en éter	Cumple
pH	Entre 4.0 - 7.0 (una solución 5%)	5.13
Gravedad específica	Aproximadamente entre 1.120 – 1.130	1.1253 g/mL

PUREZA DE ESTANDARES

MATERIA PRIMA COMO ESTÁNDAR	PUREZA
CLORANFENICOL BASE	98.23%
ANTAZOLINA FOSFATO	99.35%
NAFAZOLINA CLORHIDRATO	99.42%
TIMOLOL MALEATO	98.79%
GENTAMICINA SULFATO	693µg/ mg

ANEXO No.12

Material y equipo, reactivos

Material

- Agitadores de vidrio y magnetos.
- Asa de platino.
- Balones volumétricos de 10.0 mL, 25.0 mL, 50.0 mL, 100.0 mL, 200.0 mL, 250.0 mL, 500.0 mL, 1000.0 mL.
- Baño maría.
- Cajas petri de 20 x 100 mm.
- Cubre objetos.
- Embudos.
- Erlenmeyer de 100 mL, 250 mL, y 500 mL.
- Espátula.
- Frascos estériles de vidrio.
- Gabacha.
- Gasa estéril.
- Gorro.
- Gradilla.
- Guantes.
- Jeringas.

- Mechero Bunsen.
- Membrana filtrante de 0.2 μ m .
- Micro espátula.
- Papel filtro No. 40.
- Papel kraft.
- Papel toalla.
- Perlas de ebullición estériles.
- Pipeta de 1.0 mL y 10.0 mL estériles.
- Pipeta volumétrica de 2.0 mL, 3.0 mL, 5.0 mL, 10.0 mL y 25.0 mL.
- Pipetas Pasteur estériles.
- Pipeteador.
- Plumones.
- Probetas de 5 mL, 10 mL, 25 mL, 100 mL.
- Termómetro.
- Tijeras.
- Tirro.
- Vaso de precipitados de 50 mL, 100 mL y 250 mL.
- Vidrio reloj.

Equipo

- Autoclave. Yamato sterizer sm 510.
- Balanza analítica. Marca Mettler AE 160.

- Cromatógrafo líquido de alta presión (HPLC), WATER 2690 alliance separation module, WATER 996 photo diode array detector.
- Cuenta Colonias Quebec. Darkfield colony counter Reichert – jung.
- Equipo de filtración por membrana. Filtro SLK7002 DFLP sterilizing filter 0.2µm
- Espectrofotómetro uv – vis, Lambda 2, PERKIN ELMER.
- Estufa climatizada, CARBINET LHL – 112.
- Hot Plate / Stirrer. Hot top power Corning.
- Incubadora. Blue M A UNIT OF GENERAL SIGNAL B – 2730 - Q.
- Llenadora Filamatic, National Instrumento CO PALTIMORE MD 21215.
- Microscopio. Nikon, modelo YS2 – T.
- Osmómetro. WESCOK 5520.
- pHmetro 220, CORNING.
- Refrigeradora. Kelvinator scientific.

Reactivos

- Ácido acético glacial.
- Ácido bórico.
- Ácido cítrico.
- Ácido sulfúrico.
- Agua destilada.
- Agua para inyectables.
- Alcohol polivinílico.

- Bicarbonato de sodio.
- Citrato sódico.
- Cloranfenicol.
- Cloranfenicol RS.
- Clorhidrato de nafazolina.
- Clorhidrato de nafazolina RS.
- Cloruro de benzalconio.
- Cloruro de sodio.
- Disodio Edetato.
- Fosfato de antazolina.
- Fosfato de antazolina RS.
- Fosfato disódico.
- Hidroxipropilmetil celulosa.
- Medio fluido de tioglicolato con polisorbato 80.
- Medio fluido de tioglicolato.
- Metanol.
- Metilcelulosa.
- Polivinilpirrolidona.
- Propilenglicol.
- Sulfato de gentamicina.
- Sulfato de gentamicina RS.
- Sulfato de polimixina.

- Sulfato dibásico de sodio.
- Sulfato monobásico de sodio.
- Tetraborato de sodio.
- Timolol maleato.
- Timolol maleato RS.