

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



PROPUESTA DE VALIDACION Y COMPARACION DE DOS METODOLOGIAS
ANALITICAS PARA LA CUANTIFICACION DE SILDENAFIL CITRATO EN
TABLETAS DE 50 mg Y 100 mg

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR
RICARDO ALEXIS REYES VELASQUEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

JULIO 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

SECRETARIO

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

**ASESORA DE AREA EN: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS Y COSMÉTICOS**

MSc. Rocío Ruano de Sandoval

**ASESOR DE AREA EN: CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS Y COSMÉTICOS**

MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía

DOCENTES ASESORAS

Licda. Rosa Mirian Rivas de Lara

Licda. Ana Ingrid Morazán Chávez

AGRADECIMIENTOS

A nuestro creador por darme salud y la sabiduría para llegar hasta este punto de mi vida académica y sobre todo por darle salud y la fuerza a mi abuela y a mi madre.

A mi abuela Ana Arely Velásquez y mi madre Vicky Carolina Reyes por todos sus esfuerzos, sacrificios, paciencia, dedicación y fortaleza; ya que ellas han sido el motor de todo este proceso, por creer en mí y en este sueño que vemos que se convierte en realidad; y por estar incondicionalmente acompañándome a lo largo de mi vida.

A mi novia Mónica Melissa Rivas Jiménez por apoyarme y animarme en los momentos más difíciles por los que atravesé, por ser una excelente compañera de estudio, por empujarme a crecer cada día más a tal grado que gran parte de mi desempeño como profesional y como persona se lo debo a ella.

Al Laboratorio Farmacéutico Nacional por darme la oportunidad de realizar un estudio como este y proporcionarme todas las condiciones para llevarlo a cabo en estos meses.

A la Licenciada Rosa Mirian Rivas de Lara por ser una ayuda y guía muy acertada, y realmente sin sus intervenciones no hubiese podido ejecutar y finalizar este proceso.

Al tribunal calificador MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, MSc. Rocío Ruano de Sandoval y MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía; en primer lugar, por sus enseñanzas a lo largo de mi formación académica, en segundo lugar, por todas sus observaciones y aportes en desarrollo de esta investigación.

A la familia Romero Chávez, quienes me apoyaron de gran manera en los momentos que más lo necesite en todos estos años en mi paso por la Universidad.

A la Asociación General de Estudiantes de Química y Farmacia Doctor Benjamín Orozco por ser una escuela de aprendizaje de la vida y por todos los buenos momentos que compartí siendo parte de ella.

DEDICATORIA.

A mi familia,

Dedico este logro a todos los que formamos parte de ella, ya que sentí ese apoyo y empuje para seguir adelante en todos los años y procesos por los que pasé a lo largo de mi vida universitaria, y por sus sacrificios para ver este sueño hecho realidad, ya que en ningún momento dudaron que podríamos lograrlo.

A mis compañeros de trabajo,

Les dedico gran parte de este logro ya que fueron ellos quienes me ayudaron hacer más fácil el proceso de inserción al mundo laboral. A todos les aprecio y les agradezco por su paciencia y enseñanzas.

INDICE GENERAL

	Pág. N°
Capítulo I	
1.0. Introducción	xiv
Capítulo II	
2.0. Objetivos	
Capítulo III	
3.0. Marco Teórico	19
3.1. Sildenafil Citrato	19
3.1.1. Generalidades	19
3.1.2. Mecanismo de acción del Sildenafil	19
3.1.3. Otros usos farmacológicos del Sildenafil	20
3.2. Método analítico	21
3.2.1. Método analítico desarrollado internamente	21
3.2.2. Método analítico farmacopéico	21
3.2.3 Método analítico farmacopéico modificado	21
3.3. Pruebas de identificación espectrofotométrica.	21
3.3.1. Espectrofotometría UV	22
3.3.2. Aparatos	22
3.4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución.	23
3.4.1. Aparato	23
3.4.2. Sistema de bombeo	23
3.4.3. Inyectores	24
3.4.4. Columnas	24
3.4.5 Detectores	25
3.4.6. Procedimiento	27
3.4.7 Procedimiento general de uso	28
3.5. Validación	28

3.5.1. Procedimientos analíticos que son objeto de validación	28
3.5.2. Robustez	30
3.5.3 Estabilidad	31
3.5.4 Selectividad / Especificidad	32
3.5.5 Precisión	33
3.5.6 Linealidad	33
3.5.7 Exactitud	35
3.5.8 Límite de Detección y Límite de Cuantificación	36
3.5.9 Documentación	37
Capítulo IV	
4.0. Diseño metodológico	39
4.1 Tipo de estudio	39
4.2 Investigación bibliográfica	39
4.3 Investigación de campo	39
4.4 Parte experimental	42
4.4.1 Protocolos de validación de metodologías analíticas	42
Capítulo V	
5.0 Resultados y discusión de resultados	44
5.1 Protocolos de validación	49
5.2 Validación	100
5.3 Informes de Validación	121
5.4 Comparación de metodologías analíticas	141
5.5 Determinar si existe diferencia significativa en el uso de las metodologías Espectrofotometría UV y Cromatografía líquida HPLC para la cuantificación de Sildenafil Citrato	143
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	145

Capítulo VII

7.0 Recomendaciones

148

Bibliografía

Glosario

Anexos

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Estructura de la molécula de Sildenafil citrato	19
2	Mecanismo de acción del Sildenafil	20
3	Diagrama en bloque del Espectrómetro Ultra Violeta	22
4	Diagrama en bloque del Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño	28

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos físico-químicos y potencia microbiológica	30
2	Resultados de la prueba de Robustez UV	100
3	Resultados de la prueba de Estabilidad UV	101
4	Resultados de Selectividad/ especificidad UV	103
5	Resultados de la prueba de Precisión del sistema UV	104
6	Resultados de prueba de Linealidad del sistema UV	105
7	Cálculos del porcentaje de recobro UV	106
8	Resultados de la prueba de Linealidad del método UV	107
9	Resultados de la prueba de Repetibilidad 1 y 2 UV	108
10	Resultados de la prueba de Precisión intermedia UV	109
11	Resultados de la prueba de Robustez de Sildenafil Citrato 50 mg HPLC	110
12	Resultados de la prueba de Robustez de Sildenafil Citrato 100 mg HPLC	111
13	Resultados de la prueba de Estabilidad HPLC	112
14	Resultados de la prueba de Selectividad/ Especificidad. HPLC	114
15	Resultados de la prueba de Precisión del sistema HPLC	115
16	Resultados de Linealidad del sistema HPLC	116
17	Cálculos de porcentaje de Recobro HPLC	117
18	Resultados de la prueba de Linealidad del método HPLC	118

19	Resultados de la prueba de Repetibilidad 1 y 2 HPLC	119
20	Resultados de la prueba de Precisión intermedia HPLC	120
21	Resumen de prueba F de Fisher, para la comparación de dos metodologías analíticas	141

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Formato de protocolo de validación de metodologías analíticas
- 2 Fórmulas matemáticas utilizadas para el cálculo de los parámetros de validación
- 3 Formato de hojas de cálculo para la validación

Reglamento técnico centroamericano. productos farmacéuticos.
4 medicamento de uso humano. verificación de la calidad. RTCA
11.03.47:07
- 5 Ejemplo de espectro de absorción ultra violeta de la prueba de linealidad del sistema
- 6 Cromatograma de la prueba de aptitud del sistema
- 7 Hoja de cálculo para comparación de métodos analíticos por espectrofotometría ultra violeta visible y cromatografía líquida de alto desempeño
- 8 Monografía de Sildenafil Citrato tabletas

Determinación de selectividad/ especificidad según la guía de
9 validación de métodos analíticos AEFI 2001

RESUMEN

El objetivo de realizar esta investigación fue proponer una validación y comparación de dos metodologías analíticas para la cuantificación de Sildenafil Citrato en tabletas de 50 mg y 100 mg efectuándose en las instalaciones de un Laboratorio Farmacéutico Nacional ubicado en la ciudad de Antigua Cuscatlán del departamento de La Libertad, en los meses de diciembre del 2018 y enero del 2019.

Se realizaron los protocolos de validación de las metodologías analíticas fisicoquímicas por Espectrofotometría de Absorción Ultravioleta y por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño, en los cuales se establecieron los procedimientos, parámetros de desempeño a evaluar y sus especificaciones, preparación de reactivos, materiales y equipos a utilizar. Las pruebas de validación realizadas fueron: Robustez, Estabilidad, Selectividad/Especificidad, Precisión del sistema, Linealidad del sistema, Linealidad del método, Exactitud, Repetividad y Precisión intermedia.

Los resultados obtenidos de ambos métodos se compararon haciendo uso de la Prueba F de Fisher del software Excel 2016, en el cual se concluye que la metodología por Cromatografía Líquida de Alto desempeño es más Selectiva, Precisa y Exacta para la determinación de Sildenafil Citrato en Tabletas de 50 mg y 100 mg. Se recomienda al Laboratorio Farmacéutico Nacional realizar la transferencia tecnológica y calificación técnica al personal Análisis Fisicoquímico de Producto Terminado para la utilización correcta y adecuada de esta metodología.

Este trabajo de investigación está basado en el Procedimiento interno de validación de metodologías analíticas fisicoquímicas del Laboratorio Farmacéutico Nacional, guía de validación de métodos fisicoquímicos del Organismo de Salvadoreño de Acreditación, guía de validación de los Químicos Farmacéuticos Biológicos de México y la guía de validación de métodos analíticos de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0. INTRODUCCION

Tomando como referencia el RTCA de Productos Farmacéuticos. Medicamentos de Uso Humano. Verificación de la Calidad 11.03.47:07 que define la calidad de un producto farmacéutico como la naturaleza esencial de éste y la totalidad de sus atributos y propiedades, las cuales determinan su idoneidad para los propósitos a los cuales se destina. Por lo que es responsabilidad de todo laboratorio de fabricación y venta de medicamentos garantizar que el producto llegue hasta al consumidor final con todos los atributos de identidad, pureza, concentración, potencia, inocuidad y disponibilidad. Para la medición de estos atributos se debe contar con una técnica o metodología de análisis; pudiendo emplearse una farmacopéica o bien puede ser desarrollada internamente por el laboratorio de análisis químico.

Toda medición realizada debe cumplir estrictamente con el atributo de Confiabilidad, lo cual quiere decir que los resultados que se produzcan sean válidos y coherentes con el objetivo previsto. La validación de métodos analíticos demostró mediante evidencia objetiva que los métodos por Espectrofotometría Ultravioleta y Cromatografía Líquida de Alto Desempeño son fiables y reproducibles para la obtención de los resultados que se esperaban. Ambas metodologías cumplen con los siguientes parámetros de validación: Linealidad del sistema, precisión del sistema, precisión del método, precisión intermedia, exactitud del método, y especificidad del método.

El propósito de realizar ésta investigación fue validar y comparar dos metodologías analíticas para la valoración de Sildenafil citrato en tabletas de 50 mg y 100 mg fabricadas por un Laboratorio Farmacéutico Nacional, las pruebas de validación se realizaron empleando un Espectrofotómetro Ultra Violeta marca SHIMADZU modelo UV-1800 y un Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño (HPLC por sus siglas en inglés) marca SHIMADZU modelo LC-2030.

La investigación se llevó a cabo en los meses de diciembre del año 2018 a enero del año 2019; y en las instalaciones de un Laboratorio Farmacéutico Nacional ubicado en la ciudad de Antigua Cuscatlán del departamento de La Libertad, y se ejecutó en tres fases, la primera de ellas fue la realización de las pruebas de desempeño de validación para ambas metodologías según el programa y procedimiento interno de validación establecido por el Laboratorio Farmacéutico Nacional; la segunda fase se realizó comparando los resultados obtenidos de la validación de ambos métodos y se empleó el estadístico de Prueba F de Fisher del software Excel 2016, en el cual se concluye que la metodología por Cromatografía Líquida de Alto desempeño es más Selectiva, Precisa y Exacta para la determinación de Sildenafil Citrato en Tabletas de 50 mg y 100 mg, por lo que se recomienda al Laboratorio Farmacéutico Nacional realizar la transferencia tecnológica y calificación técnica al personal Análisis Físicoquímico de Producto Terminado para la utilización correcta y adecuada de esta metodología.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Proponer una validación y comparación de dos metodologías analíticas para la cuantificación de Sildenafil citrato en tabletas de 50 mg y 100 mg.

2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Elaborar los protocolos para la validación de Sildenafil citrato tableta mediante los métodos de Espectrofotometría Ultra Violeta y Cromatografía Líquida de Alto Desempeño.
- 2.2.2. Evaluar los parámetros de desempeño de validación en las metodologías de Espectrofotometría Ultra Violeta y Cromatografía Líquida de Alto Desempeño, para la cuantificación de Sildenafil citrato en tabletas de 50 mg y 100 mg
- 2.2.3. Redactar los informes de validación para cada uno de los métodos en estudio.
- 2.2.4. Comparar los resultados de los parámetros de desempeño de validación de metodologías analíticas mediante uso del estadístico de prueba "F de Fisher"
- 2.2.5. Determinar si existe diferencia significativa en el uso de una u otra metodología para la cuantificación de Sildenafil citrato en tabletas de 50 mg

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0. MARCO TEORICO

3.1. Sildenafil Citrato.

3.1.1. Generalidades. (2)

Formula molecular: $C_{22}H_{30}N_6O_4S \cdot C_6H_8O_7$

Nombre: Citrato de 1-[4-etoxi-3-(6,7-dihidro-1-metil-7-oxo-3-propil-1Hpirazol[4,3-d]pirimidin-5-il) fenilsulfonil]-4-metilpiperazina

Descripción: Polvo cristalino blanco o casi blanco, ligeramente higroscópico.

Solubilidad: Poco soluble en agua y en metanol; casi insoluble en hexano.

Punto de fusión: 187 – 189° C a 760 mm Hg

Punto de ebullición: 672.4° C a 760 mm Hg,

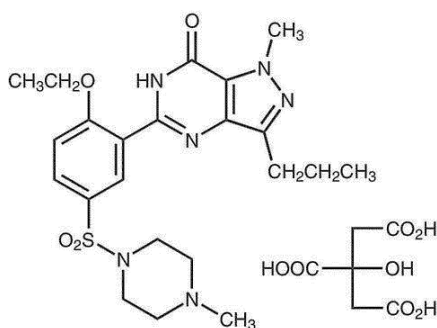


Figura N° 1. Estructura de la molécula de Sildenafil citrato.

3.1.2 Mecanismo de acción del Sildenafil. (1)

El óxido nítrico activa la guanilciclase, la cual eleva la concentración de Guanosin Monofosfato cíclico (cGMP) y este segundo mensajero estimula la defosforilación de las cadenas ligeras de la miosina y la relajación del músculo liso. Por lo tanto, cualquier fármaco que aumente el Guanosin Monofosfato cíclico

(cGMP) puede tener valor en la disfunción eréctil, si la inervación es normal. El Sildenafil incrementa el Guanosin Monofosfato cíclico (cGMP) porque inhibe su degradación mediante la isoforma 5 de la fosfodiesterasa (PDE-5). El fármaco ha tenido mucho éxito en el mercado porque puede tomarse por vía oral. Sin embargo, el Sildenafil tiene poco o ningún valor cuando la pérdida de la potencia se debe a lesión medular u otro daño en la inervación, así como en los varones carentes de libido. Además, el Sildenafil potencia la acción de los nitratos empleados para la angina; hay reportes de hipotensión grave y pocos infartos miocárdicos en varones que tomaron ambos fármacos.

Se recomienda que pasen al menos 6 horas entre el uso de un nitrato y la ingestión del Sildenafil. Este último también tiene efectos en la visión del color y produce dificultad para discriminar entre azul y verde

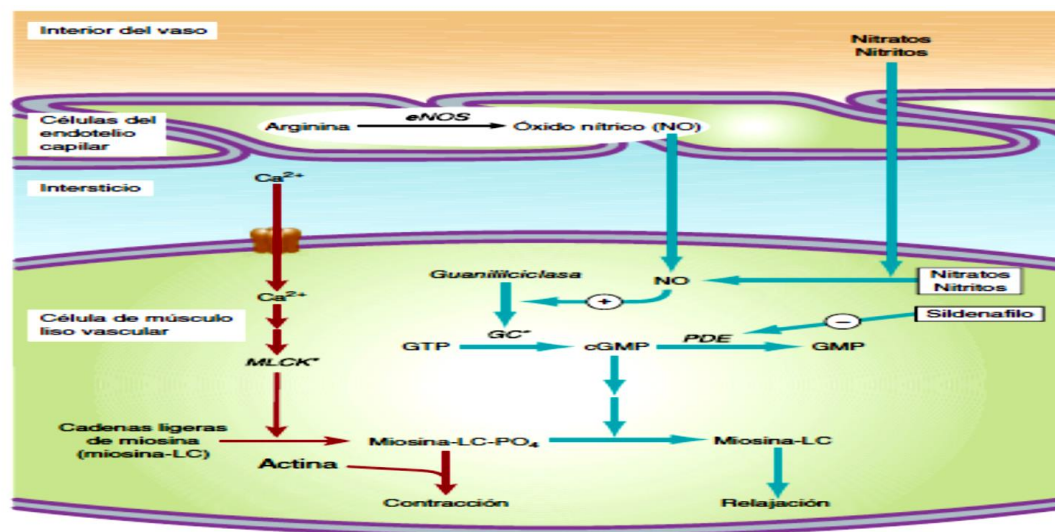


Figura N° 2. Mecanismo de acción del Sildenafil.

3.1.3 Otros usos farmacológicos del Sildenafil. (1)

Estudios clínicos muestran un beneficio distintivo en algunos pacientes con hipertensión arterial pulmonar, pero no en aquellos con fibrosis pulmonar

idiopática avanzada. Los fármacos tienen un posible beneficio en la hipertensión sistémica, fibrosis quística e hiperplasia prostática benigna.

Tanto el Sildenafil como el tadalafilo están aprobados para la hipertensión pulmonar. Estudios preclínicos sugieren que el Sildenafil puede ser útil en la prevención de la apoptosis y remodelación cardiaca después de la isquemia y reperfusión.

3.2. Métodos Analíticos. (6)

Descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir, para llevar a cabo a cabo el análisis de un componente específico en de la muestra.

3.2.1 Método analítico desarrollado internamente.

Método desarrollado por el propio laboratorio de análisis químico

3.2.2 Método analítico farmacopéico.

Método analítico que aparece descrito en cualquier edición o versión de cualquier farmacopea.

3.2.3 Método analítico farmacopéico modificado.

Método analítico que aparece descrito en cualquier edición o versión de cualquier farmacopea pero que se ha modificado para ser adaptado a las condiciones del laboratorio de análisis química.

3.3. Pruebas de identificación espectrofotométrica. (3)

Las pruebas espectrofotométricas son las de mayor importancia en la identificación de muchas de las sustancias químicas del compendio. Los procedimientos de prueba que se indican a continuación se aplican a sustancias que absorben radiación infrarroja (IR) y/o Ultra Violeta

3.3.1. Espectrofotetría UV. (3)

Es el procedimiento en el que una solución de prueba y una solución estándar se examinan espectrofotométricamente, en celdas de 1 cm, sobre el intervalo Espectral de 200 nm a 400 nm. Los requisitos se cumplen si los espectros de absorción UV de la solución de prueba y de la solución estándar presentan máximos y mínimos a las mismas longitudes de onda y los cocientes de asertividad y/o absorbancia están dentro de los límites especificados.

3.3.2 Aparatos. (3)

Están disponibles muchos tipos de espectrofotómetros. Fundamentalmente, la mayoría de ellos, excepto los empleados para espectrofotetría IR, proporcionan un pasaje de energía radiante esencialmente monocromática a través de una muestra en forma adecuada y una medición de la fracción de la intensidad que se transmite. Los espectrofotómetros UV, visibles e IR dispersivos comprenden una fuente de energía, un dispositivo de dispersión (por ejemplo, un prisma o red de difracción), ranuras para seleccionar la banda de longitud de onda, una celda o un soporte para la muestra de prueba, un detector de energía radiante, amplificadores asociados y dispositivos de medición.

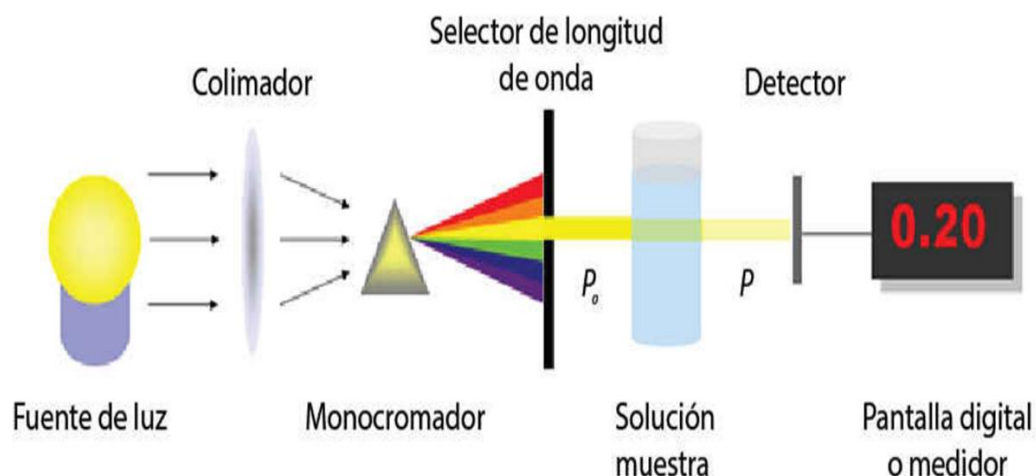


Figura N° 3. Diagrama en bloque del Espectrómetro Ultra Violeta

3.4. Cromatografía Líquida de Alta Resolución. (3)

La cromatografía de líquidos de alta presión (HPLC, por sus siglas en inglés), a veces llamada cromatografía de líquidos de alta resolución, es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. Las separaciones se logran por procesos de partición, adsorción o intercambio iónico, según el tipo de fase estacionaria empleada.

3.4.1 Aparato. (3)

Un cromatógrafo de líquidos consta de un recipiente que contiene la fase móvil, una bomba para forzar el paso de la fase móvil a través del sistema a alta presión, un inyector para introducir la muestra en la fase móvil, una columna cromatografía, un detector y un dispositivo de recolección de datos como, por ejemplo, una computadora, un integrador o un registrador. Las columnas cortas de diámetro interior pequeño que contienen un relleno denso de partículas de fase estacionaria permiten un intercambio rápido de los compuestos entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Además de recibir y reproducir las señales enviadas por el detector, las computadoras se emplean para controlar las operaciones y los parámetros cromatográficos y permiten periodos largos de operación sin necesidad de supervisión.

3.4.2 Sistema de bombeo. (3)

Los sistemas de bombeo de HPLC administran cantidades exactas de fase móvil desde los recipientes hasta la columna mediante una tubería y uniones adecuadas para altas presiones. Los sistemas modernos constan de una o varias bombas reguladoras controladas por computadora que pueden programarse para variar la relación entre los componentes de la fase móvil, según se requiera para la cromatografía en gradiente, o para mezclar la fase móvil en corridas isocráticas (es decir, fases móviles que tienen una composición fija de disolventes). Sin

embargo, la proporción de los ingredientes en las fases móviles isocráticas mezcladas previamente puede ser controlada con mayor exactitud que en las suministradas por la mayoría de los sistemas de bombeo.

Las presiones operativas son típicamente de hasta 5000 psi o más, con velocidades de flujo de hasta aproximadamente 10 mL por minuto.

Las bombas empleadas para el análisis cuantitativo deben construirse con materiales inertes a los componentes corrosivos de la fase móvil y ser capaces de bombear la fase móvil a una velocidad constante, con fluctuaciones mínimas, durante periodos de tiempo prolongados.

3.4.3 Inyectores. (3)

Después de ser disueltos en la fase móvil u otra solución apropiada, los compuestos que se van a cromatografiar se inyectan en la fase móvil, ya sea manualmente usando jeringas o inyectores de espiral o automáticamente mediante el uso de inyectores automáticos.

Algunos inyectores automáticos pueden programarse para controlar el volumen de muestreo, el número de inyecciones y los ciclos de enjuague del espiral, el intervalo entre las inyecciones y otras variables operativas.

Se puede emplear una jeringa para la inyección manual de las muestras a través de un septo cuando las presiones en la parte superior de la columna sean menores de 70 atmósferas (aproximadamente 1000 psi). Con presiones mayores, es indispensable utilizar una válvula de inyección.

Algunos sistemas de válvula poseen un espiral calibrado que se llena con solución de muestra para transferirla a la columna en la fase móvil. En otros sistemas, la solución de muestra se transfiere a una cavidad por medio de una jeringa y luego se transfiere a la fase móvil.

3.4.4. Columnas. (3)

Para la mayoría de los análisis farmacéuticos, la separación se logra por la partición de los compuestos presentes en la solución de prueba entre la fase móvil y la estacionaria.

Los sistemas que constan de fases estacionarias polares y fases móviles no polares se describen como de fase normal, mientras que, por el contrario, cuando se emplean fases móviles polares y fases estacionarias no polares se denomina cromatografía en fase reversa. La cromatografía de partición casi siempre se emplea para compuestos solubles en hidrocarburos de peso molecular menor de 1000.

La afinidad de un compuesto por la fase estacionaria, y por consiguiente su tiempo de retención en la columna, se controla mediante una fase móvil más o menos polar. La polaridad de la fase móvil se puede variar mediante el agregado de un segundo y, a veces, un tercer o hasta un cuarto componente. Por lo general, las columnas empleadas para las separaciones analíticas tienen diámetros internos de 2 mm a 5 mm; para la cromatografía preparativa se emplean columnas de diámetros más grandes.

Las columnas pueden calentarse para proporcionar separaciones más eficaces, pero rara vez se las utiliza a temperaturas por encima de los 60°C, debido a la potencial degradación de la fase estacionaria o a la volatilidad de la fase móvil. A menos que se especifique algo diferente en la monografía individual, las columnas se emplean a temperatura ambiente.

3.4.5 Detectores. (3)

Muchos métodos farmacopéicos de HPLC requieren el uso de detectores espectrofotométricos. Este tipo de detector consta de una celda de flujo colocada en el extremo de la columna. Un haz de radiación UV pasa a través de la celda de flujo y se introduce en el detector. A medida que los compuestos efluyen de la columna, pasan a través de la celda y absorben la radiación, lo que da lugar a

cambios cuantificables en el nivel de energía. Pueden obtenerse con facilidad detectores de longitud de onda fija, variable y múltiple.

Los detectores de longitud de onda fija operan a una sola longitud de onda, habitualmente a 254 nm, emitida por una lámpara de mercurio de baja presión. Los detectores de longitud de onda variable contienen una fuente de luz continua, como una lámpara de deuterio o de xenón de alta presión y un monocromador o un filtro de interferencia para generar radiación monocromática a una longitud de onda seleccionada por el operador.

Se debe controlar la exactitud de la longitud de onda de un detector de longitud de onda variable equipado con un monocromador mediante el procedimiento recomendado por el fabricante; si las longitudes de onda difieren en más de 3 nm de los valores correctos, se indica una recalibración del instrumento.

Los detectores modernos de longitud de onda variable pueden programarse para cambiar la longitud de onda mientras un análisis está en curso. Los detectores de longitud de onda múltiple miden la absorbancia a dos o más longitudes de onda simultáneamente.

En los detectores múltiples de red de diodos, la radiación continua se hace pasar a través de la celda de la muestra, luego la radiación se resuelve en las longitudes de onda que la constituyen, que son detectadas una por una mediante la red de fotodiodos. Estos detectores adquieren los datos de absorbancia a lo largo del intervalo total UV-visible y, por lo tanto, proporcionan al analista cromatogramas a múltiples longitudes de onda seleccionadas y espectros de los picos eluidos.

Los detectores de red de diodos tienen, por lo general, menor relación señal-ruido que los detectores de longitud de onda fija o variable y, por lo tanto, son menos aptos para el análisis de compuestos presentes a concentraciones bajas.

El detector debe tener un rango dinámico lineal amplio y los compuestos que se miden deben resolverse de cualquier sustancia que interfiera. El intervalo dinámico lineal de un compuesto es el intervalo en el que la respuesta de la señal del detector es directamente proporcional a la cantidad del compuesto.

3.4.6 Procedimiento. (3)

La composición de la fase móvil influye significativamente en el desempeño cromatográficos y en la resolución de los compuestos de la mezcla que se está cromatografiando. Para el trabajo cuantitativo exacto deben emplearse reactivos de alta pureza y disolventes orgánicos de “grado HPLC”.

El agua de calidad adecuada debe tener una conductividad baja y una absorción UV baja, adecuadas para el uso previsto.

Los sistemas de HPLC se calibran graficando las respuestas de los picos en función de concentraciones conocidas de un estándar de referencia, empleando un procedimiento de estandarización externa o interna.

Se obtienen resultados cuantitativos confiables mediante la calibración externa si se emplean inyectores automáticos o muestreadores automáticos.

Este método incluye la comparación directa de las respuestas de los picos obtenidos al cromatografiar, por separado, la solución estándar y la solución de prueba.

Si se debe emplear la inyección con jeringa, la cual es irreproducible a las altas presiones involucradas, se obtienen mejores resultados cuantitativos mediante el procedimiento de calibración interna donde una cantidad conocida de un compuesto no interferente, el estándar interno, se agrega a la solución de muestra y a la solución del estándar de referencia, y se comparan los cocientes entre las respuestas de los picos del fármaco y del estándar interno.

3.4.7 Procedimiento general de uso. (4)

1. Equilibrar la columna y el detector con la fase móvil a la velocidad de flujo especificada hasta obtener una señal constante.
2. Inyectar una muestra a través del inyector o usar un muestreador automático.
3. Comenzar el programa de gradientes.
4. Registrar el cromatograma.
5. Analizar según se indica en la monografía.

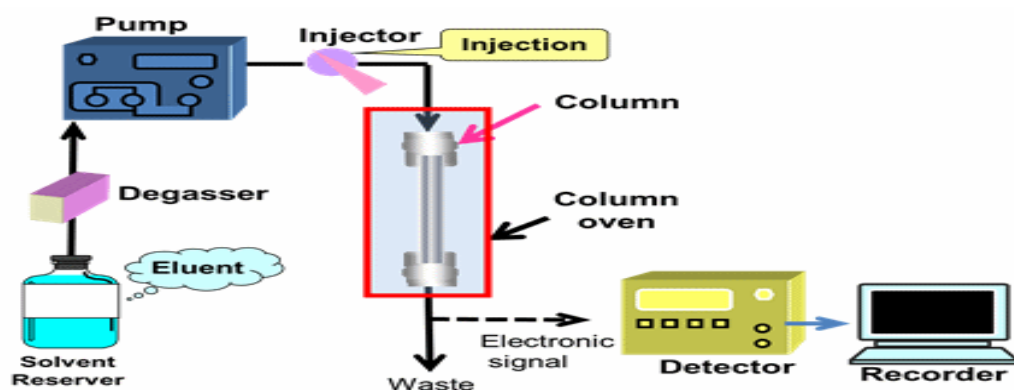


Figura N° 4. Diagrama en bloque del Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño

3.5. Validación. (8)

Establecimiento de la evidencia documental que un procedimiento analítico modificado o no farmacopéico conducirá con un alto grado de seguridad a la obtención de resultados precisos y exactos dentro de las especificaciones y atributos de calidad previamente establecidos.

3.5.1 Procedimientos analíticos que son objeto de validación. (8)

Las pruebas a ejecutar dependen del método, a los métodos farmacopéicos se les realizarán las pruebas de selectividad, exactitud y precisión intermedia y se considerarán como una verificación. A los métodos modificados o no

farmacopéicos se les realizan todas las pruebas necesarias y se consideraran como validaciones.

Se deben validar los siguientes procedimientos analíticos

Categoría I: pruebas cuantitativas del contenido del (los) principio(s) activo(s), constituyen procedimientos químicos o microbiológicos que miden el (los) analito(s) presente(s) en una muestra determinada.

Categoría II: pruebas para la determinación del contenido de impurezas o de valores límites para el control de impurezas.

Pueden ser pruebas cuantitativas o una prueba cualitativa para determinar si la impureza está presente en la muestra por encima o por debajo de un valor límite especificado.

Cualquiera de los dos pretende reflejar con exactitud las características de pureza de la muestra. Los parámetros de validación requeridos por una prueba cuantitativa son diferentes a los de una prueba cualitativa de cumplimiento de límite.

Categoría III: pruebas físico químicas de desempeño. Constituyen procedimientos de ensayo que miden características propias del desempeño del medicamento, por ejemplo, la prueba de disolución.

Las características de la validación son diferentes a las de las otras pruebas, aunque las pueden incluir

Categoría IV: pruebas de identificación. Aquellas que se realizan para asegurar la identidad de un analito en una muestra.

Esto normalmente se realiza por comparación de una propiedad de la muestra, contra la de un estándar de referencia, por ejemplo, espectros, comportamiento cromatográfico, reactividad química y pruebas microcristalinas.

Tabla N° 1 – Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos físico-químicos y potencia microbiológica

Categoría de prueba	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
Parámetro de desempeño	Principio (s) activo (s)	Prueba de límite Cuantitativa	Prueba límite Cualitativa	Físico Químico Desempeño	Identificación
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite de Detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite de Cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO

* Puede requerirse dependiendo de la naturaleza del ensayo

3.5.2 Robustez. (6)

La “robustez” de un procedimiento analítico es "una medida de su capacidad para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método. La robustez proporciona una indicación de la fiabilidad del método durante su uso normal”.

Un "ensayo de robustez" implica hacer cambios deliberados en el método, e investigar el efecto subsiguiente en el desempeño con lo que es posible identificar las variables en el método que tienen el efecto más significativo y garantizar que, cuando se utiliza el método, están controladas estrictamente.

Donde hay una necesidad de perfeccionar más el método, las mejoras se pueden probablemente hacer mediante la concentración en aquellas partes del método conocidas por ser críticas.

La robustez de un procedimiento debe ser establecida para los métodos de desarrollo interno, métodos adaptados de la literatura científica y los métodos publicados por organismos de normalización utilizados fuera del alcance especificado en el método estándar.

Cuando se utilizan métodos publicados por organismos de normalización dentro del alcance de aplicación del método, la robustez por lo general ha sido estudiada como parte del proceso de normalización.

Por lo tanto, un estudio de robustez se encuentra en la mayoría de los casos no necesariamente en el nivel de un solo laboratorio. La información sobre la robustez se debe indicar en el procedimiento del laboratorio en forma de los límites de tolerancia establecidos para los parámetros experimentales críticos.

3.5.3 Estabilidad. (5)

El analista debe establecer la etapa de análisis en la cual se desea evaluar la estabilidad, además de determinar si en dicha etapa es posible fraccionar (muestras dependientes) o no (muestras independientes) y las condiciones de almacenaje.

Muestras dependientes.

El analista debe procesar hasta la etapa preestablecida por lo menos por triplicado una muestra homogénea.

Fraccionar cada una de las preparaciones de acuerdo a las condiciones de almacenaje (Ambiente, Refrigeración, t °C, etc. durante un tiempo determinado) de interés.

Terminar el análisis de una de las fracciones de cada preparación. Proseguir el análisis de cada una de las fracciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, si el método contempla el uso de una solución de referencia. Reportar el resultado.

Muestras independientes.

A partir de una muestra homogénea, el analista debe analizar por triplicado hasta completar el análisis y obtener el resultado.

Simultáneamente y de la misma muestra, procesar el número de muestras necesarias para cada condición de almacenaje hasta la etapa preestablecida (preparaciones) por triplicado.

Proseguir el análisis de cada una de las preparaciones al término de cada condición de almacenaje, utilizando una solución de referencia recientemente preparada, si el método contempla el uso de una solución de referencia.

3.5.4 Selectividad / Especificidad. ⁽⁵⁾

Procedimiento de determinación de la selectividad.

En el estudio de la selectividad, como norma general se comparan los resultados del análisis de muestras con y sin analito en presencia o ausencia de impurezas, productos de degradación, sustancias relacionadas, excipientes (matriz o placebo), y dependiendo del tipo de muestra, tipo de técnica analítica, instrumento de medición.

Partiendo de la experiencia en el análisis de la muestra, se deben establecer las posibles sustancias y/o elementos y adicionar cantidades conocidas de éstas, solas o combinadas a la muestra y evaluar su respuesta al método, bajo las mismas condiciones de análisis.

La selectividad de un procedimiento debe ser establecida para métodos desarrollados internamente en el laboratorio, métodos adaptados de la literatura científica y métodos publicados por organismos de estandarización utilizados fuera del alcance especificado en el método estándar.

Cuando los métodos publicados por organismos de normalización son aplicados dentro de su alcance, la selectividad usualmente habrá sido estudiada como parte del proceso de normalización.

Generalmente, la selectividad de un método se investiga estudiando su habilidad de medir el analito de interés en muestras a la cuales se le agregaron intencionalmente interferencias específicas (aquellas que se considere probable de encontrar en las muestras).

En aquellos casos donde no esté claro si las interferencias ya están presentes o no, la selectividad del método puede ser investigada estudiando su habilidad de medir el analito comparado con otros métodos independientes.

3.5.5 Precisión. (5)

La precisión es medida mediante la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.

Repetibilidad: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (un mismo analista, mismos aparatos y reactivos, etc.) en un mismo laboratorio y en un periodo de tiempo corto.

Precisión Intermedia: Estudia la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas diferentes (diferentes analistas, aparatos, días, etc.) y en un mismo laboratorio.

Reproducibilidad: Estudia la variabilidad del método bajo condiciones operativas diferentes y en distintos laboratorios. Esto aplica en caso de organizaciones con diferentes laboratorios y/o cuando se requiera transferir métodos.

Éste parámetro aplica únicamente a laboratorios que tienen cedés con las cuales poder compararse.

3.5.6 Linealidad. (5)

Capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado.

Linealidad del Sistema

Un analista debe preparar por lo menos por triplicado 5 niveles de concentración (Intervalo o rango) de la solución de referencia ya sea por dilución (a partir de una misma solución concentrada o por pesadas independientes (cuando no sea posible prepararlas por dilución).

El intervalo debe incluir la especificación para el caso de aquellos métodos utilizados para evaluar muestras que se conoce el contenido estimado de activo (ejemplo formas farmacéuticas, Principios activos). Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones de medición, reportar la relación concentración vs. Respuesta analítica (Ejemplo: Concentración vs. Área, Concentración vs. Absorbancia). Calcular:

- El valor de la pendiente (b).
- La ordenada en el origen (a).
- El coeficiente de determinación (r^2)
- El intervalo de confianza para la pendiente ($IC_{(b)}$).

Si el método presenta un ajuste distinto a la línea recta, utilizar la estadística apropiada y justificarla.

El intervalo (rango) está en función del propósito del método, y por lo general se expresa como concentración.

Es crítico que el intervalo no excluya valores de concentración que potencialmente puedan dar lugar al contenido del analito en la muestra.

En análisis farmacéutico:

- Para Contenido/valoración/Potencia, sugiere un mínimo de $\pm 20\%$
- Para Contenido / Valoración de impurezas desde un nivel apropiado hasta un 20% por arriba de la especificación.
- Para métodos indicadores de estabilidad desde un nivel apropiado hasta un 120%.

Linealidad del método y Rango. (5)

Se conocen los componentes de la muestra y es posible preparar una matriz. Un analista debe preparar una matriz con el tipo de componentes que generalmente están presentes en la muestra.

A la cantidad de matriz analítico equivalente a una muestra analítica por triplicado, adicionarle la cantidad de analito (puede ser una sustancia de referencia secundaria) correspondiente al 100% de este en la muestra.

Seleccionar al menos dos niveles, superior e inferior de la cantidad del analito (intervalo) y preparar la matriz adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de matriz analítico en los tres niveles.

La matriz adicionada debe ser analizada por un mismo analista bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia, la sustancia empleada en la adición a la matriz analítica.

Como lo indica el método, preparar 3 soluciones estándar al 100% de la concentración teórica.

Realizar una determinación de cada matriz adicionado, de acuerdo a la siguiente secuencia:

- Estándar
- Matriz adicionada nivel inferior
- Matriz adicionada 100%
- Matriz adicionado nivel superior
- Hasta terminar los 3 bloques

3.5.7 Exactitud. (5)

La evaluación práctica de la Exactitud (veracidad) se fundamenta en la comparación de la media de los resultados de un método con relación a valores conocidos, es decir, la veracidad se determina contra un valor de referencia.

Se dispone de dos técnicas básicas: Verificación con respecto a los valores de referencia de un material caracterizado y comparación con otro método caracterizado.

Para verificar la Exactitud (veracidad) utilizando un material de referencia, se determina la media y la desviación estándar de una serie de réplicas de una prueba y se compara contra el valor caracterizado del material de referencia. El material de referencia ideal sería un material certificado de matriz natural, muy semejante a la muestra de interés. Claramente la disponibilidad de éstos materiales es limitada. Los materiales de referencia para una validación pueden ser:

- a) Preparados por adición de materiales típicos con materiales de referencia con pureza certificada u otros materiales de pureza y estabilidad adecuada.
- b) Materiales típicos bien caracterizados, de estabilidad verificada internamente y conservados para control de calidad interno.

3.5.8 Límite de Detección y Límite de Cuantificación. (5)

Estos parámetros se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo. Según Un resultado "positivo" no es suficiente para que el analista considere detectado un analito. Se precisa, además, conocer el límite de detección en las condiciones del método; de lo contrario se puede incurrir en un falso positivo: suponer el analito presente en la muestra cuando de hecho no lo está.

El límite de Cuantificación es un término cuantitativo (menor cantidad medible) mientras que el límite de detección es cualitativo (menor cantidad detectable). Numéricamente es mayor el límite de Cuantificación y representa la menor cantidad de analito que puede analizarse con un porcentaje de Coeficiente de Variación y de Recuperación aceptables. Concentraciones menores pueden detectarse, pero no cuantificarse. Si las concentraciones a determinar son

elevadas, se puede sustituir su estudio por la determinación de la precisión y la exactitud a la concentración más baja que presente el analito en la práctica.

3.5.9 Documentación. (4), (7)

Las actividades de la validación de un método analítico deben ser sustentadas por los siguientes documentos: Protocolo, reporte y certificado; a continuación, se presentan las partes de cada uno de ellos.

a) Protocolo:

1. Título
2. Propósito u Objetivo.
3. Responsabilidades.
4. Plan de prueba describiendo los parámetros de desempeño que permitan verificar la aplicación analítica deseada.
5. Criterios de aceptación para cada parámetro.
6. Formato de registro de resultados.

b) Reporte:

1. Título.
2. Resultados.
3. Análisis de resultados.
4. Confrontación contra los criterios de aceptación.
5. Conclusión.

c) Certificado: .

1. Responsables.
2. Resumen de los resultados obtenidos.
3. Conclusiones.
4. Dictamen

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0. DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio.

Experimental: La obtención de datos se realizará mediante ensayos y pruebas en el laboratorio de Control de Calidad del Laboratorio Farmacéutico Nacional, y posteriormente se harán los respectivos tratamientos estadísticos.

Transversal: La investigación se realizará en tiempo determinado, es decir que el problema en estudio se está configurando en el presente.

Prospectivo: Los datos obtenidos pueden servir como punto de partida para la realización de otras investigaciones.

4.2 Investigación bibliográfica.

La investigación bibliográfica se llevó a cabo en las siguientes bibliotecas:

Dr. Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador,

Central de la Universidad de El Salvador

Laboratorio Farmacéutico Nacional, San Salvador

Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.

Internet.

4.3 Investigación de campo

El muestreo se realizó en el área de muestras de retención de Laboratorio Farmacéutico Nacional que se encuentra en las condiciones de 20 ± 2 °C de temperatura y 65 ± 5 % de Humedad relativa.

El número de muestras se determinó por lo establecido en el por el RTCA de Productos Farmacéuticos. Medicamentos de Uso Humano. Verificación de la Calidad 11.03,47:07.

Datos de muestras:

Sildenafil citrato de 50 mg:

Lote: M37155

Vence: 06/20

Universo: 19, 960 tabletas

Muestra: 60 tabletas

Sildenafil citrato 100mg:

Lote: M38260

Vence: 09/20

Universo: 33, 003 tabletas

Muestra: 60 tabletas

Todos los cálculos presentados en las validaciones referentes a Sildenafil se presentan como Citrato de Sildenafil sabiendo que:

Cada Tableta contiene:

Sildenafil Citrato 100: Citrato de Sildenafil 140.45 mg equivalente a 100.0 mg de Sildenafil

Sildenafil Citrato 50: Citrato de Sildenafil 70.225 mg equivalente a 50.0 mg de Sildenafil.

Métodos de cuantificación:

Especificaciones espectrofotométricas:

1. Espectrofotómetro Ultra Violeta marca SHIMADZU modelo UV-1800
2. Blanco: HCl 0.1N
3. Celdas de Cuarzo: 1.0 cm de espesor.
4. Longitud de onda: 290 nm
5. Rango de longitud de onda: 240 – 340 nm

Diluyente:

Ácido clorhídrico 0.1 N

Ácido Clorhídrico 0.1 N

- 1- Tomar 8.5 mL de Ácido Clorhídrico y transferir a un balón volumétrico de 1000 mL.
- 2- Llevar a aforo con agua.

Especificaciones cromatográficas (HPLC)

1. Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño marca SHIMADZU modelo LC-2030.
2. Columna: L1 C18 125 x 4 mm (5 μ m)
3. Temperatura columna: 30°C
4. Flujo: 1.0 mL/min
5. Longitud de onda: 290 nm
6. Volumen de inyección: 20 μ L

Diluyente:

Fase Móvil

Preparación de Solución Trietilamina pH 3:

1. A 1000 mL de agua, adicionar 7.0 mL de Trietilamina.
2. Llevar a pH 3 \pm 0.1 con Ácido fosfórico y trietilamina.
3. Homogenizar.

Preparación de Fase Móvil:

1. Preparar una mezcla de Solución trietilamina pH 3, Metanol y Acetonitrilo (58:25:17).

Pasar a través de un filtro de membrana de 0.45 micras o de menor tamaño de poro y degasificar

4.4 Parte experimental.

4.4.1 Protocolos de validación de metodologías analíticas

En el Anexo N°1 se presenta el formato de protocolo de validación de metodologías analíticas que corresponden a las metodologías por Espectroscopia Ultra Violeta y Cromatografía Líquida de Alto Desempeño, para la valoración de Sildenafil Citrato en tabletas de 50 mg y 100mg.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Elaboración de Protocolos para la validación de Sildenafil citrato tabletas mediante los métodos de Espectrofotometría Ultra Violeta y Cromatografía Líquida de Alto Desempeño.

Los siguientes protocolos establecen los parámetros de validación a determinar, con el procedimiento, cálculos y especificaciones requeridas en cada uno de ellos.

Se incluye además un resumen de los parámetros de validación; Así como los materiales y reactivos a utilizar, finalmente la bibliografía utilizada para su redacción.

A continuación, se presenta el protocolo de validación del método de Espectrofotometría Ultra Violeta y posteriormente el de Cromatografía Líquida de Alto Desempeño para la cuantificación de Sildenafil Citrato en tabletas.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 29

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

1.0 Objetivo:

Demostrar que la metodología analítica autorizada para valorar el **Sildenafil** como **Sildenafil Citrato** en tabletas es la idónea para cuantificar e identificar el principio activo frente a los demás componentes de la fórmula.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 29

2.0 Alcance o evaluación de riesgo:

La validación es un medio o una base de datos que demuestran científicamente que el método analítico para determinar **Sildenafil** como **Sildenafil citrato** en tabletas de 50 mg y 100 mg tiene las características que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las pruebas especificadas.

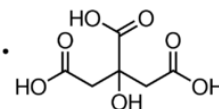
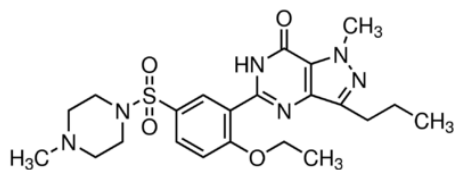
3.0 Responsables y funciones:

Químico Analista y Coordinador de Validaciones: son las personas encargadas de realizar las pruebas establecidas en este protocolo.

Jefe de Control de Calidad: es responsable de la verificación de la realización de la validación y de autorizar los documentos involucrados en el proceso.

4.0 PROCEDIMIENTOS (METODOLOGÍA ANALÍTICA):

4.1 INTRODUCCIÓN



CAS 171599-83-0

$C_{22}H_{30}N_6O_4S \cdot C_6H_8O_7$

Masa molecular 666.70

El mecanismo principal de acción

El óxido nítrico activa la guanililciclasa, la cual eleva la concentración de cGMP y este segundo mensajero estimula la desfosforilación de las cadenas ligeras de la

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 29

miosina y la relajación del musculo liso. Por lo tanto, cualquier fármaco que aumente el cGMP puede tener valor en la disfunción eréctil, si la inervación es normal. El Sildenafil incrementa el cGMP porque inhibe su degradación mediante la isoforma 5 de la fosfodiesterasa (PDE-5).

Resumen de las características físicas del analito:

Sildenafil Citrato: polvo cristalino blanco o casi blanco, ligeramente higroscópico. Poco soluble en agua y en metanol, casi insoluble en hexano, punto de fusión 187-189°C a 760 mm Hg.

Sildenafil Citrato en tabletas:

Sildenafil citrato de 50 mg: Tableta romboide de color celeste con ranura y logo en una de sus caras. Lote M37155 vence 06/20

Sildenafil citrato 100mg: Tableta romboide de color celeste con ranura y logo en una de sus caras. Lote M38260 vence 09/20

4.2 JUSTIFICACIÓN:

Se realizará una validación del método analítico, para verificar que el método utilizado cumple con los parámetros para ser definido como específico, exacto, preciso y robusto.

La validación de los métodos analíticos será efectuada de acuerdo al principio activo a evaluar, esto permite que varias presentaciones o formas farmacéuticas

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 29

sean abarcadas en una misma validación; haciendo los ajustes necesarios para cada tipo de forma farmacéutica según sea necesario.

Se realizará una validación concurrente del método de análisis, ya que el producto **Sildenafil citrato en tabletas** ya se encuentra de venta al público.

4.3 MEDIDAS DE SEGURIDAD:

Sildenafil citrato: causa irritación en la piel, causa irritación ocular seria, puede causar irritación de las vías respiratorias. Evitar inhalar polvos, vapores, aspersiones, etc. Utilizar equipo de protección adecuado: gabacha, gafas protectoras, mascarilla, guantes.

Ácido clorhídrico: Provoca quemaduras. Irrita las vías respiratorias y las mucosas. Usar equipo de protección adecuado, gabacha, guantes, mascara de gases y gafas protectoras.

4.4 CALIFICACIONES:

Nombre del equipo	Marca	Código	Calificación	INFORME
Balanza analítica	OHAUS	EQCC-028	04/09/2017	EQCC-028
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	04/09/2017	EQCC-053
Espectrofotómetro UV-1800	SHIMADZU	EQCC-008	04/03/2017	ICA-CC-0055

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 29

4.5 CALIBRACIONES:

Nombre del equipo	Marca	Código	Calibración	INFORME
Balanza analítica	OHAUS	EQCC-028	09/11/2017	FA17110901
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	09/11/2017	FA17110912
Espectrofotómetro UV-1800	SHIMADZU	EQCC-008	n/a	S.1601.doc

4.6 ESPECIFICACIONES:

NOMBRE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Sildenafil citrato	Contiene no menos de 98.0% y no más de 102.0% de SILDENAFIL CITRATO calculado con referencia a la sustancia anhidra.
NOMBRE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Sildenafil citrato tabletas	Contiene no menos de 90.0% y no más de 110.0% sobre lo rotulado de SILDENAFIL CITRATO.

4.7 MÉTODO DE ANÁLISIS A VALIDAR:

Para la identificación y cuantificación de SILDENAFIL CITRATO se utilizó el método de espectrometría UV-VIS, a una longitud de onda de 290 nm.

FEUM 2016/Método interno, MPT-CC-001 Y MPT-CC-001

4.8 PRINCIPIO ACTIVO Y CONCENTRACIÓN:

Cada Tableta contiene:

Sildenafil Citrato 100: Citrato de Sildenafil 140.45 mg equivalente a 100.0 mg de Sildenafil

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 6 de 29

Sildenafil Citrato 50: Citrato de Sildenafil 70.225 mg equivalente a 50.0 mg de Sildenafil.

4.9 EQUIPOS:

Nombre del equipo	Marca	Código	Nombre del equipo	Marca	Código
Balanza analítica	OHAUS	EQCC-028	Espectrofotómetro UV-1800	SHIMADZU	EQCC-008
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	NA	NA	NA

4.10 CRISTALERÍA Y MATERIALES:

Balón volumétrico de 25.0, 50.0, 100.0, 1000.0 mL

Beaker de 250, 500, 1000 mL

Jeringa estéril

Probeta de 25, 50, 100, 250 mL

Pipeta de 5.0, 10.0, 25.0 mL

Celdas de cuarzo de 1.0 cm

Papel filtro

4.11 REACTIVOS:

Agua

Ácido clorhídrico

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 7 de 29

MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN:**ESPECIFICACIONES ESPECTROFOTOMÉTRICAS (UV-VIS)**

Blanco: HCl 0.1N

Celdas: 1.0 cm de espesor, cuarzo

Longitud de onda: 290 nm

Rango de longitud de onda: 240 – 340 nm

Diluyente:

Ácido clorhídrico 0.1 N

Ácido Clorhídrico 0.1 N

- 3- Tomar 8.5 mL de Ácido Clorhídrico y transferir a un balón volumétrico de 1000 mL.
- 4- Llevar a aforo con agua.

Preparación del Estándar:

- 1- Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil
- 2- Transferir a un balón volumétrico de 100 mL.
- 3- Adicionar 60 mL de diluyente.
- 4- Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- 5- Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 6- Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50 mL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 8 de 29

- 7- Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 8- Leer en el espectrofotómetro a 290 nm, usando diluyente como blanco.

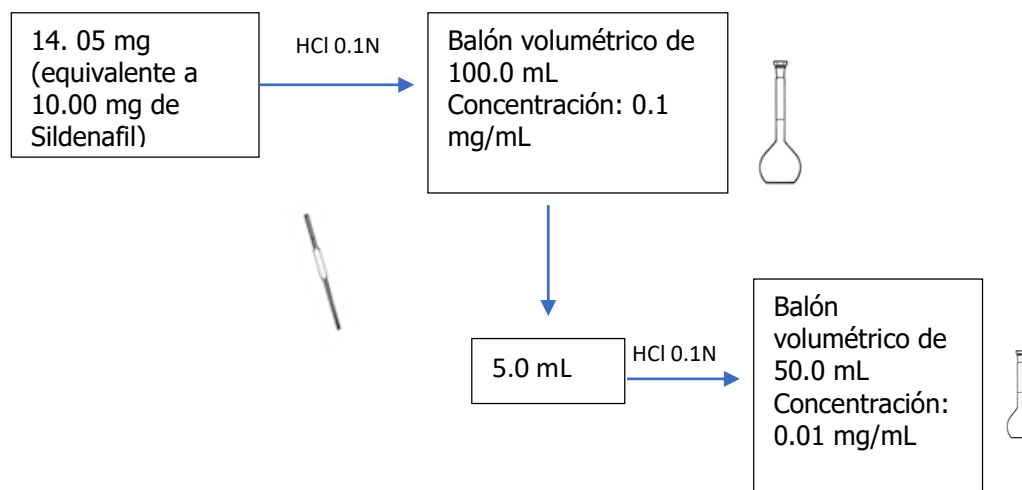
Preparación de la muestra:

- 1- Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio.
- 2- Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo.
- 3- Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil.
- 4- Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- 5- Adicionar 60 mL de diluyente.
- 6- Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- 7- Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 8- Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada
- 9- Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL
- 10-Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 11-Leer en el espectrofotómetro a 290 nm, usando diluyente como blanco.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 9 de 29

CASCADA DE DILUCIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN

Cascada de disolución del estándar

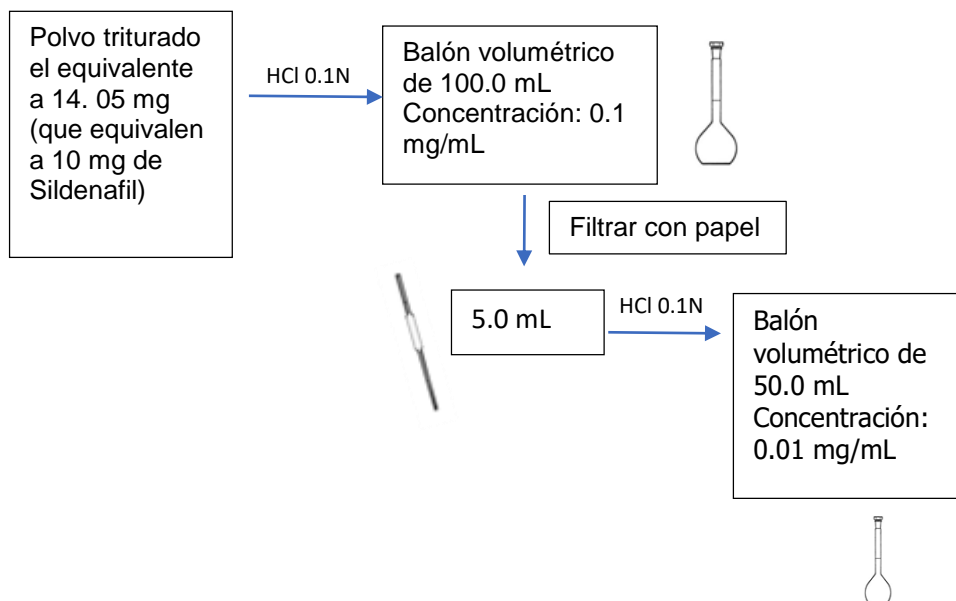


$$\text{Factor de Dilución (FD)} = \frac{\text{Volumenes Hechos}}{\text{Alícuotas Tomadas}}$$

Nota: Realizar por duplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 10 de 29

Cascada de disolución de la muestra



$$\text{Factor de Dilución (FD)} = \frac{\text{Volumenes Hechos}}{\text{Alicuotas Tomadas}}$$

PROCEDIMIENTO:

1. Leer en el espectrofotómetro el blanco (diluyente)
2. Leer en el espectrofotómetro los estándares.
3. Leer en el espectrofotómetro las muestras
4. Anotar las absorbancias
5. Imprimir los reportes con espectros
6. Calcular las cantidades en mg de Sildenafil.

CÁLCULOS:

Calcular la concentración del estándar:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 11 de 29

$$Cst = \frac{Pst \left(\frac{\text{potencia}}{100} \right)}{FD}$$

Donde:

- Cst** Concentración del estándar
Pst Peso del estándar
Potencia Pureza del estándar
FD Factor de Dilución del estándar

$$Cmx = \frac{(Amx)(Cst)(FD)(Pprom)}{(Ast)(Pmx)}$$

Donde:

- Cmx** Concentración de la muestra
Amx Área de la muestra
Cst Concentración del estándar
FD Factor de Dilución de la muestra
Ast Área del estándar
Pprom Peso promedio de 20 tabletas
Pmx Peso de la muestra

4.12 MÉTODO DE DISOLUCIÓN:

N/A

4.13 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA MUESTRA DE DISOLUCIÓN:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 12 de 29

N/A

5.0 PARÁMETROS A EVALUAR:

La validación del método analítico busca la confianza de que los valores obtenidos por el método son aceptables y seguros. La validación se efectuará de la siguiente manera: Verificando la precisión y linealidad del método, al igual que la selectividad y la exactitud del método analítico.

RESUMEN DE PARÁMETROS A EVALUAR Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación
Robustez	Promedio de contenido	-----
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 3\%$
Especificidad/selectividad	Respuesta después de aplicar el método	La respuesta es solamente debida al analito
Precisión del sistema	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coficiente de variación (CV)	$\leq 3\%$
Linealidad del sistema	Coficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 13 de 29

Linealidad del sistema	Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	≤3%
	Pendiente (b)	≠0
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	No debe incluir el cero
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
Exactitud	Recobro	
	Porcentaje de recobro	97 – 103%
	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo
	Linealidad del método	
	Coeficiente de determinación (r^2)	≥0.98
	Pendiente	≠0
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
	Precisión	
	Promedio	-----
	Coeficiente de variación	≤3%
Repetibilidad	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coeficiente de variación	≤3%
Precisión intermedia	Promedio	-----
	Coeficiente de variación	≤3%
	Prueba de Fisher	$F_{exp} - F_{tab}$
	Prueba t de Student	$t_{exp} - t_{tab}$

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 14 de 29

6.0 MUESTRAS

Incluir el detalle de la formulación

- Sildenafil Citrato tabletas 100 mg Fórmula maestra código 000-01

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
79342	Sildenafil Citrato	23,4000	g
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA 100 g			

- Sildenafil Citrato tabletas 50 mg Formula maestra código 000-02

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
79342	Sildenafil Citrato	14,0500	g
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA 100 g			

7.0 PROCEDIMIENTO:

De acuerdo a lo establecido en el numeral 5.0 las pruebas a realizar son:

7.1 Robustez

Para **Robustez** se analizará muestra de producto terminado por triplicado cambiando deliberadamente las condiciones internas del método de análisis:

- a) **Longitud de onda:** ± 2 nm.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 15 de 29

Preparación del estándar: por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Muestra: Sildenafil Citrato 50 mg y Sildenafil Citrato 100 mg

Preparación de muestras: Producto terminado.

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil.

Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Cambios deliberados del método: Leer estándares de calibración y leer por triplicado cada muestra. Repetir para cada cambio deliberado en el método.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 16 de 29

- a) Condición normal: 290 nm
- b) Condición dos: 288 nm
- c) Condición tres: 292 nm

Reportar:

Promedio del contenido, promedio para la condición normal y con el cambio, diferencia absoluta de los valores promedio.

7.2 Estabilidad

Para **Estabilidad** se analizará muestra de producto terminado por triplicado en las siguientes condiciones de almacenamiento:

- a) Inicial
- b) En refrigeración 24 horas
- c) A temperatura ambiente 24 horas

Preparación del estándar: preparar por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Concentración: 0.01 mg/mL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 17 de 29

Muestra: Sildenafil Citrato 50 mg y Sildenafil Citrato 100 mg

Preparación de muestras:

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil.

Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Procedimiento.

Realizar la lectura inicial de las muestras, fraccionar las muestras en 25 mL y guardar en las condiciones respectivas. Leer por triplicado. Leer después de 24 horas.

Reportar:

La diferencia absoluta entre las condiciones.

7.3 Especificidad/Selectividad

Para **Especificidad** se prepara cantidad suficiente de placebo para el análisis y se analizara placebo y muestras de placebo adicionado con sus impurezas. Si

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 18 de 29

no hubiera existencias de los compuestos USP, se pueden degradar el placebo y las muestras en las siguientes condiciones:

- a) Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- b) Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- c) Exposición a luz UV

Estándar: Estándar de Trabajo Sildenafil Citrato

Muestras: Placebo y placebo adicionado con estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Preparación de placebo:

Preparar 100 g de Sildenafil tabletas 50 mg y 100 mg sin adicionar el analito Sildenafil Citrato.

Tratamiento de muestras:

Fraccionar el placebo y producto terminado en cuatro partes para las condiciones.

- a) Sin tratamiento
- b) Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 50°C
- c) Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 50°C
- d) Exposición a luz UV

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 19 de 29

Preparación del estándar: preparar por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Muestra: Sildenafil Citrato 50 mg y Sildenafil Citrato 100 mg

Preparación de muestras:

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil. Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos.

Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Leer por duplicado cada muestra y reportar el resultado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 20 de 29

Reportar:

La respuesta es solamente debida al analito

7.4 Precisión del sistema

Para **Precisión del sistema** se realizará por sextuplicado del estándar de referencia Para el **estándar** se prepararán 6 soluciones diferentes de estándar al 100%, además del estándar para calibrar.

Estándar de calibración: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Preparación de solución madre Estándar:

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de solución Estándar de calibración: preparar por duplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 21 de 29

Preparación de Estándar: preparar por sextuplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Leer estándares seguidos de cada muestra.

Reportar:

Promedio, Desviación estándar, Coeficiente de variación.

7.5 Linealidad del sistema

Para **Linealidad del sistema** se realizará por triplicado en cinco niveles de concentración del estándar de referencia.

Para el **estándar de referencia** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de estándar por triplicado: 80%, 90%, 100%, 110% y 120%

Cada serie se analizará de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Preparación de solución madre Sildenafil Citrato: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 22 de 29

ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de estándar de referencia: preparar por duplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación de estándar:

Estándar 80%: Preparar por triplicado.

Tomar 4.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.008 mg/mL

Estándar 90%: Preparar por triplicado.

Tomar 4.5 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.009 mg/mL

Estándar 100%: Preparar por triplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 23 de 29

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL.

Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Estándar 110%: Preparar por triplicado.

Tomar 5.5 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL.

Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.011 mg/mL

Estándar 120%: Preparar por triplicado.

Tomar 6.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50 mL.

Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.012 mg/mL

Leer estándares:

Estándar 80%, 90%, 100%, 110% y 120%, una lectura de cada muestra. Repetir para las otras dos series.

Reportar:

Coeficiente de determinación, coeficiente de variación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza del intercepto.

7.6 Exactitud del método (Recobro, precisión y Linealidad)

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 24 de 29

Para **Exactitud** se realizará por triplicado en tres niveles de concentración usando placebo adicionado con el analito los que se comparan con estándar preparado por duplicado. Se repetirá para cada matriz de excipientes diferente.

- a) Para **placebo adicionado con analito** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de placebo adicionado con analito por triplicado: 80%, 100% y 120%.
- b) Para **estándar de referencia** se prepara por pesadas independientes o diluciones por duplicado para cada serie. Cada serie se analizará en el siguiente orden: estándar por duplicado, placebo adicionado de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Preparación de solución madre Sildenafil Citrato: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de estándar de referencia: preparar por sextuplicado

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 25 de 29

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación de solución madre de placebo:

Pesar exactamente el equivalente a 100.0 mg de PLACEBO y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar la solución y usar esta como solución madre de placebo.

Preparación de estándar:

Estándar 80%: Preparar por triplicado.

Tomar 4.0 mL de la solución madre y 5.0 mL de solución madre de placebo. Transferir ambas a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.008 mg/mL

Estándar 100%: Preparar por triplicado.

Tomar 5.0 mL de la solución madre y 5.0 mL de solución madre de placebo. Transferir ambas a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Estándar 120%: Preparar por triplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 26 de 29

Tomar 6.0 mL de la solución madre y 5.0 mL de solución madre de placebo. Transferir ambas a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.012 mg/mL

Leer estándares de calibración seguidos de:

Estándar 80%, 100% y 120% una lectura de cada estándar muestra. Repetir para las otras dos series.

Reportar:

Recobro: Porcentaje de recobro e intervalo de confianza de la media poblacional.

Linealidad del método: coeficiente de determinación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza del intercepto.

Precisión: promedio, coeficiente de variación.

7.7 Repetibilidad y Precisión Intermedia

Para **Repetibilidad** y **Precisión Intermedia** se realizará por sextuplicado el análisis de muestras de producto terminado.

Para las **muestras de producto terminado** se preparan seis muestras de producto terminado de un mismo lote, se repite el experimento para las siguientes condiciones:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 27 de 29

Analista 1	Analista 2
Equipo 1	Equipo 1
Día 1	Día 2

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Muestras: Producto terminado Sildenafil Citrato 50 mg y 100 mg tabletas

Preparación de solución madre Sildenafil Citrato: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de estándar: preparar por sextuplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación de producto terminado: preparar por sextuplicado

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato 50 mg Y 100 mg Tabletetas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil. Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 28 de 29

ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Leer estándares de seguidos de las muestras.

Reportar:

Repetibilidad: promedio, desviación estándar, coeficiente de variación

Precisión intermedia: promedio, coeficiente de variación, prueba de Fisher, prueba t de Student.

- La validación del método analítico tendrá una duración de 5 años.

8.0 CONTROL DE CAMBIOS:

CONTROL DE CAMBIOS:				
EDICIÓN MODIFICADA	DESCRIPCIÓN	No. DE EDICIÓN NUEVA	NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CAMBIO	FECHA DE MODIFICACIÓN
N/A	EDICIÓN INICIAL	00	Ricardo Reyes	14/11/2018

9.0 BIBLIOGRAFÍA:

Farmacopea de los Estados Unidos de América 37, Formulario Nacional 32.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2016

ICH Harmonised Tripartite Guideline, Text on Validation of Analytical Procedures Q2A, 27 October 1994.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 29 de 29

Eurachem, La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Primera edición española. 2016

10.0 ANEXOS:

Anexar las hojas de trabajo y las hojas de cálculo de todas las pruebas ejecutadas en la validación.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 27

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

1.0 OBJETIVO:

Demostrar que la metodología analítica autorizada para valorar **Sildenafil** como **Sildenafil Citrato tabletas** es la idónea para cuantificar e identificar el principio activo frente a los demás componentes de la fórmula.

2.0 ALCANCE O EVALUACIÓN DE RIESGO:

La validación es un medio o una base de datos que demuestran científicamente que el método analítico para determinar **Sildenafil** como **Sildenafil Citrato** en Tabletas de 50 mg y 100mg tiene las características que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las pruebas especificadas.

3.0 RESPONSABLES Y FUNCIONES:

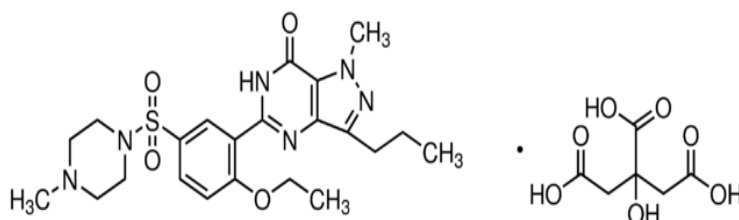
Analista Físicoquímico y Coordinador de Validaciones: son las personas encargadas de realizar las pruebas establecidas en este protocolo.

Jefe de Control de Calidad: es responsable de la verificación de la realización de la validación y de autorizar los documentos involucrados en el proceso.

4.0 PROCEDIMIENTOS (METODOLOGÍA ANALÍTICA):

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 27

4.1 INTRODUCCIÓN



CAS 171599-83-0

$C_{22}H_{30}N_6O_4S \cdot C_6H_8O_7$

Masa molecular 666.70

El mecanismo principal de acción

El óxido nítrico activa la guanilciclase, la cual eleva la concentración de cGMP y este segundo mensajero estimula la desfosforilación de las cadenas ligeras de la miosina y la relajación del músculo liso. Por lo tanto, cualquier fármaco que aumente el cGMP puede tener valor en la disfunción eréctil, si la inervación es normal. El Sildenafil incrementa el cGMP porque inhibe su degradación mediante la isoforma 5 de la fosfodiesterasa (PDE-5).

Resumen de las características físicas del analito:

Sildenafil Citrato: polvo cristalino blanco o casi blanco, ligeramente higroscópico. Poco soluble en agua y en metanol, casi insoluble en hexano, punto de fusión 187-189°C a 760 mm Hg.

Sildenafil Citrato tabletas:

Sildenafil Citrato 50 mg: Tableta romboide de color celeste con ranura y logo en una de sus caras. Lote M37155 vence 06/20

Sildenafil Citrato 100 mg: Tableta romboide de color celeste con ranura y logo en una de sus caras. Lote M38260 vence 09/20

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 27

4.2 JUSTIFICACIÓN:

Se realizará una validación del método analítico, para verificar que el método utilizado cumple con los parámetros para ser definido como específico, exacto, preciso y robusto.

La validación de los métodos analíticos será efectuada de acuerdo al principio activo a evaluar, esto permite que varias presentaciones o formas farmacéuticas sean abarcadas en una misma validación; haciendo los ajustes necesarios para cada tipo de forma farmacéutica según sea necesario.

Se realizará una validación concurrente del método de análisis, ya que el producto **Sildenafil Citrato tabletas** ya se encuentra de venta al público.

4.3 MEDIDAS DE SEGURIDAD:

Sildenafil Citrato: causa irritación en la piel, irritación ocular seria, puede causar irritación de las vías respiratorias. Evitar inhalar polvos, vapores, aspersiones, etc. Utilizar equipo de protección adecuado: gabacha, gafas protectoras, mascarilla, guantes.

Trietilamina: Altamente inflamable. Tóxico. Lavarse las manos después de su manipulación. Usar ropa de protección adecuada, gabacha, guantes y máscara de gases. Manipular en área bien ventilada bajo cámara extractora de gases.

Ácido fosfórico: Corrosivo. Puede causar quemaduras severas en contacto con piel y mucosas, daño permanente e irreversible a los ojos. Usar ropa de protección adecuada, gabacha, guantes y máscara de gases. Manipular en área bien ventilada bajo cámara extractora de gases.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 27

Acetonitrilo: Irritante de la piel por contacto, peligroso al contacto con los ojos, en caso de ingestión o inhalación. Levemente peligroso en caso de contacto de la piel, actúa como permeabilizante. Sobre exposición severa puede causar la muerte. Usar equipo de protección adecuado: gabacha, guantes, gafas protectoras y mascara de gases.

Metanol: Fácilmente inflamable. Tóxico por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. Usar equipo de protección adecuado, gabacha, guantes, mascara de gases y gafas protectoras.

4.4 CALIFICACIONES:

Nombre del equipo	Marca	Código	Calificación	INFORME
Balanza analítica	OHAUS	EQCC-028	04/09/2017	EQCC-028
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	04/09/2017	EQCC-053
Cromatógrafo líquido de alta resolución	SHIMADZU	EQCC-047	17/09/2017 - 22/09/2017	ICA-CC-0055

4.5 CALIBRACIONES:

Nombre del equipo	Marca	Código	Calibración	INFORME
Balanza analítica	OHAUS	EQCC-028	09/11/2017	FA17110901
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	09/11/2017	FA17110912
Cromatógrafo líquido de alta resolución	SHIMADZU	EQCC-047	17/04/2017	SSI 141442

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 25

4.6 ESPECIFICACIONES:

NOMBRE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Sildenafil Citrato	Contiene no menos de 98.0% y no más de 102.0% de SILDENAFIL CITRATO calculado con referencia a la sustancia anhidra.
Sildenafil Citrato tabletas	Contiene no menos de 90.0% y no más de 110.0% sobre lo rotulado de SILDENAFIL CITRATO.

4.7 MÉTODO DE ANÁLISIS A VALIDAR:

Para la identificación y cuantificación de Sildenafil Citrato se utilizará el método HPLC, a una longitud de onda de 290 nm.

FEUM 2016/Método modificado, MPT-CC-002 Y MPT-CC-002

4.8 PRINCIPIO ACTIVO Y CONCENTRACIÓN:

Cada Tableta contiene:

Sildenafil Citrato 100: Citrato de Sildenafil 140.45 mg equivalente a 100.0 mg de Sildenafil

Sildenafil Citrato 50: Citrato de Sildenafil 70.225 mg equivalente a 50.0 mg de Sildenafil

4.9 EQUIPOS:

Nombre del equipo	Marca	Código	Nombre del equipo	Marca	Código
Balanza analítica	OHAUS	EQCC-028	Cromatógrafo líquido de alta resolución	SHIMADZU	EQCC-047
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	NA	NA	NA

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 6 de 27

4.10 CRISTALERÍA Y MATERIALES:

Balón volumétrico de 25.0, 50.0, 100.0, 1000.0 mL

Beaker de 250, 500, 1000 mL

Jeringa estéril

Probeta de 25, 50, 100, 250

Pipeta de 5.0, 10.0, 25.0 mL

Papel filtro

Equipo de filtración por membrana

Jeringas

Filtros para jeringa

4.11 REACTIVOS:

Agua

Ácido fosfórico

Trietilamina

Metanol

Acetonitrilo

MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN:

ESPECIFICACIONES CROMATOGRÁFICAS (HPLC)

Columna: L1 C18 125 x 4 mm (5µm)

Temperatura columna: 30°C

Flujo: 1.0 mL/min

Longitud de onda: 290 nm

Volumen de inyección: 20 µL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 7 de 27

Diluyente:

Fase Móvil

Preparación de Solución Trietilamina pH 3:

4. A 1000 mL de agua, adicionar 7.0 mL de Trietilamina.
5. Llevar a pH 3 ± 0.1 con Ácido fosfórico y trietilamina.
6. Homogenizar.

Preparación de Fase Móvil:

2. Preparar una mezcla de Solución trietilamina pH 3, Metanol y Acetonitrilo (58:25:17).
3. Pasar a través de un filtro de membrana de 0.45 micras o de menor tamaño de poro y desgasificar.

Preparación del Estándar:

- 1- Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil
- 2- Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- 3- Adicionar 60 mL de diluyente.
- 4- Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- 5- Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 6- Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL
- 7- Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Preparación de la muestra:

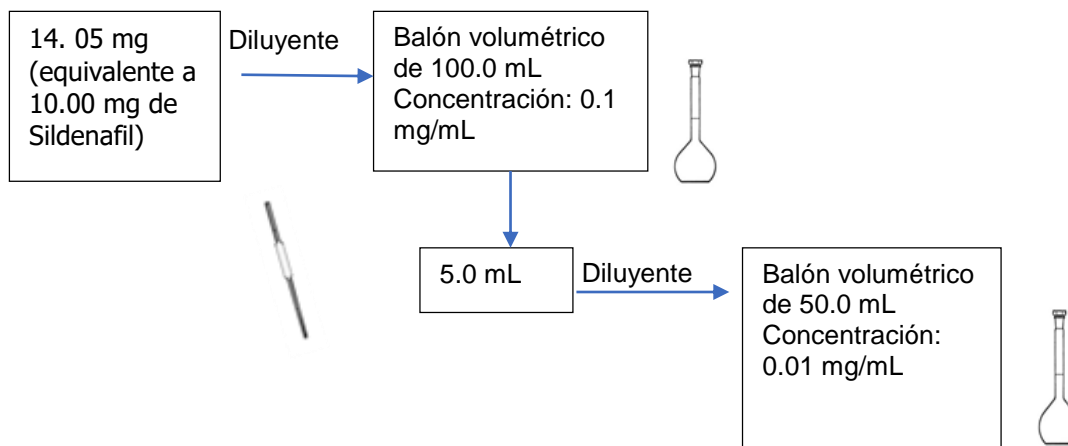
- 1- Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 8 de 27

- 2- Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo.
- 3- Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil.
- 4- Transferir a un balón volumétrico de 100.0mL.
- 5- Adicionar 60 mL de diluyente.
- 6- Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- 7- Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 8- Filtrar a través de papel filtro de y usar la solución filtrada
- 9- Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL
- 10-Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.
- 11-Filtrar a través de filtro de 10 micras y usar la solución filtrada.

4.12 CASCADA DE DILUCIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN:

Cascada de disolución del estándar

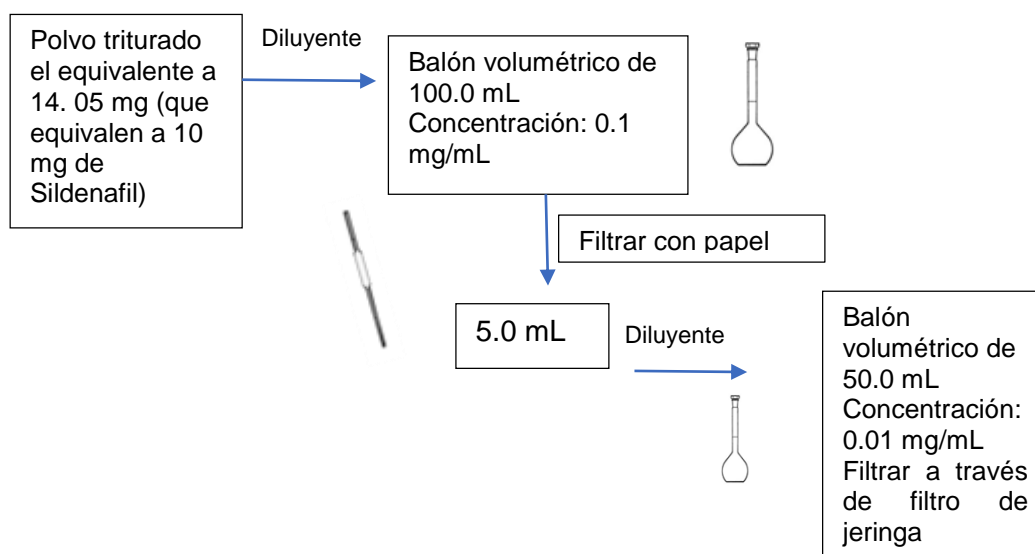


PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 9 de 27

$$\text{Factor de Dilución (FD)} = \frac{\text{Volumenes Hechos}}{\text{Alicuotas Tomadas}}$$

Nota: Realizar por duplicado.

Cascada de disolución de la muestra



$$\text{Factor de Dilución (FD)} = \frac{\text{Volumenes Hechos}}{\text{Alicuotas Tomadas}}$$

PROCEDIMIENTO:

1. Inyectar en el cromatógrafo los estándares, seguidos de las muestras.
2. Anotar las áreas
3. Imprimir los reportes con cromatogramas
4. Calcular las cantidades en mg de Sildenafil.

CÁLCULOS:

Calcular la concentración del estándar:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 10 de 27

$$Cst = \frac{Pst \left(\frac{\text{potencia}}{100} \right)}{FD}$$

Donde:

- Cst** Concentración del estándar
Pst Peso del estándar
Potencia Pureza del estándar
FD Factor de Dilución del estándar

$$Cmx = \frac{(Amx)(Cst)(FD)(Pprom)}{(Ast)(Pmx)}$$

Donde:

- Cmx** Concentración de la muestra
Amx Área de la muestra
Cst Concentración del estándar
FD Factor de Dilución de la muestra
Ast Área del estándar
Pprom Peso promedio de 20 tabletas
Pmx Peso de la muestra

4.13 MÉTODO DE DISOLUCIÓN:

N/A

4.14 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA MUESTRA DE DISOLUCIÓN:

N/A

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 11 de 27

5.0 PARÁMETROS A EVALUAR:

La validación del método analítico busca la confianza de que los valores obtenidos por el método son aceptables y seguros. La validación se efectuará de la siguiente manera verificando la precisión y linealidad del método, al igual que la selectividad y la exactitud del método analítico.

RESUMEN DE PARÁMETROS A EVALUAR Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN MÉTODOS FISCOQUÍMICOS

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación
Robustez	Promedio de contenido	-----
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$
Especificidad/selectividad	Respuesta después de aplicar el método	La respuesta es solamente debida al analito
Precisión del sistema	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coefficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$
Linealidad del sistema	Coefficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98
	Coefficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	$\leq 2\%$
	Pendiente (b)	$\neq 0$
	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	No debe incluir el cero
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
Exactitud	Recobro	
	Porcentaje de recobro	98 – 102%

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 12 de 27

	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo
	Linealidad del método	
	Coficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98
	Pendiente	$\neq 0$
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
	Precisión	
	Promedio	-----
	Coficiente de variación	$\leq 2\%$
Repetibilidad	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coficiente de variación	$\leq 2\%$
Precisión intermedia	Promedio	-----
	Coficiente de variación	$\leq 2\%$
	Prueba de Fisher	$F_{exp} - F_{tab}$
	Prueba t de Student	$t_{exp} - t_{tab}$

6.0 MUESTRAS

Incluir el detalle de la formulación

Sildenafil Citrato tabletas 100 mg Fórmula maestra código 000-01

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
79342	Sildenafil Citrato	23,4000	g
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA 100 g			

Sildenafil Citrato tabletas 50 mg fórmula maestra código 000-02

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
79342	SILDENAFIL CITRATO	14,0500	g
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA 100 g			

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 13 de 27

7.0 PROCEDIMIENTO:

De acuerdo a lo establecido en el numeral 5.0 las pruebas a realizar son:

7.1 Robustez

7.2 Para **Robustez** se analizará muestra de producto terminado por triplicado cambiando deliberadamente las condiciones internas del método de análisis:

- b) Longitud de onda: ± 2 nm
- c) Volumen de inyección: ± 2 %
- d) Flujo de la fase móvil: ± 1 %
- e) Temperatura de la columna: ± 2 °C

Preparación del estándar: por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Muestra: Sildenafil Citrato 50 mg y Sildenafil Citrato 100 mg

Preparación de muestras: Producto terminado.

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 14 de 27

triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil. Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Cambios deliberados del método:

Inyectar estándares de calibración e inyectar por triplicado cada muestra. Repetir para cada cambio deliberado en el método.

- a) Longitud de onda: ± 2 nm : 288 nm y 292 nm
- b) Volumen de inyección: ± 2 % : 19 μ L y 21mL
- c) Flujo de la fase móvil: ± 1 %: 0.99 mL/min y 1.01 mL/min
- d) Temperatura de la columna: ± 2 °C: 28 °C y 32 °C

Reportar:

Promedio del contenido, promedio para la condición normal y con el cambio, diferencia absoluta de los calores promedio.

7.3 Estabilidad

Para **Estabilidad** se analizará muestra de producto terminado por triplicado en las siguientes condiciones de almacenamiento:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 15 de 27

- d) Inicial
- e) En refrigeración 24 horas
- f) A temperatura ambiente 24 horas

Preparación del estándar: preparar por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Muestra: Sildenafil Citrato 50 mg y Sildenafil Citrato 100 mg

Preparación de muestras:

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil. Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL.

Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 16 de 27

Concentración: 0.01 mg/mL

Procedimiento.

Realizar la inyección inicial de las muestras, fraccionar las muestras en 25 mL y guardar en las condiciones respectivas. Inyectar por triplicado. Inyectar después de 24 horas.

Reportar:

La diferencia absoluta entre las condiciones.

7.4 Especificidad/Selectividad

Para **Especificidad** se prepara cantidad suficiente de placebo para el análisis y se analizara placebo y muestras de placebo adicionado con sus impurezas. Si no hubiera existencias de los compuestos USP, se pueden degradar el placebo y las muestras en las siguientes condiciones:

- a) Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- b) Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°
- c) Exposición a luz UV

Estándar: Estándar de Trabajo Sildenafil Citrato

Muestras: Placebo y placebo adicionado con estándar de trabajo Sildenafil Citrato

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 17 de 27

Preparación de placebo:

Preparar 100 g de Sildenafil Citrato tabletas 50 y 100 mg sin adicionar el analito Sildenafil.

Tratamiento de muestras:

Fraccionar el placebo y producto terminado en cuatro partes para las condiciones.

- e) Sin tratamiento
- f) Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- g) Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- h) Exposición a luz UV

Preparación del estándar: preparar por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Muestra: Sildenafil Citrato 50 mg y Sildenafil Citrato 100 mg

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 18 de 27

Preparación de muestras:

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato tabletas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil. Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Inyectar por duplicado cada muestra y reportar el resultado.

Reportar:

La respuesta es solamente debida al analito

7.5 Precisión del sistema

Para **Precisión del sistema** se realizará por sextuplicado del estándar de referencia. Para el **estándar** se prepararán 6 soluciones diferentes de estándar al 100%, además del estándar para calibrar.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 19 de 27

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato**Preparación de solución madre:**

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de solución Estándar de referencia: preparar por duplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación de estándar: preparar por sextuplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Inyectar estándares seguidos de cada muestra.

Reportar:

Promedio, Desviación estándar, Coeficiente de variación.

7.6 Linealidad del sistema

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 20 de 27

Para **Linealidad del sistema** se realizará por triplicado en cinco niveles de concentración del estándar de referencia.

Para el **estándar de referencia** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de estándar por triplicado: 80%, 90%, 100%, 110% y 120%

Cada serie se analizará de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Preparación de solución madre Sildenafil Citrato: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de estándar de referencia: preparar por duplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación estándar:

Estándar 80%: Preparar por triplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 21 de 27

Tomar 4.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.008 mg/mL

Estándar 90%: Preparar por triplicado.

Tomar 4.5 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.009 mg/mL

Estándar 100%: Preparar por triplicado.

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Estándar 110%: Preparar por triplicado.

Tomar 5.5 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.011 mg/mL

Estándar 120%: Preparar por triplicado.

Tomar 6.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.012 mg/mL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 22 de 27

Inyectar estándares seguidos de:

Estándar 80%, 90%, 100%, 110% y 120%, una inyección de cada muestra. Repetir para las otras dos series.

Reportar:

Coeficiente de determinación, coeficiente de variación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza del intercepto.

7.7 Exactitud del método (Recobro, precisión y Linealidad)

Para **Exactitud** se realizará por triplicado en tres niveles de concentración usando placebo adicionado con el analito los que se comparan con estándar preparado por duplicado. Se repetirá para cada matriz de excipientes diferente.

- a) Para **placebo adicionado con analito** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de placebo adicionado con analito por triplicado: 80%, 100% y 120%.
- b) Para **estándar de referencia** se prepara por pesadas independientes o diluciones por duplicado para cada serie. Cada serie se analizará en el siguiente orden: estándar por duplicado, placebo adicionado de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 23 de 27

Preparación de solución madre Sildenafil Citrato: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de estándar: preparar por sextuplicado

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación de solución madre de placebo:

Pesar exactamente el equivalente a 100.0 mg de Placebo y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar la solución y usar esta como solución madre de placebo.

Preparación de estándar:

Estándar adicionado 80%: Preparar por triplicado.

Tomar 4.0 mL de la solución madre y 5.0 mL de solución madre de placebo. Transferir ambas a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 24 de 27

Concentración: 0.008 mg/mL

Estándar adicionado 100%: Preparar por triplicado.

Tomar 5.0 mL de la solución madre y 5.0 mL de solución madre de placebo. Transferir ambas a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Estándar adicionado 120%: Preparar por triplicado.

Tomar 6.0 mL de la solución madre y 5.0 mL de solución madre de placebo. Transferir ambas a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.012 mg/mL

Inyectar estándares de calibración seguidos de:

Estándar adicionado 80%, 100% y 120% una inyección de cada estándar muestra. Repetir para las otras dos series.

Reportar:

Recobro: Porcentaje de recobro e intervalo de confianza de la media poblacional.

Linealidad del método: coeficiente de determinación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza del intercepto.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 25 de 27

Precisión: promedio, coeficiente de variación.

7.8 Repetibilidad y Precisión Intermedia

Para **Repetibilidad y Precisión Intermedia** se realizará por sextuplicado el análisis de muestras de producto terminado.

Para las **muestras de producto terminado** se preparan seis muestras de producto terminado de un mismo lote, se repite el experimento para las siguientes condiciones:

Analista 1	Analista 2
Equipo 1	Equipo 1
Día 1	Día 2

Estándar: Estándar de trabajo Sildenafil Citrato

Muestras: Producto terminado Sildenafil Citrato 50 mg y 100 mg tabletas

Preparación de solución madre Sildenafil Citrato: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 10.0 mg de Sildenafil y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL

Preparación de estándar: preparar por sextuplicado

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 26 de 27

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.01 mg/mL

Preparación de producto terminado: preparar por sextuplicado

Pesar individualmente 20 tabletas de Sildenafil Citrato 50 mg y 100 mg tabletas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Sildenafil. Transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Tomar 5.0 mL de esta solución y transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Filtrar a través de papel filtro y usar la solución filtrada.

Concentración: 0.01 mg/mL

Inyectar estándares de seguidos de las muestras.

Reportar:

Repetibilidad: promedio, desviación estándar, coeficiente de variación

Precisión intermedia: promedio, coeficiente de variación, prueba de Fisher, prueba t de Student.

- La validación del método analítico tendrá una duración de 5 años.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg y 100 mg POR HPLC				
Código: PVA-CC-002	Código de validación: VMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 27 de 27

8.0 CONTROL DE CAMBIOS:

CONTROL DE CAMBIOS:				
EDICIÓN MODIFICADA	DESCRIPCIÓN	No. DE EDICIÓN NUEVA	NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CAMBIO	FECHA DE MODIFICACIÓN
N/A	EDICIÓN INICIAL	00	Ricardo Reyes	14/11/2018

9.0 BIBLIOGRAFÍA:

Farmacopea de los Estados Unidos de América 37, Formulario Nacional 32.

Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2016.

ICH Harmonised Tripartite Guideline, Text on Validation of Analytical Procedures Q2A, 27 October 1994.

Eurachem, La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Primera edición Española. 2016

10.0 ANEXOS:

Anexar las hojas de trabajo y las hojas de cálculo de todas las pruebas ejecutadas en la validación.

Como resultado se obtuvieron los protocolos de validación que se elaboraron solo por metodología y no por presentación del producto terminado, ya que se trata de un mismo principio activo en la misma matriz; es decir que para los parámetros de precisión del sistema, linealidad del sistema y exactitud del método (Recobro, precisión y Linealidad) los resultados de estas pruebas de desempeño son los mismos para la metodología de Espectrofotometría Ultra Violeta y Cromatografía

Líquida de Alto Desempeño, ya que se elaboró la cantidad de placebo según la fórmula que tuviera más de éste

5.2 Evaluación de los parámetros de desempeño de validación en las metodologías de Espectrofotometría Ultra Violeta y Cromatografía Líquida de Alto Desempeño, para la cuantificación de Sildenafil citrato tabletas

Validación por Espectrofotometría Ultravioleta visible de Sildenafil Citrato 50 mg y 100 mg

La validación de la metodología por Ultra Violeta visible para Sildenafil Citrato tabletas 50 mg se realizó de acuerdo a lo descrito en protocolo de validación de metodología analítica. A continuación, se describen las pruebas realizadas

Para la prueba de **Robustez** se analizaron muestras de producto terminado por triplicado cambiando deliberadamente las condiciones internas de longitud de onda del método de análisis:

- a) **Longitud de onda:** ± 2 nm.

Tabla N° 2. Resultados de la prueba de Robustez UV

Sildenafil Citrato 50 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			
Repetición	Condición normal	288 nm	292 nm
1	96.27127622	96.0825933	96.4341718
2	95.59568831	95.4035644	96.0958063
3	95.59568831	95.4035644	95.7574407
Promedio	95.82088428	95.6299074	96.0958063
Sildenafil Citrato 100 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			

Tabla N° 2. Continuación

Repetición	Condición normal	288 nm	292 nm
1	96.74425405	96.8982042	97.2456083
2	96.07007806	95.8817895	96.2326332
3	96.07007806	95.8817895	96.5702915
Promedio	96.29480339	96.2205944	96.6828443

En la Tabla N° 2 se presentan los resultados de la prueba de Robustez para la metodología de Espectrofotometría Ultra Violeta, con ésta se pretendía demostrar la capacidad del método para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros establecidos, tal es el caso del cambio de la longitud de onda, es decir que esta prueba proporciona una indicación de fiabilidad del método durante su uso normal. Con los resultados obtenidos se confirma que el método es robusto ya que las diferencias significativas entre la condición normal y la condición modificada son menores al 2%. Los resultados fueron, para la presentación de Tabletas de 50 mg de 0.19% y 0.27% y para la presentación de Tabletas de 100 mg son de 0.07% y 0.39%.

Para **Estabilidad** se analizaron muestras de producto terminado por triplicado en las siguientes condiciones de almacenamiento:

- a) Inicial
- b) En refrigeración 24 horas
- c) A temperatura ambiente 24 horas

Tabla N° 3. Resultados de la prueba de Estabilidad UV.

Sildenafil Citrato 50 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			
Repetición	Inicial	22 °C	5 °C
1	100.0862031	99.5414075	100.943399
2	98.3723983	99.8919054	100.592901

Tabla N° 3. Continuación

Repetición	Inicial	22 °C	5 °C
3	98.71515927	100.242403	100.242403
Promedio	99.05792024	99.8919054	100.592901
Sildenafil Citrato 100 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			
Repetición	Inicial	22 °C	5 °C
1	99.59802545	99.7462722	101.496207
2	99.94028671	100.796233	101.846194
3	99.2557642	100.446246	101.496207
Promedio	99.59802545	100.329584	101.612869

En la tabla N° 3 se presentan los resultados de la prueba de Estabilidad, con la que se pretendía demostrar la propiedad de una muestra preparada, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de ser almacenada en un tiempo y en condiciones determinadas.

Con los resultados obtenidos se confirma que el método cumple con el parámetro de Estabilidad ya que las diferencias absolutas de los valores promedio obtenidos de las condiciones de 22° C y 5° C en 24 horas son menores o iguales al 2%. Los resultados fueron, para la presentación de Tabletas de 50 mg 0.83% y 1.53%, y para la presentación de Tabletas de 100 mg 0.70% y 2.00%

Para **Especificidad** se preparó cantidad suficiente de placebo para el análisis y se analizó placebo y muestras de placebo adicionado con sus impurezas. Como no se contaba con la existencia de los compuestos USP, se degradó el placebo y las muestras en las siguientes condiciones:

- a) Degradación ácida: Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C

- b) Degradación básica: Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- c) Degradación por exposición a luz UV

Tabla N° 4. Resultados de Selectividad/ especificidad UV.

Sildenafil Citrato 50 mg				
Porcentaje sobre lo rotulado				
Repetición	Placebo Adicionado	Degradación ácida	Degradación básica	Degradación UV
1	97.87712731	88.91888176	94.89104546	96.21819295
2	98.20891419	91.57317674	93.56389797	96.8817667
Promedio	98.04302075	90.24602925	94.22747172	96.54997982
Sildenafil Citrato 100 mg				
Porcentaje sobre lo rotulado				
Repetición	Placebo Adicionado	Degradación ácida	Degradación básica	Degradación UV
1	97.51821182	88.47013031	92.15638574	96.51286943
2	97.51821182	88.80524444	92.15638574	96.1777553
Promedio	97.51821182	88.63768738	92.15638574	96.34531237

En la Tabla N° 4 se presentan los resultados de la prueba de Selectividad/Especificidad, con la que pretendía determinar la capacidad del método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés.

La aplicación de la técnica confirmatoria con muestras sometidas a estrés para determinar la Selectividad/Especificidad se realiza con el fin de generar compuestos potencialmente interferentes. Al realizar el procesamiento matemático de los datos obtenidos, se determinó que se degrada en el orden del 10% al 20%. Por lo tanto, esto no distorsiona la respuesta del analito, ni su identidad y la señal solo depende de él (misma forma del espectro de

absorbancia, y misma longitud de onda de mayor absorbancia). Los resultados para fueron, para la presentación de Tabletas de 50 mg degradación ácida 90.25%, degradación básica 94.23%, degradación por exposición a luz UV 96.55%; para la presentación de Tabletas de 100 mg degradación ácida 88.64%, degradación básica 92.16%, degradación por exposición a luz UV 96.35%

Para **Precisión del sistema** se realizó por sextuplicado del estándar de referencia. Para el **estándar** se prepararon 6 soluciones diferentes de estándar al 100%, además del estándar para calibrar.

Tabla N° 5. Resultados de la prueba de Precisión del sistema UV.

REPLICA	ESTANDAR	
	Concentración teórica	Valor de la lectura
1	0.014104256	0.293
2	0.013959844	0.290
3	0.014056119	0.292
4	0.013911707	0.289
5	0.014104256	0.293
6	0.013863569	0.288
	Promedio	0.291
	DesVesta	0.002136976
	CV	0.734776868

En la Tabla N° 5 se presentan los resultados de la prueba de Precisión del sistema, el objetivo de realizar esta prueba fue medir la variabilidad o el grado de dispersión de las respuestas del equipo utilizado (Absorbancias). El coeficiente de variación (CV) obtenido mediante esta prueba es menor 3%. El resultado obtenido con esta prueba fue de 0.74% con esto se evidencia que el Espectrofotómetro Ultra Violeta se encuentra en óptimas condiciones para brindar los resultados que se esperan.

Para **Linealidad del sistema** se realizó por triplicado en cinco niveles de concentración del estándar de referencia.

Para el **estándar de referencia** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de estándar por triplicado: 80%, 90%, 100%, 110% y 120%

Cada serie se analizó de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Tabla N° 6. Resultados de prueba de Linealidad del sistema UV

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CV_{y/x}	1.889	CV ≤ 2 ó 3%	cumple
b1	21.5	b1 ≠ 0	cumple
r²	0.9852	r² ≥ 0.98	cumple
IC (β1)	23.04	no debe incluir el cero	cumple
	19.89		
IC (β0)	0.02	debe incluir el cero	cumple
	-0.03		

En la Tabla N° 6 se presentan los resultados de la prueba de Linealidad del sistema que es la capacidad del instrumento de medición (Espectrofotómetro Ultravioleta) de emitir respuestas directamente proporcionales a la cantidad de analito presente en la muestra.

Con los resultados obtenidos se demuestra el comportamiento lineal sin necesidad de ninguna transformación matemática y el coeficiente de determinación es mayor a 0.98, el coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV_{y/x}) es menos 3%, la pendiente tiene un valor diferente de cero, el

intervalo de confianza de la pendiente no incluye cero, el intervalo de confianza para el intercepto si incluye el cero

Exactitud del método (Recobro, precisión y Linealidad)

Para **Exactitud** se realizó por triplicado en tres niveles de concentración usando placebo adicionado con el analito, los que se comparan con estándar preparado por duplicado. Se repitió para cada matriz de excipientes diferente.

Para **placebo adicionado con analito** se preparó por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de placebo adicionado con analito por triplicado: 80%, 100% y 120%.

- a) Para **estándar de referencia** se preparó por pesadas independientes o diluciones por duplicado para cada serie. Cada serie se analizó en el siguiente orden: estándar por duplicado, placebo adicionado de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Tabla N° 7. Cálculos del porcentaje de recobro UV.

	NIVEL%	mg/mL Adicionado	Lectura	mg/mL Recuperado	%Recobro
SERIE 1	80	0.011	0.237	0.01132649	101.856889
SERIE 2			0.235	0.01123090	100.997338
SERIE 3			0.235	0.01119251	100.652048
SERIE 1	100	0.014	0.304	0.01452849	105.278902
SERIE 2			0.301	0.01438512	104.239966
SERIE 3			0.298	0.01419305	102.848205
SERIE 1	120	0.017	0.344	0.01638393	98.2249769
SERIE 2			0.346	0.01653571	99.1349754
SERIE 3			0.353	0.01681258	100.794816

En la tabla N° 7 se presentan los resultados de porcentaje de recobro que mediante el cálculo del intervalo de confianza de la media poblacional que debe incluir el 100% se obtiene la Exactitud, este parámetro demuestra la proximidad entre los resultados obtenidos mediante un procedimiento analítico respecto a su valor verdadero.

El intervalo de confianza de la media poblacional de esta prueba es 99.80 al 103.30%.

Tabla N° 8. Resultados de la prueba de Linealidad del método UV.

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CVy/x	2.35436636	CV ≤ 2 ó 3%	cumple
b1	0.95579696	b1 ≠ 0	cumple
r²	0.98221	r² ≥ 0.98	cumple
IC (β1)	1.07076	debe incluir la unidad	cumple
	0.84083		
IC (βo)	0.00147779	debe incluir el cero	cumple
	-0.00080		

En las Tabla N° 8 se presentan los resultados de la prueba de Linealidad del método, que es la capacidad del método analítico de emitir resultados de prueba directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado.

El comportamiento es directamente proporcional entre la concentración adicionada y la concentración recuperada, y se evidencia con el coeficiente de determinación que es mayor a 0.98, la pendiente de la recta es diferente de cero, el intervalo de confianza de la pendiente de la recta incluye la unidad, el intervalo de confianza para el intercepto incluye el valor de cero.

Para **Repetibilidad** y **Precisión Intermedia** se realizó por sextuplicado el análisis de muestras de producto terminado.

Para las **muestras de producto terminado** se preparó seis muestras de producto terminado de un mismo lote, se repite el experimento para las siguientes condiciones:

Analista 1	Analista 2
Equipo 1	Equipo 1
Día 1	Día 2

Tabla N° 9. Resultados de la prueba de Repetibilidad 1 y 2 UV.

Sildenafil Citrato 50 mg		
ANALISTA	5	1
EQUIPO	EQCC-047	EQCC-047
MUESTRA	%	%
1	105.077257	101.227273
2	99.9870097	100.176471
3	99.9870097	98.1389831
4	99.9870097	97.6681036
5	100.335396	99.3475177
6	100.337841	98.3233165
Promedio	100.951921	99.1469441
Sildenafil Citrato 100 mg		
ANALISTA	5	1
EQUIPO	EQCC-047	EQCC-047
MUESTRA	%	%
1	102.091999	99.5115563
2	99.9870097	99.1577269
3	101.04321	96.48123
4	105.868598	100.371719
5	98.2571306	100.713119
6	99.2902361	102.078721
Promedio	101.089697	99.7190121

Tabla N° 10. Resultados de la prueba de Precisión intermedia UV.

	Analista	Promedio	Varianza	f calculado	f de tabla	Resultado
Sildenafil Citrato 50 mg	5	100.9519	4.1137517	2.2094994	5.050329	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	1	99.14694	1.8618478	t calculado 1.8086580	t de tabla 2.228138	Resultado t _{cal} <t _{tab} No hay diferencia significativa en los promedios
Sildenafil Citrato 100 mg	5	101.0896	7.2644163	f calculado 2.0378401	f de tabla 5.050329	Resultado F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	1	99.71901	3.5647625	t calculado 1.0202712	t de tabla 2.228138	Resultado t _{cal} <t _{tab} No hay diferencia significativa en los promedios

El objetivo de realizar esta prueba de Precisión fue medir la variabilidad o el grado de dispersión del método de ensayo.

En esta investigación esta prueba se midió respecto a la Repetibilidad, tales resultados se muestran en la Tabla N° 9 ya que se estudió la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (mismo analista, mismo equipo, mismos reactivos, etc.) en las mismas instalaciones del laboratorio y Precisión Intermedia tales resultados se muestran en la Tabla N° 10, con la cual se pretendía estudiar la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas distintas (diferente analista, diferente día de análisis, diferentes reactivos, etc.).

Por lo tanto, se afirma que el método es preciso ya que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por un analista y otro.

Validación por Cromatografía Líquida de Alta Resolución de Sildenafil Citrato 50 mg y 100 mg

La validación de la metodología por Cromatografía Líquida de Alta Resolución para Sildenafil Citrato tabletas 50 mg se realizó de acuerdo a lo descrito en protocolo de validación de metodología analítica. A continuación, se describen las pruebas realizadas

Para **Robustez** se analizó muestra de producto terminado por triplicado cambiando deliberadamente las condiciones internas del método de análisis:

- Volumen de inyección: $\pm 2 \%$
- Flujo de la fase móvil: $\pm 1 \%$
- Longitud de onda: $\pm 2 \text{ nm}$
- Temperatura de la columna: $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$

Tabla N° 11. Resultados de la prueba de Robustez de Sildenafil Citrato 50 mg HPLC.

		Sildenafil Citrato 50 mg		
		Porcentaje sobre lo rotulado		
Replica		Normal	19 μL	22 μL
	1	95.785002	97.7666528	97.65332
	2	95.7296619	97.4327552	97.62267
	3	95.1869813	97.1694957	97.1618
	Promedio	95.567215	97.4563012	97.4792479
Replica		Normal	99% FM	101% FM
	1	95.78500196	97.5824013	97.70146
	2	95.7296619	97.4500175	97.70563
	3	95.1869813	97.6785477	97.4038
	Promedio	95.567215	97.5703222	97.60363
Replica		Normal	288 nm	292nm
	1	95.78500196	97.1991913	97.47052
	2	95.7296619	97.5095854	97.45672
	3	95.1869813	96.819457	97.0250
	Promedio	95.567215	97.1760779	97.3174138

Tabla N° 11. Continuación

Replica	Normal	28 grados	32 grados
1	95.78500196	97.1551834	96.89854
2	95.72966187	97.3483891	96.92860
3	95.18698131	97.1622197	97.0266

Tabla N° 12. Resultados de la prueba de Robustez de Sildenafil Citrato 100 mg HPLC

Sildenafil Citrato 100 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			
Replica	Normal	19 µL	22 µL
1	97.44565330	97.3868247	97.3877826
2	97.5163089	97.5485952	97.2487241
3	96.8588596	97.08697850	96.9602367
Promedio	97.27360725	97.3407995	97.1989145
Replica	Normal	99% FM	101% FM
1	97.44565330	96.9528513	96.956473
2	97.5163089	97.1921101	97.353191
3	96.8588596	97.9034556	96.967035
Promedio	97.2736072	97.3494723	97.0922328
Replica	Normal	288 nm	292nm
1	97.44565330	97.0554410	96.28768
2	97.5163089	97.3239447	96.13789
3	96.8588596	97.8731371	96.95021
Promedio	97.2736072	97.4175076	96.4585949
Replica	Normal	28 grados	32 grados
1	97.44565330	97.2601331	97.400423
2	97.51630887	96.8451988	97.341717
3	96.85885957	96.9694674	97.066178
Promedio	97.2736072	97.0249331	97.2694393

En la Tabla N° 11 y 12 se presentan los resultados de la prueba de Robustez para la metodología de Cromatografía Líquida de Alto Desempeño, con ésta se

pretendía demostrar la capacidad del método para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros establecidos, tal es el caso del cambio de volumen de inyección, flujo de la fase móvil, longitud de onda del detector y temperatura de la columna es decir que esta prueba proporciona una indicación de fiabilidad del método durante su uso normal.

Con los resultados obtenidos se confirma que el método es robusto ya que las diferencias significativas entre la condición normal y las condiciones modificadas son menores o iguales al 2%.

Los resultados fueron, para la presentación de Tabletas de 50 mg en el cambio de volumen de inyección 1.89% y 1.91%; en el flujo de fase móvil 2.00% y 2.00%; en el cambio de longitud de onda del detector 1.61% y 1.75% y para la temperatura de la columna 1.65% y 1.38%. Para la presentación de Tabletas de 100 mg en el cambio de volumen de inyección 0.07% y 0.07%; en el flujo de fase móvil 0.08% y 0.18%; en el cambio de longitud de onda del detector 0.14% y 0.82% y para la temperatura de la columna 0.25% y 0.00%.

Para **Estabilidad** se analizó muestra de producto terminado por triplicado en las siguientes condiciones de almacenamiento:

- a) Inicial
- b) En refrigeración 24 horas
- c) A temperatura ambiente 24 horas

Tabla N° 13. Resultados de la prueba de Estabilidad HPLC.

Sildenafil Citrato 50 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			
Replica	Inicial	22 °C	5 °C
1	99.7718546	100.958809	101.04188
Replica	Inicial	22 °C	5 °C
2	99.8271172	100.914882	100.949844

Tabla N° 13. Continuación

3	99.6586695	100.748739	101.048753
Promedio	99.7525471	100.874143	101.013492
Sildenafil Citrato 100 mg			
Porcentaje sobre lo rotulado			
Replica	Inicial	22 °C	5 °C
1	97.4948795	99.2141977	99.2920266
2	97.8054140	99.1536642	99.1608209
3	97.7266745	99.2276165	99.0442267
Promedio	97.675656	99.1984928	99.1656914

En la tabla N° 12 se presentan los resultados de la prueba de Estabilidad, con la que se pretendía demostrar la propiedad de una muestra preparada, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de ser almacenada en un tiempo y en condiciones determinadas.

Con los resultados obtenidos se confirma que el método cumple con el parámetro de Estabilidad ya que las diferencias absolutas de los valores promedio obtenidos de las condiciones de 22° C y 5° C en 24 horas son menores al 2%. Los resultados fueron, para la presentación de Tabletas de 50 mg 1.12% y 1.26%, y para la presentación de Tabletas de 100 mg 1.52% y 1.49%

Para **Especificidad** se preparó cantidad suficiente de placebo para el análisis y se analizó placebo y muestras de placebo adicionado con sus impurezas. Como no se contaba con la existencia de los compuestos USP, se degradó el placebo y las muestras en las siguientes condiciones:

- a) Degradación ácida: Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- b) Degradación básica: Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C

c) Degradación por Exposición a luz UV

Tabla N° 14. Resultados de la prueba de Selectividad/ Especificidad HPLC.

Sildenafil Citrato 50 mg				
Porcentaje sobre lo rotulado				
Repetición	Placebo Adicionado	Degradación ácida	Degradación básica	Degradación UV
1	97.45	81.62	88.3562135	92.9467041
2	97.51	81.44	88.7437033	93.3477179
Promedio	97.477660	81.5308942	88.5499584	93.147211
Sildenafil Citrato 100 mg				
Porcentaje sobre lo rotulado				
Repetición	Placebo Adicionado	Degradación ácida	Degradación básica	Degradación UV
1	96.80	80.21	86.4700662	92.1148420
2	96.21	80.31	86.4971014	91.6584758
Promedio	96.501599	80.2626935	86.4835838	91.8866589

En la Tabla N° 14 se presentan los resultados de la prueba de Selectividad/Especificidad, con la que pretendía determinar la capacidad del método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés.

La aplicación de la técnica confirmatoria con muestras sometidas a estrés para determinar la Selectividad/Especificidad se realiza con el fin de generar compuestos potencialmente interferentes.

Al realizar el procesamiento matemático de los datos obtenidos, se determinó que se degrada en el orden del 10% al 20%. Por lo tanto, esto no distorsiona la respuesta del analito, ni su identidad y la señal solo depende de él (misma forma del pico cromatográfico, mismo tiempo de retención). Los resultados para fueron, para la presentación de Tabletas de 50 mg degradación ácida 81.53%,

degradación básica 88.55%, degradación por exposición a luz UV 93.15%; para la presentación de Tabletas de 100 mg degradación ácida 80.26%, degradación básica 86.48%, degradación por exposición a luz UV 91.89%

Para **Precisión del sistema** se realizó por sextuplicado del estándar de referencia. Para el **estándar** se prepararán 6 soluciones diferentes de estándar al 100%, además del estándar para calibrar.

Tabla N° 15. Resultados de la prueba de Precisión del sistema HPLC

REPLICA	ESTANDAR	
	Concentración teórica	Valor de la lectura
1	0.014106460	352140
2	0.013957640	348425
3	0.013967535	348672
4	0.013720129	342496
5	0.013527564	337689
6	0.013424051	335105
	Promedio	344087.833
	DesVesta	6765.105806
	CV	1.966098522

En la Tabla N° 15 se presentan los resultados de la prueba de Precisión del sistema, el objetivo de realizar esta prueba fue medir la variabilidad o el grado de dispersión de las respuestas del equipo utilizado (Áreas). El coeficiente de variación (CV) obtenido mediante esta prueba es menor 2%. El resultado obtenido con esta prueba fue de 1.97% con esto se evidencia que el Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño se encuentra en óptimas condiciones para brindar los resultados que se esperan

Para **Linealidad del sistema** se realizó por triplicado en cinco niveles de concentración del estándar de referencia.

Para el **estándar de referencia** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de estándar por triplicado: 80%, 90%, 100%, 110% y 120%

Cada serie se analizó de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Tabla N° 16. Resultados de Linealidad del sistema HPLC.

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CV_{y/x}	0.798	CV ≤ 2 ó 3%	cumple
b₁	24437889.7	b₁ ≠ 0	cumple
r²	0.9973	r² ≥ 0.98	cumple
IC (β₁)	25192684.36	no debe incluir el cero	cumple
	23683095.02		
IC (β₀)	4427.38	debe incluir el cero	cumple
	-16764.71		

En la Tabla N° 16 se presentan los resultados de la prueba de Linealidad del sistema que es la capacidad del instrumento de medición (Cromatógrafo Líquido de Alto Desempeño) de emitir respuestas directamente proporcionales a la cantidad de analito presente en la muestra. Con los resultados obtenidos se demuestra el comportamiento lineal sin necesidad de ninguna transformación matemática y el coeficiente de determinación es mayor a 0.98, el coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV_{y/x}) es menos 3%, la pendiente tiene un valor diferente de cero, el intervalo de confianza de la pendiente no incluye cero, el intervalo de confianza para el intercepto si incluye el cero

Exactitud del método (Recobro, precisión y Linealidad)

Para **Exactitud** se realizó por triplicado en tres niveles de concentración usando placebo adicionado con el analito, los que se comparan con estándar preparado por duplicado. Se repitió para cada matriz de excipientes diferente.

- a) Para **placebo adicionado con analito** se preparó por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de placebo adicionado con analito por triplicado: 80%, 100% y 120%.
- b) Para **estándar de referencia** se preparó por pesadas independientes o diluciones por duplicado para cada serie. Cada serie se analizó en el siguiente orden: estándar por duplicado, placebo adicionado de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Tabla N° 17. Cálculos de porcentaje de Recobro HPLC

	NIVEL%	mg/mL Adicionados	Lectura	mg/mL Recuperados	%Recobro
SERIE 1	80	0.011	266855	0.01114491	100.224014
SERIE 2			262942	0.01103318	99.2192546
SERIE 3			266896	0.01114846	100.255895
SERIE 1	100	0.014	336228	0.0140422	101.755063
SERIE 2			330880	0.01388389	100.607931
SERIE 3			335527	0.01401523	101.559611
SERIE 1	120	0.017	401245	0.01676032	100.481528
SERIE 2			395254	0.01658506	99.4308181
SERIE 3			401112	0.01675476	100.448221

En la tabla N° 17 se presentan los resultados de porcentaje de recobro que mediante el cálculo del intervalo de confianza de la media poblacional que debe incluir el 100% se obtiene la Exactitud, este parámetro demuestra la proximidad entre los resultados obtenidos mediante un procedimiento analítico respecto a su valor verdadero. El intervalo de confianza de la media poblacional de esta prueba es de 99.78 al 101.09%.

Tabla N° 18. Resultados de la prueba de Linealidad del método HPLC.

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CVy/x	0.87966008	CV ≤ 2 ó 3%	cumple
b1	1.00485009	b1 ≠ 0	cumple
r²	0.99776	r² ≥ 0.98	cumple
IC (β1)	1.04739	debe incluir la unidad	cumple
	0.96231		
IC (βo)	0.00024233	debe incluir el cero	cumple
	-0.00060		

En las Tabla N° 18 se presentan los resultados de la prueba de Linealidad del método, que es la capacidad del método analítico de emitir resultados de prueba directamente proporcionales a la concentración del analito dentro de un intervalo dado.

El comportamiento es directamente proporcional entre la concentración adicionada y la concentración recuperada, y se evidencia con el coeficiente de determinación que es mayor a 0.98, la pendiente de la recta es diferente de cero, el intervalo de confianza de la pendiente de la recta incluye la unidad, el intervalo de confianza para el intercepto incluye el valor de cero

Para **Repetibilidad** y **Precisión Intermedia** se realizó por sextuplicado el análisis de muestras de producto terminado.

Para las **muestras de producto terminado** se preparó seis muestras de producto terminado de un mismo lote, se repite el experimento para las siguientes condiciones:

Analista 1	Analista 2
Equipo 1	Equipo 1
Día 1	Día 2

Tabla N° 19. Resultados de la prueba de Repetibilidad 1 y 2 HPLC.

Sildenafil Citrato 50 mg		
ANALISTA	5	1
EQUIPO	EQCC-0008	EQCC-0008
MUESTRA	% SR	% SR
1	98.3388996	96.5999437
2	99.9262104	99.0038680
3	97.0672805	98.0766456
4	98.6626232	96.9777086
5	98.5568809	97.8897687
6	100.218971	97.2641635
Promedio	98.7951443	97.6353497
Sildenafil Citrato 100 mg		
ANALISTA	5	1
EQUIPO	EQCC-0008	EQCC-0008
MUESTRA	% SR	% SR
1	98.1945092	97.3201787
2	99.1619658	97.9754101
3	99.3329248	97.6914692
4	98.0549132	96.9234219
5	97.3750156	96.1029759
6	98.8726065	97.1290591
Promedio	98.4986558	97.1904192

Tabla N° 20. Resultados de la prueba de Precisión intermedia HPLC

	Analista	Promedio	Varianza	f calculado	f de tabla	Resultado
Sildenafil Citrato 50 mg	5	98.79514	1.3149194	1.7417765	5.050329	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	1	97.63534	0.7549300	1.9746373	2.228138	t _{cal} <t _{tab} No hay diferencia significativa en los promedios
	Analista	Promedio	Varianza	f calculado	f de tabla	Resultado
Sildenafil Citrato 100 mg	5	98.49865	0.5655607	1.3203642	5.050329	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	1	97.19041	0.4283369	1.7846625	2.228138	t _{cal} <t _{tab} No hay diferencia significativa en los promedios

El objetivo de realizar esta prueba de Precisión fue medir la variabilidad o el grado de dispersión del método de ensayo. En esta investigación esta prueba se midió respecto a la Repetibilidad, tales resultados se muestran en la Tabla N° 19 ya que se estudió la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra en las mismas condiciones operativas (mismo analista, mismo equipo, mismos reactivos, etc.) en las mismas instalaciones del laboratorio y Precisión Intermedia tales resultados se muestran en la Tabla N° 20, con la cual se pretendía estudiar la variabilidad del método efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, pero en condiciones operativas distintas (diferente analista, diferente día de análisis, diferentes reactivos, etc.).

Por lo tanto, se afirma que el método es preciso ya que no existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por un analista y otro

5.3 Redacción de los correspondientes Informes de Validación

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 5

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

PRINCIPIO ACTIVO:	Sildenafil Citrato
NOMBRE DEL PRODUCTO (S) :	Sildenafil Citrato tabletas 50mg
FORMA FARMACÉUTICA:	Tabletas
CONCENTRACIÓN:	70.225 mg de Sildenafil Citrato equivalente a 50 mg de Sildenafil
EQUIPO:	EQCC-0008

Introducción.

Se realizó una validación del método analítico, para corroborar que el método utilizado cumple con los parámetros para ser definido como específico, exacto, preciso y robusto.

La validación de los métodos analíticos será efectuada de acuerdo al principio activo a evaluar, esto permite que varias presentaciones o formas farmacéuticas sean abarcadas en una misma validación; haciendo los ajustes necesarios para cada tipo de forma farmacéutica según sea necesario.

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Robustez	Promedio de contenido	-----	47.91 mg	N/A
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----	$X_0 = 95.82\%$ $X_i = 95.63\%$ $X_{ii} = 96.09\%$	N/A
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$ métodos cromatografía y volumétricos $\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos	$\Delta_i = 0.190\%$ $\Delta_{ii} = 0.275$	CUMPLE
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	0.834% 1.535%	CUMPLE
Especificidad/selectividad	La respuesta del método debe ser únicamente debida al analito	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	$X_0 = 98.04\%$ $X_i = 90.25\%$ $X_{ii} = 94.23\%$ $X_{iii} = 96.55\%$	CUMPLE
Precisión del sistema	Promedio	-----	0.291	N/A
	Desviación estándar	-----	0.00213697 6	N/A
	Coefficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos $\leq 3\%$ métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	0.735%	CUMPLE
Linealidad del sistema	Coefficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9852	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Linealidad del sistema	Coefficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	≤2% métodos cromatográficos y volumétricos ≤3% métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	1.889	CUMPLE
	Pendiente (b_1)	≠0	21.5	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	No debe incluir el cero	$IC(\beta_1) = (23.0-19.89)$	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	$IC(\beta_0) = (0.02- -0.03)$	CUMPLE
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro			
	Porcentaje de recobro	97 – 103% métodos químicos y espectrofotométricos 98 – 102% métodos cromatográficos y volumétricos	101.56%	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo	Límite superior= 103.31% Límite Inferior= 99.81%	CUMPLE
	Linealidad del método			
	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.98221	CUMPLE
	Pendiente	$\neq 0$	0.955797	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad	IC(β_1)= (1.071- 0.841)	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	IC (β_0)= (0.0015- - 0.00080)	CUMPLE
	Precisión			
	Promedio	-----	101.56%	N/A
	Coeficiente de variación	$\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos $\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos	2.25%	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Repetibilidad	Promedio	-----	100.95%	N/A
	Coefficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	2.01%	CUMPLE
Precisión intermedia	Promedio	-----	100.95%	N/A
			99.15%	
	Coefficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	2.01% 1.38%	CUMPLE
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	2.21 < 5.01	CUMPLE
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	1.81 < 2.23	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-002	Código de Informe de validación: IVMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 5

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

PRINCIPIO ACTIVO:	Sildenafil Citrato
NOMBRE DEL PRODUCTO (S) :	Sildenafil Citrato tabletas 50mg
FORMA FARMACÉUTICA:	Tabletas
CONCENTRACIÓN:	70.225 mg de Sildenafil Citrato equivalente a 50 mg de Sildenafil
EQUIPO:	EQCC-047

Introducción.

Se realizó una validación del método analítico, para corroborar que el método utilizado cumple con los parámetros para ser definido como específico, exacto, preciso y robusto.

La validación de los métodos analíticos será efectuada de acuerdo al principio activo a evaluar, esto permite que varias presentaciones o formas farmacéuticas sean abarcadas en una misma validación; haciendo los ajustes necesarios para cada tipo de forma farmacéutica según sea necesario.

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-002	Código de Informe de validación: IVMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Robustez	Promedio de contenido	-----	47.79 mg	N/A
Robustez	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----	$X_0 = 95.56\%$ $X_i = 97.45\%$ $X_{ii} = 97.48\%$ $X_{iii} = 97.57\%$ $X_{iv} = 97.60\%$ $X_v = 97.18\%$ $X_{vi} = 97.32\%$ $X_{vii} = 97.22\%$ $X_{viii} = 96.95\%$	N/A
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$ métodos cromatografía y volumétricos $\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos	$\Delta_i = 1.889\%$ $\Delta_{ii} = 1.912\%$ $\Delta_{iii} = 2.00\%$ $\Delta_{iv} = 2.00\%$ $\Delta_v = 1.609\%$ $\Delta_{vi} = 1.750\%$ $\Delta_{vii} = 1.655\%$ $\Delta_{viii} = 1.38\%$	CUMPLE
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	1.122% 1.261%	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-002	Código de Informe de validación: IVMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Especificidad/ selectividad	La respuesta del método debe ser únicamente debida al analito	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	$X_0=97.48\%$ $X_i=81.53\%$ $X_{ii}=88.55\%$ $X_{iii}=93.15\%$	CUMPLE
Precisión del sistema	Promedio	-----	344087.833	N/A
	Desviación estándar	-----	6765.105	N/A
	Coefficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos $\leq 3\%$ métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	1.966%	CUMPLE
Linealidad del sistema	Coefficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9973	CUMPLE
	Coefficiente de variación de los factores de respuesta ($CV_{y/x}$)	$\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos $\leq 3\%$ métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	0.798	CUMPLE
	Pendiente (b_1)	$\neq 0$	24437889.7	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	No debe incluir el cero	$IC(\beta_1) = (25192684.36 - 23683095.0)$	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	$IC(\beta_0) = (4427.38 - 16764.71)$	CUMPLE
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro			
	Porcentaje de recobro	97 – 103% métodos químicos y espectrofotométricos 98 – 102% métodos cromatográficos y volumétricos	100.44%	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-002	Código de Informe de validación: IVMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo	Limite Superior= 101.09% Limite Inferior= 99.80%	CUMPLE
	Linealidad del método			
	Coficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.99776	CUMPLE
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Pendiente	$\neq 0$	1.00485008 7	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad	IC(β_1)= (1.0473906 0.96230957 3)	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	IC (β_0)= (0.0002423 29 -0.00060)	CUMPLE
	Precisión			
	Promedio	-----	100.43%	N/A
	Coficiente de variación	$\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos $\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos	0.83%	CUMPLE
Repetibilidad	Promedio	-----	98.80%	N/A

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 50 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-002	Código de Informe de validación: IVMA-CC-002	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Repetibilidad	Desviación estándar	-----	1.14669937 7	N/A
	Coeficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	1.17%	CUMPLE
Precisión intermedia	Promedio	-----	98.80% 97.64%	N/A
	Coeficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	1.16% 0.89%	CUMPLE
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	1.75 < 5.05	CUMPLE
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	1.97 < 2.23	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-003	Código de Informe de validación: IVMA-CC-003	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 5

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

PRINCIPIO ACTIVO:	Sildenafil Citrato
NOMBRE DEL PRODUCTO (S) :	Sildenafil Citrato tabletas 100mg
FORMA FARMACÉUTICA:	Tabletas
CONCENTRACIÓN:	140.45 mg de Sildenafil Citrato equivalente a 100 mg de Sildenafil
EQUIPO:	EQCC-0008

Introducción.

Se realizó una validación del método analítico, para corroborar que el método utilizado cumple con los parámetros para ser definido como específico, exacto, preciso y robusto.

La validación de los métodos analíticos será efectuada de acuerdo al principio activo a evaluar, esto permite que varias presentaciones o formas farmacéuticas sean abarcadas en una misma validación; haciendo los ajustes necesarios para cada tipo de forma farmacéutica según sea necesario

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-003	Código de Informe de validación: IVMA-CC-003	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Robustez	Promedio de contenido	-----	96.29 mg	N/A
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----	$X_0= 96.29\%$ $X_i =96.23\%$ $X_{ii}= 96.68\%$	N/A
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$ métodos cromatografía y volumétricos $\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos	$\Delta_i= 0.074\%$ $\Delta_{ii}=0.389 \%$	CUMPLE
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	0.732% 2.0%	CUMPLE
Especificidad/ selectividad	La respuesta del método debe ser únicamente debida al analito	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	$X_0=97.52\%$ $X_i =88.64\%$ $X_{ii}=92.16\%$ $X_{iii}=96.35\%$	CUMPLE
Precisión del sistema	Promedio	-----	0.291	N/A
	Desviación estándar	-----	0.002136976	N/A
	Coefficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos $\leq 3\%$ métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	0.735%	CUMPLE
Linealidad del sistema	Coefficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9852	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-003	Código de Informe de validación: IVMA-CC-003	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Linealidad del sistema	Coefficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	$\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos $\leq 3\%$ métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	1.889	CUMPLE
	Pendiente (b_1)	$\neq 0$	21.5	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	No debe incluir el cero	$IC(\beta_1) = (23.0-19.89)$	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	$IC(\beta_0) = (0.02- -0.03)$	CUMPLE
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro			
	Porcentaje de recobro	97 – 103% métodos químicos y espectrofotométricos 98 – 102% métodos cromatográficos y volumétricos	101.56%	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo	Límite Superior= 103.31% Límite Inferior= 99.81%	CUMPLE
	Linealidad del método			
	Coefficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.98221	CUMPLE
Pendiente	$\neq 0$	0.955797	CUMPLE	

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-003	Código de Informe de validación: IVMA-CC-003	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	Debe incluir la unidad	$IC(\beta_1) = (1.071-0.841)$	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	$IC(\beta_0) = (0.0015 - 0.00080)$	CUMPLE
	Precisión			
	Promedio	-----	101.56%	N/A
	Coficiente de variación	$\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos $\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos	2.25%	CUMPLE
Repetibilidad	Promedio	-----	101.09%	N/A
	Desviación estándar	-----	2.695258117	N/A
	Coficiente de variación	$\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos $\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos	2.67%	CUMPLE
Precisión intermedia	Promedio	-----	101.09% 99.72%	N/A

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS				
Código: IVA-CC-003	Código de Informe de validación: IVMA-CC-003	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 5

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Precisión intermedia	Coeficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos	2.67%	CUMPLE
		≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	1.90%	
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	2.04 < 5.05	CUMPLE
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	1.02 < 2.23	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-004	Código de Informe de validación: IVMA-CC-004	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 4

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

PRINCIPIO ACTIVO:	Sildenafil Citrato
NOMBRE DEL PRODUCTO (S) :	Sildenafil Citrato tabletas 100mg
FORMA FARMACÉUTICA:	Tabletas
CONCENTRACIÓN:	140.45 mg de Sildenafil Citrato equivalente a 100 mg de Sildenafil
EQUIPO:	EQCC-047

Introducción.

Se realizó una validación del método analítico, para corroborar que el método utilizado cumple con los parámetros para ser definido como específico, exacto, preciso y robusto.

La validación de los métodos analíticos será efectuada de acuerdo al principio activo a evaluar, esto permite que varias presentaciones o formas farmacéuticas sean abarcadas en una misma validación; haciendo los ajustes necesarios para cada tipo de forma farmacéutica según sea necesario

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-004	Código de Informe de validación: IVMA-CC-004	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 4

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Robustez	Promedio de contenido	-----	97.28 mg	N/A
Robustez	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----	$X_0= 97.28\%$ $X_i =97.34\%$ $X_{ii} =97.20\%$ $X_{iiv}=97.35\%$ $X_{iv} =97.09\%$ $X_v =97.42\%$ $X_{vi} =96.46\%$ $X_{vii}=97.03\%$ $X_{viii}=97.27\%$	N/A
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$ métodos cromatografía y volumétricos $\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos	$\Delta_i =0.067\%$ $\Delta_{ii} =0.075\%$ $\Delta_{iii}=0.076\%$ $\Delta_{iv}=0.181\%$ $\Delta_v =0.144\%$ $\Delta_{vi}=0.815\%$ $\Delta_{vii}=0.249\%$ $\Delta_{viii}=0.004\%$	CUMPLE
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	1.523% 1.409%	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-004	Código de Informe de validación: IVMA-CC-004	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 4

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Especificidad/selectividad	La respuesta del método debe ser únicamente debida al analito	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	X ₀ =96.51% X _i =80.26% X _{ii} =86.48% X _{iii} =91.89%	CUMPLE
Precisión del sistema	Promedio	-----	344087.833	N/A
	Desviación estándar	-----	6765.105	N/A
Precisión del sistema	Coeficiente de variación (CV)	≤2% métodos cromatográficos y volumétricos ≤3% métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	1.966%	CUMPLE
Linealidad del sistema	Coeficiente de determinación (r ²)	≥0.98	0.9973	CUMPLE
	Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV _{y/x})	≤2% métodos cromatográficos y volumétricos ≤3% métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	0.798	CUMPLE
	Pendiente (b ₁)	≠0	24437889.7	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β ₁)	No debe incluir el cero	IC(β ₁) = (25192684.36- 23683095.0)	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	IC(β ₀)= (4427.38 -16764.71)	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-004	Código de Informe de validación: IVMA-CC-004	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 4

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro			
	Porcentaje de recobro	97 – 103% métodos químicos y espectrofotométricos 98 – 102% métodos cromatográficos y volumétricos	100.44%	CUMPLE
	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo	Límite Superior= 101.09% Límite Inferior= 99.80%	CUMPLE
	Linealidad del método			
	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.99776	CUMPLE
	Pendiente	$\neq 0$	1.004850087	CUMPLE
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad	IC(β_1) = (1.0473906 0.962309573)	CUMPLE
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	IC (β_0) = (0.000242329 -0.00060)	CUMPLE
	Precisión			
	Promedio	-----	100.43%	N/A
	Coeficiente de variación	$\leq 3\%$ métodos químicos y espectrofotométricos $\leq 2\%$ métodos cromatográficos y volumétricos	0.83%	CUMPLE

INFORME DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE SILDENAFIL CITRATO EN TABLETAS 100 mg POR HPLC				
Código: IVA-CC-004	Código de Informe de validación: IVMA-CC-004	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 4

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Repetibilidad	Promedio	-----	98.50%	N/A
	Desviación estándar	-----	0.752037761	N/A
	Coeficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	0.76%	CUMPLE
Precisión intermedia	Promedio	-----	98.50%	N/A
			97.65%	
	Coeficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos	0.76%	CUMPLE
			0.90%	
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	1.32 < 5.05	CUMPLE
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	1.78 < 2.23	CUMPLE

5.4 Comparación de los resultados de los parámetros de desempeño de validación de metodologías analíticas mediante el uso del estadístico de prueba “F de Fisher”

La comparación de metodologías analíticas se realizó utilizando el estadístico de prueba F, el cual se obtuvo a partir del **análisis de datos** del software Excel 2016. Los parámetros a comparar fueron robustez, estabilidad, selectividad, precisión del sistema, linealidad del sistema, recobro (precisión y exactitud del método), Linealidad del método y repetibilidad.

Tabla N° 21. Resumen de prueba F de Fisher, para la comparación de dos metodologías analíticas.

Parámetros		F calculado	F de tabla	Dictamen
Robustez	Condición normal	1.39	19	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	288 nm	1.29	19	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	292 nm	1.78	19	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
Estabilidad	Inicial	111.54	19	F _{calc} >F _{tab} varianzas son estadísticamente diferentes
	22° C	10.01	19	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	5° C	40.28	19	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales

Tabla N° 21. Continuación.

Selectividad	Degradación ácida	0.004490578	0.00619396	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
Parámetros		F calculado	F de tabla	Dictamen
Selectividad	Degradación básica	0.085247627	0.00619396	F _{calc} >F _{tab} varianzas son estadísticamente diferentes
	Degradación UV	0.36520794	0.00619396	F _{calc} >F _{tab} varianzas son estadísticamente diferentes
Precisión del sistema	Lecturas	9.97815E-14	0.1980069	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
Linealidad del sistema	Lecturas	7.80855E-13	0.40262094	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
Recobro (Precisión y exactitud)	% Recobro	7.406130063	3.43810123	F _{calc} >F _{tab} varianzas son estadísticamente diferentes
Linealidad del método	Concentración recuperada	0.919075883	0.29085822	F _{calc} >F _{tab} varianzas son estadísticamente diferentes
Repetibilidad	% S/R 50 mg UV	3.128519937	5.05032906	F _{calc} <F _{tab} Varianzas son estadísticamente iguales
	% S/R 50 mg HPLC			
	% S/R 100 mg UV	12.84462502	5.05032906	F _{calc} >F _{tab} varianzas son estadísticamente diferentes
	% S/R 100 mg HPLC			

5.5 Determinar si existe diferencia significativa en el uso de las metodologías Espectrofotometría UV y Cromatografía líquida HPLC para la cuantificación de Sildenafil Citrato

Para determinar si existe diferencia significativa en el uso de la metodología por Espectrofotometría Ultravioleta y por Cromatografía líquida de alto desempeño se realizaron en primer lugar las pruebas de validación de metodologías analíticas fisicoquímicas a cada una, posteriormente se comparó mediante el uso de la prueba F de Fisher la respuesta de los parámetros de validación. Por lo detallado en la Tabla N° 20 donde se evidencia que en la comparación de los parámetros de Precisión y Exactitud obtenidos del porcentaje de recobro, las varianzas de ambas respuestas son estadísticamente diferente, lo que significa que si existen diferencias significativas entre el uso de una metodología u otra, así que podemos afirmar que la metodología por Cromatografía líquida de alto desempeño es más precisa y exacta para cuantificar el Sildenafil Citrato; esto lo respaldamos con la prueba de Linealidad del método ya que sus resultados nos revela que el método análisis es capaz de emitir las respuestas solo del analito, en la comparación de esta prueba se observa que las varianzas son estadísticamente diferentes, y se confirma con el parámetro de Selectividad/Especificidad ya que también las varianzas son estadísticamente diferentes en dos de tres pruebas realizadas. Por lo tanto, podemos afirmar que la metodología por Cromatografía líquida de alto desempeño es más selectiva para la determinación del analito.

CAPITULO V
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Se validaron dos metodologías analíticas para la cuantificación de Sildenafil Citrato en tabletas de 50 y 100mg y se demostró que la metodología por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño es la más idónea para tal determinación
2. Los resultados obtenidos en la validación de la determinación de contenido de Sildenafil Citrato en tabletas de 50mg y 100mg por Espectrofotometría Ultra Violeta y por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño se afirma que, ambos métodos cumplen con los parámetros de:

Robustez, ya que las diferencias absolutas de los valores promedios obtenidos de los cambios realizados son menores o igual a 2%.

Estabilidad por que las diferencias absolutas de los valores promedio obtenidos de las condiciones en 24 horas es menor o igual al 2%.

Selectividad/ Especificidad, ya que la respuesta obtenida se debe únicamente a la del analito

Precisión del sistema ya que el coeficiente de variación (CV) obtenido es menor o igual al 3% para método por UV y menor o igual a 2% para método HPLC

Linealidad del sistema, ya que el coeficiente de determinación es mayor 0.98, el coeficiente de variación de los factores de respuesta ($CV_{y/x}$) es menos o igual a 3% para el método UV y es menor o igual a 2% para el método HPLC, la pendiente tiene un valor diferente de cero, el intervalo de confianza de la pendiente no incluye cero, el intervalo de confianza para el intercepto si incluye el cero.

Exactitud, ya que el intervalo de confianza de la media poblacional del obtenida del cálculo de porcentaje de recobro incluye el 100%.

Linealidad del método, el coeficiente de determinación es mayor o igual al 0.98, la pendiente de la recta es diferente de cero para, el intervalo de confianza de la pendiente de la recta incluye la unidad, el intervalo de confianza para el intercepto incluye el valor de cero.

Precisión, ya que el coeficiente de variación de los factores de respuesta ($CV_{y/x}$ concentración recuperada/ concentración adicionada) es menor o igual al 2% para el método UV y es menor o igual al 3% para el método HPLC

Repetibilidad, ya que el coeficiente de variación obtenido mediante esta prueba es menor o igual al 3% para el método UV y es menor o igual 2% para el método HPLC.

Precisión intermedia, ya que no existe diferencia significativa en la respuesta de ambos métodos con respecto al cambio de analista.

- 3 A partir del uso de la prueba F de Fisher se puede afirmar que, si existen diferencias significativas en uso de la metodología por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño sobre la metodología por Espectrofotometría Ultravioleta para la determinación de Sildenafil Citrato en tabletas de 50mg y 100mg, ya que este método demostró ser más Preciso, Exacto y Selectivo.

CAPITULO VII.
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES.

A futuras investigaciones:

1. Realizar la validación de la hoja de cálculo de Excel 2016 elaborada para procesar los datos obtenidos en la validación de la determinación de contenido de Sildenafil Citrato en tabletas de 50mg y 100mg por Espectrofotometría Ultra Violeta y por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño

Al Laboratorio Farmacéutico Nacional

1. Realizar la transferencia tecnológica y calificación técnica al personal Análisis Físicoquímico de Producto Terminado para utilizar la metodología por Cromatografía Líquida de Alto Desempeño para determinación de Sildenafil Citrato en Tabletas de 50 mg y 100 mg.
2. Para futuras validaciones analíticas físicoquímicas ensayar el parámetro de Especificidad/ Selectividad usando Compuestos relacionados USP, ya que en esta investigación se realizó partiendo de la degradación del placebo y placebo adicionado con analito
3. Si para la cuantificación de Sildenafil Citrato en tabletas de 50 mg y 100 mg se opta emplear la metodología por Espectrofotometría Ultravioleta, realizar los respectivos análisis de riesgos, con los cuales se podrá garantizar la validez de los resultados, así como también verificar el comportamiento histórico del analito en estas condiciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria. Validación de Métodos Analíticos. Edición 2001
2. B.G. Katzung. S.B. Masters. A.J. Trevor. Farmacología básica y clínica. 12a edición McGraw-Hill Interamericana, México DF, 2013.
3. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C. Métodos Analíticos, Guía de validación. Edición 2002
4. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de la Salud (2011). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
5. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de la Salud (2016). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
6. Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos. (2014). Trigésima séptima revisión y Formulario Nacional trigésima segunda edición. Estados Unidos de América.
7. López Iraheta, J.O. Propuesta de validación del método de cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación de cloranfenicol colirio. Trabajo de graduación para optar al grado de Licenciado en Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 2017.

8. Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) (2010). Guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos versión 1. El salvador.
9. Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) (2018). Guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos versión 2. El salvador.

10. Procedimiento interno de validación de métodos analíticos del Laboratorio Farmacéutico Nacional.

11. RTCA 11.03.39: 06. Reglamento Técnico Centroamericano, productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.

12. RTCA 11.03.42:07. Reglamento Técnico Centroamericano, productos farmacéuticos. Medicamentos de uso humano. Buenas Prácticas de Manufactura para la industria Farmacéutica

13. RTCA 11.03.47:07. Reglamento Técnico Centroamericano, productos farmacéuticos. Medicamentos para uso humano. Verificación de la calidad.

GLOSARIO:

Analito ⁽³⁾: Componente específico de una muestra a medir.

Calibración ⁽³⁾: Conjunto de operaciones que determinan la relación entre los valores indicados por un instrumento de medición y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

Documentación ⁽³⁾: Conjunto de información que sustenta una actividad realizada.

Especificaciones ⁽³⁾: Descripción del material que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.

Especificidad ⁽³⁾: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés.

Exactitud ⁽³⁾: Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Estabilidad analítica de la muestra ⁽³⁾: Propiedad de una muestra preparada, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse por un tiempo y condiciones determinadas.

Intervalo ⁽³⁾: Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.

Límite de cuantificación ⁽³⁾: Concentración mínima del analito que se puede determinar con precisión y exactitud aceptables.

Límite de detección ⁽³⁾: Concentración mínima del analito que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada.

Linealidad ⁽³⁾: Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por una transformación matemática, son proporcionales a la concentración del analito.

Método analítico ⁽³⁾: Descripción de la secuencia de actividades, materiales y parámetros que se deben cumplir para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.

Método analítico desarrollado internamente ⁽³⁾: Método desarrollado por el propio laboratorio.

Método analítico oficial ⁽³⁾: Método que aparece en la literatura oficial reconocida.

Método analítico no oficial ⁽³⁾: Método que no aparece en la literatura oficial reconocida.

Muestra ⁽³⁾: Porción del material a evaluar.

Muestra analítica ⁽³⁾: Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.

Muestra adicionada ⁽³⁾: Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.

Parámetros de desempeño ⁽³⁾: Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.

Placebo analítico ⁽³⁾: Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.

Placebo adicionado ⁽³⁾: Muestra de un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.

Precisión ⁽³⁾: Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea.

Precisión intermedia ⁽³⁾: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.

Recobro ⁽³⁾: Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado, empleando el método analítico.

Repetibilidad ⁽³⁾: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y métodos.

Robustez ⁽³⁾: Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.

Sustancia de referencia o estándar de trabajo ⁽³⁾: Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales se comparan con la sustancia en evaluación

Validación del método analítico ⁽³⁾: Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

ANEXO N°1.
FORMATO DE PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS
ANALITICAS

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Químico analista	Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

1.0 Objetivo:

Detallar el objetivo de realizar la validación.

2.0 Alcance o evaluación de riesgo:

Explicar la importancia que tiene la realización de la validación y que se obtendría al realizarla. Se debe especificar el nombre del principio activo, el nombre del producto terminado, concentración y forma farmacéutica, especificar el método de análisis a utilizar.

3.0 Responsables y funciones:

Detallar cada una de las funciones y roles asignadas a cada una de las personas involucradas en la validación.

4.0 PROCEDIMIENTOS (METODOLOGÍA ANALÍTICA):

4.1 INTRODUCCIÓN

Dar un breve resumen del principio activo, incluir su fórmula molecular, peso molecular, propiedades o características, etc.

4.2 JUSTIFICACIÓN:

Declarar si la validación será una verificación o una validación completa y el porqué.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

4.3 MEDIDAS DE SEGURIDAD:

Indicar si la manipulación de las sustancias químicas a emplear requiere de protección especial y sus peligros.

4.4 CALIFICACIONES:

Hacer referencia al documento de calificación de los sistemas, procesos o equipos involucrados en la validación analítica.

Nombre del equipo	Marca	Código	Calificación	INFORME

4.5 CALIBRACIONES:

Hacer referencia al documento que asegura la calibración de los equipos o instrumentos, sistemas o procesos involucrados.

Nombre del equipo	Marca	Código	Calibración	INFORME

4.6 ESPECIFICACIONES:

Indicar el porcentaje y los miligramos de aceptación (%) del principio activo, en la forma farmacéutica, incluir la forma en la cuál será reportada la identificación del activo.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

NOMBRE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Principio activo	
Producto terminado	

4.7 MÉTODO DE ANÁLISIS A VALIDAR:

Indicar la técnica analítica que será utilizado. Si es método titrimétrica, espectrofotométrica o por cromatografía líquida de alta resolución.

4.8 PRINCIPIO ACTIVO Y CONCENTRACIÓN:

Indicar la cantidad de principio activo por unidad de dosis.

4.9 EQUIPOS:

Enlistar todos los equipos e instrumentos que se utilizarán durante el análisis, detallar

Nombre del equipo	Marca	Código	Nombre del equipo	Marca	Código

4.10 CRISTALERÍA Y MATERIALES:

Enlistar toda la cristalería y materiales que se utilizarán durante el análisis.

4.11 REACTIVOS:

Indicar los reactivos que será necesario para el análisis.

4.12 MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALÍTICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Describir el procedimiento a seguir para realizar el análisis de cuantificación, indicando las cantidades a pesar, alícuotas a tomar, concentraciones finales a obtener, incluir parámetros de análisis, longitud de onda, medio a utilizar, celda, fase móvil, columna, temperatura. Hacer la descripción de la metodología como una marcha analítica para estándares y muestras.

4.13 CASCADA DE DILUCIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN:

Esquematizar la metodología analítica descrita en 4.12.

4.14 DE ACEPTACIÓN PARA MUESTRA DE DISOLUCIÓN:

N/A

5.0 PARÁMETROS A EVALUAR:

Parámetros a evaluar: Aclarar qué tipo de validación se realizará, y las pruebas a realizarse según se corresponde de acuerdo a las tablas de parámetros de desempeño

RESUMEN DE PARÁMETROS A EVALUAR Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN MÉTODOS FÍSICOQUÍMICOS

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación
<i>Robustez</i>	Promedio de contenido	-----
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$
<i>Estabilidad analítica</i>	Diferencia absoluta	$\leq 3\%$
<i>Especificidad/selectividad</i>	Respuesta después de aplicar el método	La respuesta es solamente debida al analito
<i>Precisión del sistema</i>	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coefficiente de variación (CV)	$\leq 3\%$
<i>Linealidad del sistema</i>	Coefficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

	Coefficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	≤3%
	Pendiente (b)	≠0
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β ₁)	No debe incluir el cero
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
Exactitud	Recobro	
	Porcentaje de recobro	97 – 103% métodos químicos y espectrofotométricos 98 – 102% métodos cromatográficos y volumétricos
	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo
	Linealidad del método	
	Coefficiente de determinación (r ²)	≥0.98
	Pendiente	≠0
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β ₁)	Debe incluir la unidad
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
Exactitud	Precisión	
	Promedio	-----
	Coefficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos
Repetibilidad	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coefficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

<i>Precisión intermedia</i>	Promedio	-----
	Coeficiente de variación	≤3% métodos químicos y espectrofotométricos ≤2% métodos cromatográficos y volumétricos
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$

6.0 MUESTRAS

Incluir el detalle de la formulación

- Nombre del producto. Fórmula maestra código 000-01

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA 100 g			

- Nombre del producto. Formula maestra código 000-02

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA 100 g			

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

7.0 PROCEDIMIENTO:

Para cada una de las pruebas a realizar escribir y dejar claramente establecido cuantas muestras se prepararán, cuál será la cantidad que se pesará y que concentración se obtendrá. Hacerlo de la manera más clara posible para que cualquier analista que lo revise sea capaz de seguir el análisis. Para cada una de las pruebas se debe imprimir las hojas de trabajo según formato donde se registren los datos obtenidos para luego sacar los cálculos necesarios, así como la actualización en digital de las hojas de cálculo en Excel.

Estos cuadros deberán ir anexados al protocolo al finalizar la validación para que sirvan de soporte al informe de validación.

7.14 Robustez

Para **Robustez** se analizará muestra de producto terminado por triplicado cambiando deliberadamente las condiciones internas del método de análisis:

- a) **Cantidad de diluyente:** puede ajustarse hasta en un ± 3 mL.
- b) **Cantidad de indicador:** puede ajustarse en ± 3 gotas
- c) **pH de la fase móvil:** el pH de la solución amortiguadora acuosa usada en la preparación de la fase móvil puede ajustarse dentro de las ± 0.2 unidades del valor o intervalo especificado.
- d) **Concentración de sales en la solución amortiguadora:** la concentración de las sales usadas en la preparación de la solución amortiguadora acuosa empleada en la fase móvil puede ajustarse dentro de + 2%, esto siempre que se mantenga la variación del pH permitida.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

- e) **Relación de los componentes en la Fase Móvil:** se aplica para los componentes menores de la fase móvil (en concentraciones a 50% o menos). Las cantidades de estos componentes se pueden ajustar en un $\pm 3\%$.
- f) **Longitud de onda del detector UV-VIS:** Se permiten variaciones de las longitudes de onda dentro de ± 3 nm.
- g) **Velocidad del flujo:** puede ajustarse hasta en un $\pm 1\%$.
- h) **Volumen de inyección:** puede reducirse hasta donde lo permita el límite de detección.
- i) **Temperatura de la columna:** la temperatura es ajustable hasta en un $\pm 2^\circ$ C.

Preparación del estándar: por duplicado

Detallar la preparación del estándar.

Preparación de muestras: Producto terminado.

Detallar la preparación de la muestra

Reportar:

Promedio del contenido, promedio para la condición normal y con el cambio, diferencia absoluta de los valores promedio.

7.15 Estabilidad

Para **Estabilidad** se analizará muestra de producto terminado por triplicado en las siguientes condiciones de almacenamiento:

- g) Inicial

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

h) En refrigeración 24 horas

i) A temperatura ambiente 24 horas

Preparación del estándar: por duplicado

Detallar la preparación del estándar.

Preparación de muestras: Producto terminado.

Detallar la preparación de la muestra

Reportar:

La diferencia absoluta entre las condiciones.

7.16 Especificidad/Selectividad

Para **Especificidad** se prepara cantidad suficiente de placebo para el análisis y se analizara placebo y muestras de placebo adicionado con sus impurezas.

Si no hubiera existencias de los compuestos USP, se pueden degradar el placebo y las muestras en las siguientes condiciones:

- a) Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- b) Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 60°C
- c) Exposición a luz UV

Estándar: Estándar de Trabajo

Muestras: Placebo y placebo adicionado con estándar de trabajo

Preparación de placebo:

Detallar la preparación.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Tratamiento de muestras:

Fraccionar el placebo y producto terminado en cuatro partes para las condiciones.

- a) Sin tratamiento
- b) Adición de 1 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 30 minutos a 50°C
- c) Adición de 1 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 30 minutos a 50°C
- d) Exposición a luz UV

Preparación del estándar: por duplicado

Detallar la preparación del estándar.

Preparación de muestras: Producto terminado.

Detallar la preparación de la muestra

Reportar:

La respuesta es solamente debida al analito

7.17 Precisión del sistema

Para **Precisión del sistema** se realizará por sextuplicado del estándar de referencia. Para el **estándar** se prepararán 6 soluciones diferentes de estándar al 100%, además del estándar para calibrar.

Estándar de calibración: Estándar de trabajo

Estándar: Estándar de trabajo.

Preparación de solución madre Estándar:

Detallar la preparación de la solución madre de trabajo

Preparación de solución Estándar de calibración: preparar por duplicado

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Detallar la preparación de la solución madre de estándar de calibración

Preparación de Estándar: preparar por sextuplicado

Detallar la preparación de estándar

Reportar:

Promedio, Desviación estándar, Coeficiente de variación.

7.18 Linealidad del sistema

Para **Linealidad del sistema** se realizará por triplicado en cinco niveles de concentración del estándar de referencia.

Para el **estándar de referencia** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de estándar por triplicado: 80%, 90%, 100%, 110% y 120%

Cada serie se analizará de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo

Estándar: Estándar de trabajo

Preparación de solución madre Preparar por triplicado

Detallar la preparación de la solución madre

Preparación de estándar de referencia: preparar por duplicado

Detallar la preparación del estándar de referencia

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Preparación de estándar:

Estándar 80%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación del estándar 80%

Estándar 90%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación del estándar 90%

Estándar 100%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación del estándar 100%

Estándar 110%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación del estándar 110%

Estándar 120%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación del estándar 120%

Leer estándares de seguidos de:

Estándar 80%, 90%, 100%, 110% y 120%, una lectura de cada muestra. Repetir para las otras dos series.

Reportar:

Coeficiente de determinación, coeficiente de variación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza del intercepto.

Exactitud del método (Recobro, precisión y Linealidad)

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Para **Exactitud** se realizará por triplicado en tres niveles de concentración usando placebo adicionado con el analito los que se comparan con estándar preparado por duplicado. Se repetirá para cada matriz de excipientes diferente.

- a) Para **placebo adicionado con analito** se prepararán por pesadas independientes la siguiente serie de concentraciones de placebo adicionado con analito por triplicado: 80%, 100% y 120%.
- b) Para **estándar de referencia** se prepara por pesadas independientes o diluciones por duplicado para cada serie. Cada serie se analizará en el siguiente orden: estándar por duplicado, placebo adicionado de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

Estándar de referencia: Estándar de trabajo

Estándar: Estándar de trabajo

Preparación de solución madre de estándar: Preparar por triplicado

Detallar la preparación de solución madre de estándar

Preparación de estándar de referencia: preparar por sextuplicado

Detallar la preparación de estándar de referencia

Preparación de solución madre de placebo:

Detallar la preparación de solución madre de placebo

Preparación de estándar:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Estándar 80%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación de estándar 80%

Estándar 100%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación de estándar 100%

Estándar 120%: Preparar por triplicado.

Detallar la preparación de estándar 120%

Leer estándares de calibración seguidos de:

Estándar 80%, 100% y 120% una lectura de cada estándar muestra. Repetir para las otras dos series.

Reportar:

Recobro: Porcentaje de recobro e intervalo de confianza de la media poblacional.

Linealidad del método: coeficiente de determinación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente, intervalo de confianza del intercepto.

Precisión: promedio, coeficiente de variación.

7.19 Repetibilidad y Precisión Intermedia

Para **Repetibilidad** y **Precisión Intermedia** se realizará por sextuplicado el análisis de muestras de producto terminado.

Para las **muestras de producto terminado** se preparan seis muestras de producto terminado de un mismo lote, se repite el experimento para las siguientes condiciones:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

Analista 1	Analista 2
Equipo 1	Equipo 1
Día 1	Día 2

Estándar: Estándar de trabajo

Muestras: Producto terminado

Preparación de solución madre de Estándar: Preparar por triplicado

Detallar la preparación de solución madre de estándar.

Preparación de estándar: preparar por sextuplicado

Detallar la preparación de estándar

Preparación de muestras de producto terminado: preparar por sextuplicado

Detallar la preparación de muestras de producto terminado.

Reportar:

Repetibilidad: promedio, desviación estándar, coeficiente de variación

Precisión intermedia: promedio, coeficiente de variación, prueba de Fisher, prueba t de Student.

- La validación del método analítico tendrá una duración de 5 años.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA PRUEBA DE ANALITO EN PRODUCTO POR METODOLOGÍA ANALITICA				
Código: PVA-CC-xxx	Código de validación: VMA-CC-xxx	Edición: xx	Período de vigencia: 5 años	Página: Página x de y

8.0 CONTROL DE CAMBIOS:

CONTROL DE CAMBIOS:				
EDICIÓN MODIFICADA	DESCRIPCIÓN	No. DE EDICIÓN NUEVA	NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CAMBIO	FECHA DE MODIFICACIÓN

9.0 BIBLIOGRAFÍA:

- Farmacopea de los Estados Unidos de América 37, Formulario Nacional 32.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2016.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline, Text on Validation of Analytical Procedures Q2A, 27 October 1994.
- Eurachem, La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Primera edición Española. 2016

10.0 ANEXOS:

Anexar las hojas de trabajo y las hojas de cálculo de todas las pruebas ejecutadas en la validación

ANEXO N°2.
FÓRMULAS MATEMÁTICAS UTILIZADAS PARA EL CÁLCULO DE
LOS PARÁMETROS DE VALIDACIÓN.

Cst = Concentración de estándar

Ast = Respuesta del estándar

Cmx = Concentración de la muestra

Amx = Respuesta de la muestra

$$\frac{Cst}{Ast} = \frac{Cmx}{Amx} \quad (1) \quad \text{despejando Cmx; } Cmx = \frac{Cst \text{ Amx}}{Ast}$$

$$\text{Cantidad de Muestra} = \frac{Cst \text{ Amx}}{Ast} \text{ FD (2)}$$

Para el cálculo de la potencia de materias primas se plantea la siguiente regla de tres

$$\begin{array}{r} \text{Cantidad de muestra} \quad \text{-----} \quad \text{Peso de la muestra} \\ X \quad \quad \quad \text{-----} \quad 100 \end{array}$$

$$X = \%$$

Despejando % se plantea la siguiente fórmula: $\% = \frac{\text{Cantidad de muestra } 100}{\text{Peso de muestra}}$

Si sustituimos la ecuación de "Cantidad de muestra" tendremos:

$$\% = \frac{Cst \text{ Amx FD}}{Ast \text{ Peso de muestra}} \times 100$$

Para el cálculo de la cantidad de principio activo en una tableta se plantea la siguiente regla de tres

$$\begin{array}{r} \text{Cantidad de muestra} \quad \text{-----} \quad \text{Peso de la muestra (Pmx)} \\ X \quad \quad \quad \text{-----} \quad \text{Peso promedio de 20 tabletas (Pprom)} \end{array}$$

X = Cantidad de principio activo en 1 tableta (CantPA)

Si despejamos X se plantea la siguiente fórmula:

$$\text{CantPA} = \frac{\text{Cantidad de muestra} \times \text{Peso promedio de 20 tabletas}}{\text{Peso de la muestra}}$$

Si sustituimos la ecuación de "Cantidad de muestra" tendremos

$$\text{CantPA} = \frac{\text{Cst Amx FD (Pprom)}}{\text{Ast (Pmx)}}$$

Para el cálculo del porcentaje de principio activo en una tableta se plantea la siguiente regla de tres:

Cantidad de principio activo teórico ————— 100%

Cantidad de principio activo en 1 tableta ————— X

X= %

Si despejando X se plantea la siguiente fórmula:

$$\% = \frac{(\text{Cantidad de principio activo en 1 tableta})100}{\text{Cantidad de principio activo teórico}}$$

Formulas generales para validar

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

n = Número de mediciones

Coeficiente de Determinación (r^2):

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n \sum x^2 - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)}$$

Desviación estándar:

$$S = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{Y}} \times 100$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC(\beta_1) = b_1 \pm t_{0.975;n-2} S_{b1}$$

$$S_{b1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum y^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n}$$

Intervalo de confianza para el intercepto

$$IC_{(b_0)} = b_0 \pm t_{0.975;n-2} S_{b0}$$

$$S_{b0} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

$$S_b = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$C/V_{y/x} = \frac{S_{x/y}}{\bar{y}} \times 100$$

Intervalo de confianza para la pendiente

$$IC(\mu) = \bar{y} \pm t_{0.975;n-1} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

ANEXO N°3
FORMATO DE HOJAS DE CÁLCULO PARA LA VALIDACIÓN.

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibrí 11 Fuente Ajustar texto General

Formato condicional Dar formato Estilos de celda Insertar Eliminar Formato

Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

O38

ROBUSTEZ						ESTABILIDAD			
Fecha de inicio :						1 Datos del estándar: FD			
Lote:						Vence:		Pureza	
Peso teórico		Peso ajustado		Peso real		Lectura			
1									
2									
Promedio		#DIV/0!		#DIV/0!		Cst1		#DIV/0!	
Cst1		#DIV/0!		#DIV/0!		Cst2		#DIV/0!	
Cst2		#DIV/0!		#DIV/0!		Promedio		#DIV/0!	
Promedio		#DIV/0!		#DIV/0!					
2 Datos del estándar: FD						Lote: Vence: Pureza			
Peso teórico		Peso ajustado		Peso real		Lectura			
1									
2									
Promedio		#DIV/0!		#DIV/0!		Cst1		#DIV/0!	
Cst1		#DIV/0!		#DIV/0!		Cst2		#DIV/0!	
Cst2		#DIV/0!		#DIV/0!		Promedio		#DIV/0!	
Promedio		#DIV/0!		#DIV/0!					

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s ...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibrí 11 Fuente Ajustar texto General

Formato condicional Dar formato Estilos de celda Insertar Eliminar Formato

Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

O38

Repeticion	Lectura	Cmx	%SR
1		#DIV/0!	#DIV/0!
2		#DIV/0!	#DIV/0!
3		#DIV/0!	#DIV/0!
1		#DIV/0!	#DIV/0!
2		#DIV/0!	#DIV/0!
3		#DIV/0!	#DIV/0!
1		#DIV/0!	#DIV/0!
2		#DIV/0!	#DIV/0!
3		#DIV/0!	#DIV/0!
1		#DIV/0!	#DIV/0!
2		#DIV/0!	#DIV/0!
3		#DIV/0!	#DIV/0!

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s ...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA Ricardo Reyes

Calibración 11 Fuente Ajustar texto Número Formato condicional Dar formato Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

K97

PRECISION DEL SISTEMA					SELECTIVIDAD						
Datos del estándar de referencia:					FD	Datos del estándar de referencia:					FD
Lote:	Vence:	Pureza			Lote:	Vence:	Pureza				
Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura			Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura		
1						1					
2						2					
Promedio			#DIV/0!			Promedio			#DIV/0!		
Cst1			#DIV/0!			Cst1			0		
Cst2			#DIV/0!			Cst2			0		
Promedio			#DIV/0!			Promedio			0		
Datos del estándar de trabajo:					FD	Datos de la Muestra					
Lote:	Vence:	Pureza			Lote:	Vence:	FD				
Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura	Cst	% SR	Peso Prom 201	Peso Equi	Cant PA			
				#DIV/0!							
				#DIV/0!							
				#DIV/0!							
				#DIV/0!							
				#DIV/0!							
				#DIV/0!							

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s ...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA Ricardo Reyes

General Formato condicional Dar formato Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

O89

		Muestra		Lectura	Cmx	%SR
Condición 1	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Condición 2	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Condición 3	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Condición 4	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
		Placebo		Lectura	Cmx	%SR
Condición 1	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Condición 2	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Condición 3	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Condición 4	1			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	2			#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s ...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

P126

LINEALIDAD DEL SISTEMA						EXACTITUD				
Fecha de inicio:						Fecha de inicio:				
1 Datos del estándar de referencia:						1 Datos del estándar de referencia:				
Lote: Vence: Pureza						Lote: Vence: Pureza				
Peso teórico/Peso ajustado/Peso real Nivel Lectura						Peso teórico/Peso ajustado/Peso real Lectura Promedio Cst				
Sin madre 1						Serie 1				
						80%				
						90%				
						100%				
						110%				
Sin madre 2						Serie 2				
						80%				
						90%				
						100%				
						110%				
Sin madre 3						Serie 3				
						80%				
						90%				
						100%				
						110%				
Datos del estándar de prueba						Lote: Vence: FD 1000				
Peso teórico/Peso ajustado/Peso real Nivel Lectura						Peso teórico/Peso ajustado/Peso real Nivel Lectura				
Sin madre 1						Sin madre 1				
						80%				
						100%				
						120%				
						80%				
Sin madre 2						Sin madre 2				
						80%				
						100%				
						120%				
						80%				

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

P126

						Sin madre 2				
						120%				
						80%				
						100%				
						120%				
						80%				
						100%				
						120%				
						Sin madre 3				
						100%				
						120%				
						Datos del placebo				
						Peso teórico/Peso ajustado/Peso real Nivel				
						1 80%				
						2 80%				
						3 80%				
						4 100%				
						5 100%				
						6 100%				
						7 120%				
						8 120%				
						9 120%				

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 A A Ajustar texto General

Portapapeles Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

A176

REPETIBILIDAD 1					REPETIBILIDAD 2				
Datos del estándar:					Datos del estándar:				
Lote:			Vence:		Pureza			FD	
Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura	Cst	Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura	Cst
1				#DIV/0!	1				#DIV/0!
2				#DIV/0!	2				#DIV/0!
3				#DIV/0!	3				#DIV/0!
4				#DIV/0!	4				#DIV/0!
5				#DIV/0!	5				#DIV/0!
6				#DIV/0!	6				#DIV/0!
Datos de la Muestra					Datos de la Muestra				
Lote:			Vence:		FD			FD 1000	
Peso Prom	Peso Equi	Cant PA			Peso Prom 207	Peso Equi	Cant PA		
Peso Real	Lectura	Cmx	%SR		Peso Real	Lectura	Cmx	%SR	
1			#DIV/0!	#DIV/0!	1			#DIV/0!	#DIV/0!
2			#DIV/0!	#DIV/0!	2			#DIV/0!	#DIV/0!
3			#DIV/0!	#DIV/0!	3			#DIV/0!	#DIV/0!

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del : ...

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 A A Ajustar texto General

Portapapeles Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

A176

	Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura	Cst		Peso teórico	Peso ajustado	Peso real	Lectura	Cst	
159	1				#DIV/0!		1				#DIV/0!	
160	2				#DIV/0!		2				#DIV/0!	
161	3				#DIV/0!		3				#DIV/0!	
162	4				#DIV/0!		4				#DIV/0!	
163	5				#DIV/0!		5				#DIV/0!	
164	6				#DIV/0!		6				#DIV/0!	
165	Datos de la Muestra						Datos de la Muestra					
166	Lote:			Vence:		FD	Lote:			Vence:		FD 1000
167	Lote:			Vence:		FD	Lote:			Vence:		FD 1000
168	Lote:			Vence:		FD	Lote:			Vence:		FD 1000
169	Peso Prom	Peso Equi	Cant PA				Peso Prom 207	Peso Equi	Cant PA			
170	Peso Prom	Peso Equi	Cant PA				Peso Prom 207	Peso Equi	Cant PA			
171	Peso Prom	Peso Equi	Cant PA				Peso Prom 207	Peso Equi	Cant PA			
172	Peso Real	Lectura	Cmx	%SR			Peso Real	Lectura	Cmx	%SR		
173	1			#DIV/0!	#DIV/0!		1			#DIV/0!	#DIV/0!	
174	2			#DIV/0!	#DIV/0!		2			#DIV/0!	#DIV/0!	
175	3			#DIV/0!	#DIV/0!		3			#DIV/0!	#DIV/0!	
176	4			#DIV/0!	#DIV/0!		4			#DIV/0!	#DIV/0!	
177	5			#DIV/0!	#DIV/0!		5			#DIV/0!	#DIV/0!	
178	6			#DIV/0!	#DIV/0!		6			#DIV/0!	#DIV/0!	
179	6			#DIV/0!	#DIV/0!		6			#DIV/0!	#DIV/0!	

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del : ...

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

Portapapeles Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

K10

HOJA DE CALCULO				
Robustez				
Nombre del producto:				
Análito:				
Fecha:				
Tipo de metodología:				
Equipo:				
Muestra:	Producto terminado			
Porcentaje sobre lo rotulado				
Replica	Normal	Condición diferenre		
		288 nm	292nm	
1				
2				
3				
Promedio	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DS	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
CV%	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s ...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

Portapapeles Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

K10

3				
Promedio	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DS	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
CV%	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DIFERENCIA	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	
RESULTADO	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	
DICTAMEN	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	
Criterio de aceptación				
Diferencia absoluta:				
≤2% para métodos volumétricos y cromatográficos				
≤3% para métodos espectrofotométricos				
Firma				
Fecha				
	ANALIZO	VERIFICO	AUTORIZO	

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del s ...

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

E39

1	HOJA DE CALCULO			
2	Estabilidad Analítica			
3				
4				
5	Nombre del producto:			
6	Analito:			
7	Fecha:			
8	Tipo de metodología:			
9	Equipo:			
10				
11	Muestra:	Producto terminado		
12				
13				
14		Porcentaje sobre lo rotulado		
15		24 horas		
16	Replica	Inicial	22 grados	5 grados
17				
18				
19				
20	1			
21	2			
22	3			
23	Promedio	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
24	DS	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
25	CV%	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del : ...

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

E39

25	CV%	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
26	DIFERENCIA	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
27	RESULTADO	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
28	DICTAMEN	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
29				
30				
31				
32	Criterio de aceptación			
33				
34	Diferencia absoluta:			
35	≤ 2%			
36				
37				
38				
39				
40				
41				
42				
43				
44				
45	Firma			
46				
47	Fecha			
48		ANALIZO	VERIFICO	AUTORIZO
49				

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema Linealidad del : ...

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

Portapapeles Pegar

Formato condicional Dar formato como tabla Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

I25

HOJA DE CALCULO				
Selectividad				
Nombre del producto:				
Analito:				
Fecha:				
Tipo de metodología:				
Equipo:				
Muestra:				
Condición diferente				
Replica	Placebo	Placebo + degradación ácida	Placebo + degradación básica	Placebo + degradación UV
1				
2				
Promedio	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DIFERENCIA	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
RESULTADO	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DICTAMEN	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!

Hoja de reporte Robustez Estabilidad **Selectividad** Precisión del sistema Linealidad del sistema

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

Portapapeles Pegar

Formato condicional Dar formato como tabla Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

Autosuma Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

J41

Condición diferente				
Replica	Placebo Adicionado	Placebo adicionado + degradación ácida	Placebo adicionado + degradación básica	Placebo adicionado + degradación UV
1				
2				
Promedio	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DIFERENCIA	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
RESULTADO	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
DICTAMEN	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
Criterio de aceptación				
Diferencia absoluta:				
≤ 2% para métodos volumétricos y cromatográficos				
≤ 3% para métodos espectrofotométricos				
Firma				
Fecha				
	ANALIZO	VERIFICO	AUTORIZO	

Hoja de reporte Robustez Estabilidad **Selectividad** Precisión del sistema Linealidad del sistema

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas

113

HOJA DE CALCULO

Precisión del sistema

Nombre del producto:	
Análito:	
Fecha:	
Tipo de metodología:	
Equipo:	
Muestra:	

REPLICA	ESTANDAR	
	Concentración teórica	Valor de la lectura
1		
2		
3		
4		
5		
6		
Promedio	#DIV/0!	
DesVesta	#DIV/0!	
CV	#DIV/0!	

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA

Calibri 11 Fuente Alineación Número Estilos Celdas

143

Promedio	#DIV/0!	
DesVesta	#DIV/0!	
CV	#DIV/0!	
Resultado	#DIV/0!	
Dictamen	#DIV/0!	

Criterio de aceptación

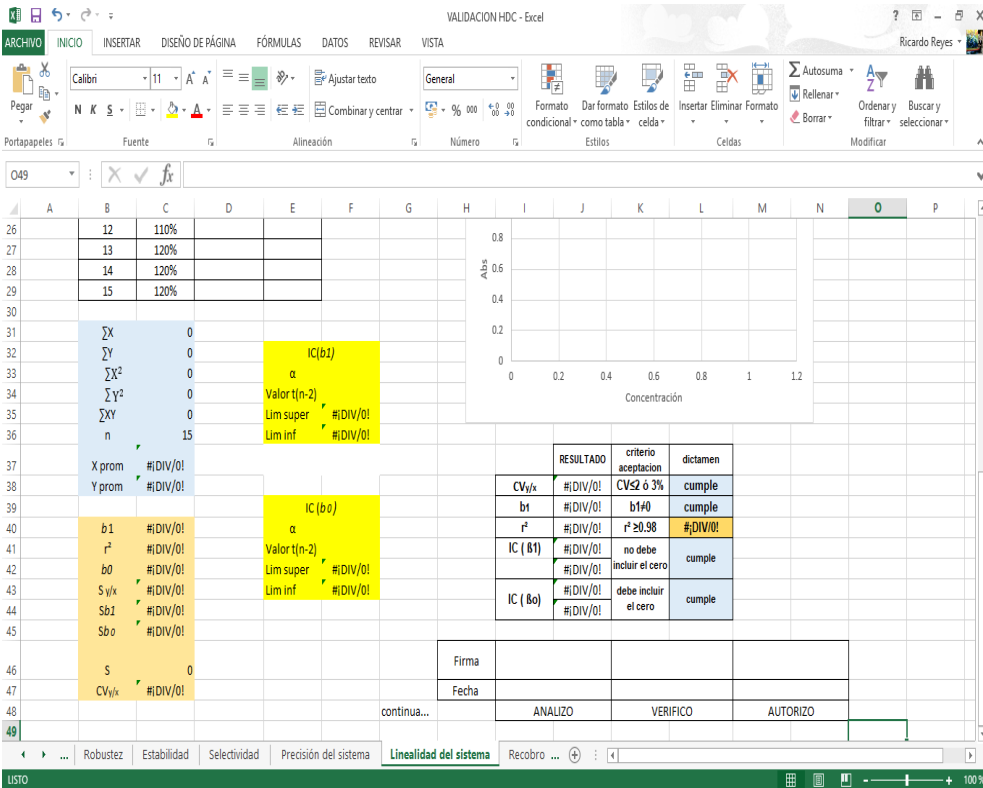
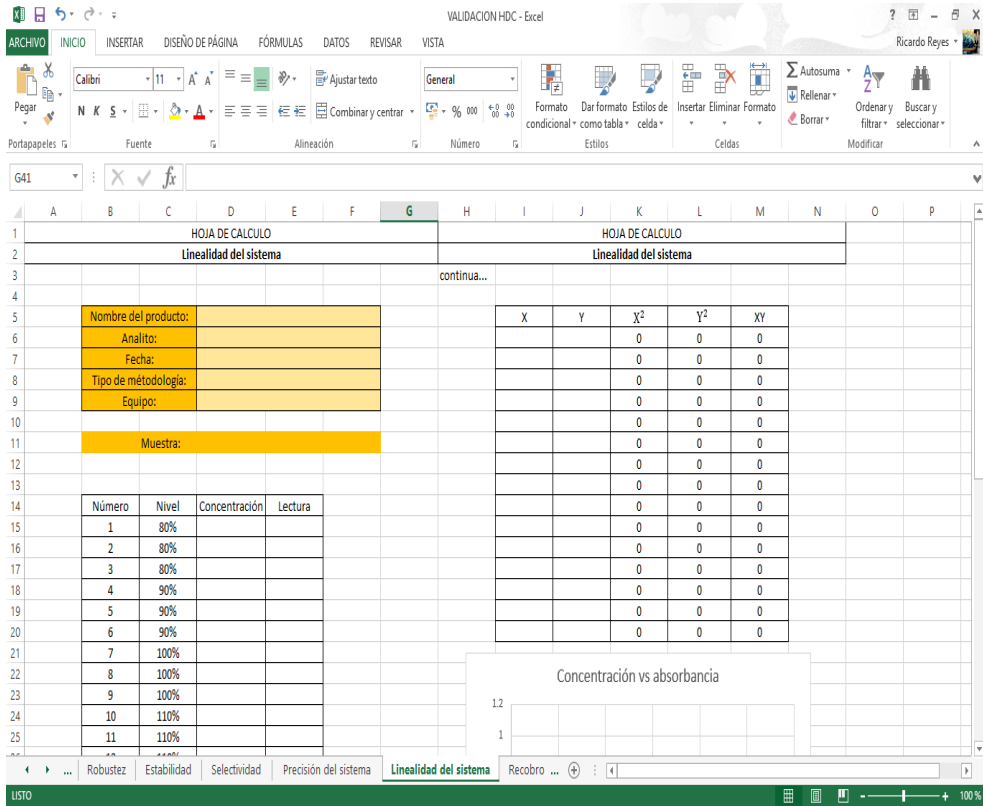
El CV es:

- ≤ 2% para métodos volumétricos y cromatográficos
- ≤ 3% para métodos espectrofotométricos

Firma			
Fecha	ANALIZO	VERIFICO	AUTORIZO

Hoja de reporte Robustez Estabilidad Selectividad Precisión del sistema

LISTO



VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA Ricardo Reyes

Calibri 11 A A Ajustar texto General

Formato Dar formato Estilos de Insertar Eliminar Formato Autosuma Rellenar Ordenar y Buscar y condicional como tabla Estilos de celda Formato Celdas Borrar filtrar y seleccionar

Portapapeles Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

J11

HOJA DE CALCULO					
Recobro (Exactitud y Precisión)					
1					
2					
3					
4					
5	Nombre del producto:				
6	Análito:				
7	Fecha:				
8	Tipo de metodología:				
9	Equipo:				
10					
11	Muestra:				
12					
13		Lectura	Promedio	Cst	
14	Serie 1		#DIV/0!	0.01	
15					
16	Serie 2		#DIV/0!	0.01	
17					
18	Serie 3		#DIV/0!	0.01	
19					
20					
21	NIVEL%	mg/mL Adic	Lectura	mg/mL Recu	%Recobro
22	SERIE 1		#DIV/0!	#DIV/0!	
23	SERIE 2	80	#DIV/0!	#DIV/0!	
24	SERIE 3		#DIV/0!	#DIV/0!	
25	SERIE 1		#DIV/0!	#DIV/0!	
26					

... Selectividad Precisión del sistema Linealidad del sistema Recobro(Exac y Prec) Linealidad c ...

LISTO

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA Ricardo Reyes

Calibri 11 A A Ajustar texto General

Formato Dar formato Estilos de Insertar Eliminar Formato Autosuma Rellenar Ordenar y Buscar y condicional como tabla Estilos de celda Formato Celdas Borrar filtrar y seleccionar

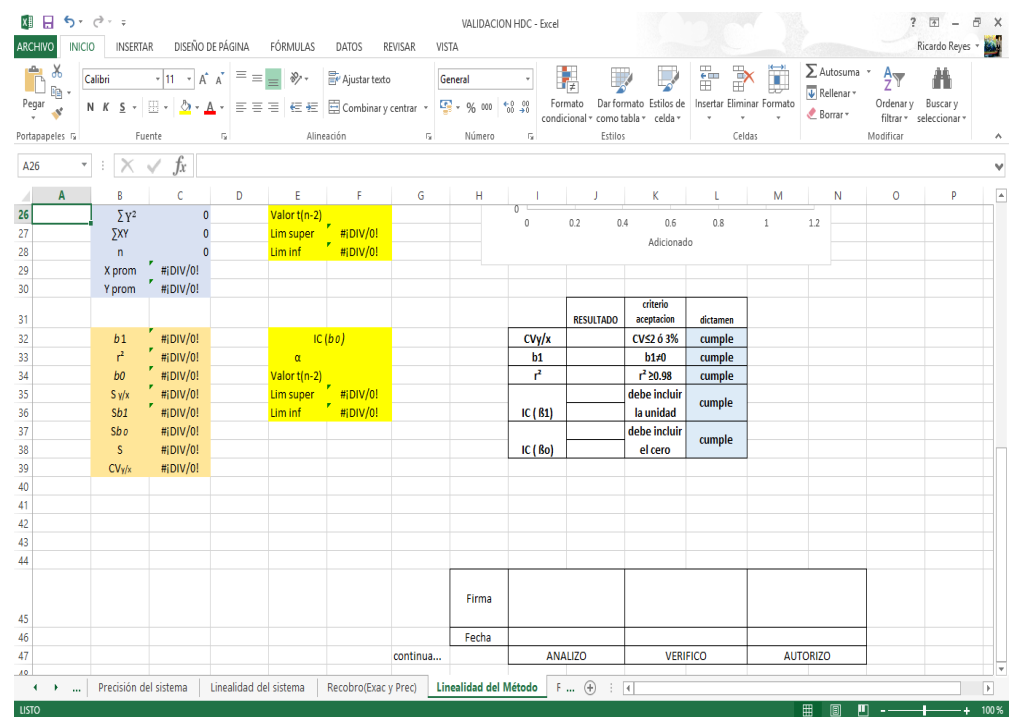
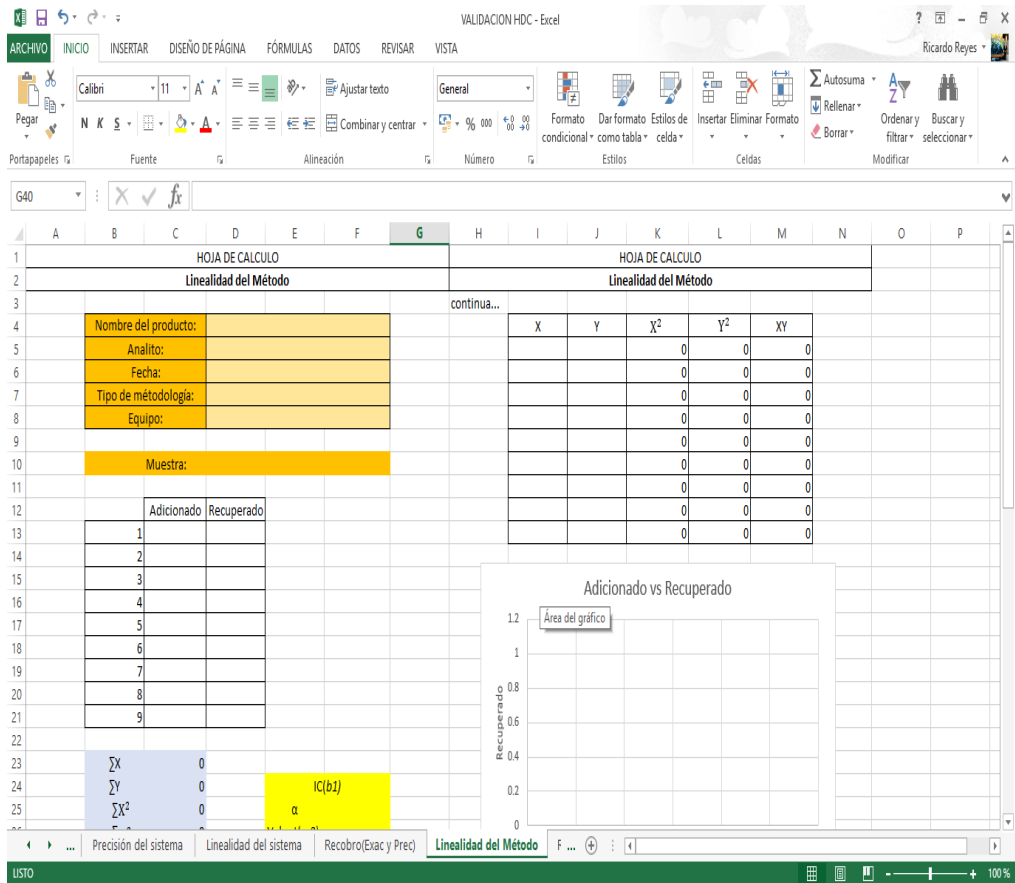
Portapapeles Fuente Alineación Número Estilos Celdas Modificar

H36

26	SERIE 2	100		#DIV/0!	#DIV/0!
27	SERIE 3			#DIV/0!	#DIV/0!
28	SERIE 1			#DIV/0!	#DIV/0!
29	SERIE 2	120		#DIV/0!	#DIV/0!
30	SERIE 3			#DIV/0!	#DIV/0!
31			Promedio	#DIV/0!	
32			s	#DIV/0!	
33			CV	#DIV/0!	
34	IC(μ)		n	9	
35	α		Resultado	#DIV/0!	
36	Valor t(n-1)		Dictamen	#DIV/0!	
37	Lim super	#DIV/0!			
38	Lim inf	#DIV/0!			
39	IC(μ) debe incluir 100				
40	Dictamen	NO CUMPLE	Criterio de aceptación		
41			El CV es:		
42			≤ 2% para métodos volumétricos y cromatográficos		
43					
44			≤ 3% para métodos espectrofotométricos		
45					
46	Firma				
47	Fecha				
48		ANALIZO	VERIFICO	AUTORIZO	
49					

... Selectividad Precisión del sistema Linealidad del sistema Recobro(Exac y Prec) Linealidad c ...

LISTO



VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA Ricardo Reyes

Calibri 11 Fuente Ajustar texto General Combinar y centrar Formato condicional Dar formato Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

Portapapeles Pegar Alineación Número Estilos Celdas Modificar

HOJA DE CALCULO

1	HOJA DE CALCULO			
2	Repetibilidad 2			
3				
4	Nombre del producto:			
5	Analito:			
6	Fecha:			
7	Tipo de metodología:			
8	Equipo:			
9				
10	Muestra: Producto terminado			
11	ANALISTA:			
12				
13				
14				
15	MUESTRA	%SR		
16	1			
17	2			
18	3			
19	4			
20	5			
21	6			
22	Promedio	#DIV/0!		
23	DesVesta	#DIV/0!		
24	CV	#DIV/0!		
25	Resultado	#DIV/0!		

Linealidad del Método Repetibilidad 1 Repetibilidad 2 Precisión intermedia

VALIDACION HDC - Excel

ARCHIVO INICIO INSERTAR DISEÑO DE PÁGINA FÓRMULAS DATOS REVISAR VISTA Ricardo Reyes

Calibri 11 Fuente Ajustar texto General Combinar y centrar Formato condicional Dar formato Estilos de celda Insertar Eliminar Formato Rellenar Ordenar y filtrar Buscar y seleccionar

Portapapeles Pegar Alineación Número Estilos Celdas Modificar

HOJA DE CALCULO

25		Resultado	#DIV/0!		
26		Dictamen	#DIV/0!		
27					
28					
29					
30					
31					
32	Criterio de aceptación				
33	El CV es:				
34	≤ 2% para métodos volumétricos y cromatográficos				
35					
36	≤ 3% para métodos espectrofotométricos				
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45	Firma				
46	Fecha				
47		ANALIZO	VERIFICO	AUTORIZO	

Linealidad del Método Repetibilidad 1 Repetibilidad 2 Precisión intermedia

ANEXO Nº4
REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO. PRODUCTOS
FARMACÉUTICOS. MEDICAMENTO DE USO HUMANO.
VERIFICACIÓN DE LA CALIDAD. RTCA 11.03.47:07

**REGLAMENTO
TÉCNICO
CENTROAMERICANO**

RTCA 11.03.47:07

**PRODUCTOS FARMACEUTICOS.
MEDICAMENTOS PARA USO HUMANO.
VERIFICACION DE LA CALIDAD.**

Correspondencia: No hay correspondencia con ninguna norma internacional

ICS 11.120.01

RTCA 11.03.47:07

Reglamento Técnico Centroamericano editado por:

Ministerio de Economía, MINECO
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT
Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, MIFIC
Secretaría de Industria y Comercio, SIC
Ministerio de Economía, Industria y Comercio, MEIC

Los respectivos Comités Técnicos de Normalización y de Reglamentación Técnica a través de los Entes de Normalización y de Reglamentación Técnica de los Países de la Región Centroamericana y sus sucesores, son los organismos encargados de realizar el estudio o la adopción de los Reglamentos Técnicos. Están conformados por representantes de los sectores Académico, Consumidor, Empresa Privada y Gobierno.

Este documento fue aprobado como Reglamento Técnico Centroamericano, RTCA 11.03.47:07 Productos farmacéuticos. Medicamentos para uso humano. Verificación de la calidad, por los Subgrupos de Medidas de Normalización y de Medicamentos y Productos Afines de los Países de la Región Centroamericana. La oficialización de este reglamento técnico, conlleva la ratificación por el Consejo de Ministros de Integración Económica de Centroamérica (COMIECO)

MIEMBROS PARTICIPANTES DEL SUBGRUPO DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS AFINES

Por Guatemala
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social

Por El Salvador
Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Consejo Superior de Salud Pública

Por Nicaragua
Ministerio de Salud

Por Honduras
Secretaría de Salud

Por Costa Rica
Ministerio de Salud

1. OBJETO

Este reglamento técnico tiene por objeto establecer las pruebas analíticas que deben ser realizadas para comprobar la calidad de los medicamentos por parte de la autoridad reguladora.

2. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Las disposiciones de este reglamento son de aplicación para todos los medicamentos importados y fabricados en los países de la región Centroamericana.

3. DOCUMENTOS A CONSULTAR

RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano.

4. DEFINICIONES

4.1 Autoridad reguladora: Ente responsable del Registro Sanitario y/o Vigilancia Sanitaria de cada país Centroamericano.

4.2 Calidad: Naturaleza esencial de un producto y la totalidad de sus atributos y propiedades, las cuales determinan su idoneidad para los propósitos a los cuales se destina.

4.3 Características organolépticas: Son características que se confieren a las formas farmacéuticas tales como forma, color, olor, sabor, homogeneidad, textura u otros; los cuales se determinan a través de los sentidos.

4.4 Especificaciones: Descripción de los requisitos que debe satisfacer el material inicial, el material de empaque y los productos intermedios, a granel y terminados. Dichos requisitos incluyen características organolépticas y propiedades físicas, químicas, microbiológicas y biológicas.

4.5 Forma farmacéutica: Es la forma física que se le da a un medicamento, la cual facilita la dosificación del o de los principios activos para que puedan ejercer su acción en el lugar y tiempo.

4.6 Medicamento: Sustancia simple o compuesta, natural, sintética, o mezcla de ellas, con forma farmacéutica definida, empleada para diagnosticar, tratar, prevenir enfermedades o modificar una función fisiológica de los seres humanos.

4.7 Muestra: Parte o porción finita representativa de un material, un lote de producción o de medicamentos almacenados, transportados o en uso que se someten a análisis a efecto de verificar las características de calidad o su adecuación para el uso.

4.8 Muestra de retención/Contra muestra: Cantidad de unidades representativas de cada lote de producto terminado, materia prima o material de envase, almacenada por un período de tiempo establecido y en cantidad suficiente para repetir el análisis completo.

5. EVALUACIÓN TÉCNICA

5.1 Etiquetado

Debe cumplir con el RTCA 11.01.02:04 Productos Farmacéuticos. Etiquetado de Productos Farmacéuticos para uso Humano.

5.2 Pruebas

Las pruebas indicadas en la Tabla N°1 se realizarán cuando apliquen, de acuerdo a las especificaciones individuales de cada producto según lo indiquen las farmacopeas oficiales (anexo 4, Resolución 93-2002, COMIECO-XXIV, septiembre 2002) o lo declarado por el fabricante o el titular en el registro sanitario. Las pruebas declaradas a continuación, son los parámetros indicados para evaluar la calidad de las diferentes formas farmacéuticas.

Tabla N° 1. Pruebas físicas, químicas y microbiológicas

Forma farmacéutica	Pruebas
Tabletas con o sin recubrimiento	Características organolépticas Peso promedio* Friabilidad Fuerza de ruptura* Desintegración Contenido de agua Identificación de (los) principio(s) activo(s) Uniformidad de Unidades de Dosificación: Variación de Peso y Uniformidad de Contenido. Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Disolución Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Recuento microbiano

Continúa

Tabla N° 1. Pruebas físicas, químicas y microbiológicas (continuación)

Forma farmacéutica	Pruebas
Cápsulas de gelatina dura y blanda	Características organolépticas de la cápsula y de su contenido Peso promedio* Desintegración Contenido de agua Identificación de (los) principio(s) activo(s) Uniformidad de Unidades de Dosificación: Variación de Peso y Uniformidad de Contenido. Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Disolución Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Recuento microbiano
Soluciones y Emulsiones (orales y tópicas)	Características organolépticas Volumen de entrega pH Densidad relativa o peso específico Viscosidad* Contenido de alcohol Identificación de (los) principio(s) activo(s) Uniformidad de Unidades de Dosificación Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Impurezas: sustancias relacionadas o productos de degradación Recuento microbiano
Suspensiones (orales y tópicas)	Características organolépticas Volumen de entrega pH Densidad relativa o peso específico Viscosidad* Identificación de (los) principio(s) activo(s) Uniformidad de Unidades de Dosificación Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Disolución Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Recuento microbiano
Soluciones, Emulsiones y Suspensiones (inyectables, oftálmicas y óticas estériles)	Características organolépticas Volumen en envase pH Identificación de (los) principio(s) activo(s) Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Uniformidad de Unidades de Dosificación Esterilidad Endotoxinas bacterianas (sólo en inyectables)

Continúa

Tabla N° 1. Pruebas físicas, químicas y microbiológicas (continuación)

Forma farmacéutica	Pruebas
<p>Polvos y granulados (orales y tópicos)</p> <p>Polvos y granulados (orales y tópicos) para reconstituir</p>	<p>Características organolépticas (sin reconstituir y reconstituido)</p> <p>Contenido de agua</p> <p>Tiempo de reconstitución (indicado por el fabricante)</p> <p>Uniformidad de Unidades de Dosificación</p> <p>Llenado mínimo/ Volumen de entrega</p> <p>Variación de peso</p> <p>pH</p> <p>Identificación de (los) principio(s) activo(s)</p> <p>Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s)</p> <p>Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas</p> <p>Recuento microbiano</p>
<p>Polvos para reconstituir (inyectables)</p>	<p>Características organolépticas (sin reconstituir y reconstituido)</p> <p>Contenido de agua</p> <p>Tiempo de reconstitución (indicado por el fabricante)</p> <p>pH</p> <p>Partículas visibles</p> <p>Volumen en envase</p> <p>Identificación de (los) principio(s) activo(s)</p> <p>Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s)</p> <p>Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas</p> <p>Esterilidad</p> <p>Endotoxinas bacterianas</p>
<p>Cremas, Ungüentos, Pastas y Geles (tópicos)</p>	<p>Características organolépticas</p> <p>Llenado mínimo</p> <p>pH</p> <p>Identificación de (los) principio(s) activo(s)</p> <p>Valoración, potencia o concentración del (o los) principio(s) activo(s)</p> <p>Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas</p> <p>Recuento microbiano</p>
<p>Cremas, Ungüentos y Geles (oftálmicas)</p>	<p>Características organolépticas</p> <p>Llenado mínimo</p> <p>pH</p> <p>Contenido de agua</p> <p>Identificación de (los) principio(s) activo(s)</p> <p>Valoración, potencia o concentración del (o los) principio(s) activo(s)</p> <p>Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas</p> <p>Partículas metálicas</p> <p>Esterilidad</p>

Continúa

Tabla N° 1. Pruebas físicas, químicas y microbiológicas (Final)

Forma farmacéutica	Pruebas
Supositorios (rectales, uretrales y vaginales) y supositorios en tabletas o capsulas vaginales	Características organolépticas Peso promedio* Desintegración Tiempo de fusión* Identificación de (los) principio(s) activo(s) Uniformidad de Unidades de Dosificación: Variación de Peso o Uniformidad de Contenido. Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Disolución Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Recuento microbiano
Aerosoles, atomizadores e inhaladores	Características organolépticas Llenado mínimo Número total de descarga por envase pH Identificación de (los) principio(s) activo(s) Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Uniformidad de dosis liberada Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Velocidad de descarga Prueba de fuga (si la válvula es dosificadora) Cantidad descargada (si la válvula es de descarga continua) Prueba de presión (si la válvula es de descarga continua) Recuento microbiano
Sistemas transdérmicos y emplastos o cintas adhesivas	Características organolépticas Peso promedio* Identificación de (los) principio(s) activo(s) Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Uniformidad de Unidades de Dosificación: Variación de Peso o Uniformidad de Contenido. Liberación de fármaco (Disolución, solo en sistemas transdérmicos) Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Recuento microbiano
Implantes	Características organolépticas Peso promedio* Uniformidad de Unidades de Dosificación. Identificación de (los) principio(s) activo(s) Valoración, potencia, concentración o actividad del (o los) principio(s) activo(s) Impurezas: productos de degradación o sustancias relacionadas Esterilidad

* Las pruebas descritas sólo se realizarán cuando exista un cambio en las características físicas de la forma farmacéutica.

NOTAS:

1. En el caso de denuncia o no conformidad en la calidad del producto, las pruebas incluidas en la tabla N° 1 constituyen pruebas que pueden ser efectuadas independientemente si el producto es farmacéutico o no.
2. En el anexo A se indica la cantidad de muestras y muestras de retención/ contra muestra que deben ser tomadas o retenidas para realizar las pruebas mencionadas en la tabla N° 1.

6. BIBLIOGRAFÍA

Arias, T D. Glosario de Medicamentos: Desarrollo Evaluación y Uso. Organización Panamericana de la Salud, Washington, D.C.: OPS. 1999.
Farmacopea de los Estados Unidos 30 y Formulario Nacional 25. Trigésima edición. The United States Pharmacopeial Convention Inc. USA. 2007.

7. VIGILANCIA Y VERIFICACIÓN

La vigilancia y verificación de este Reglamento Técnico Centroamericano corresponde a la Autoridad Reguladora de cada país.

Anexo A
(Normativo)

**CANTIDAD DE MUESTRAS REQUERIDAS PARA LA VERIFICACION DE LA CALIDAD DE LOS
MEDICAMENTOS PARA USO HUMANO**

PRODUCTO	CANTIDAD (unidades)		
	MUESTRA	MUESTRA DE RETENCIÓN/ Contra Muestra	Total de muestras
Aerosoles, atomizadores e inhaladores (sin antibiótico)	10	10	20
Aerosoles, atomizadores e inhaladores (con antibiótico)	15	15	30
Cápsulas, grageas, tabletas	60	60	120
Líquidos orales (suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones)	13	13	26
Líquidos tópicos (soluciones, suspensiones y emulsiones)	13	13	26
Líquidos orales empacados en contenedores de dosis unitaria	13	13	26
Polvos y granulados (frascos/ sobres) con menos 150 g	20	20	40
Polvos y granulados (frascos/ sobres) con más 150 g	10	10	20
Inyectables menor e igual a 3 mL	50	50	100
Inyectable de 5 a 10 mL	30	30	60
Inyectable de 20 a 100mL	10	10	20
Inyectables más de 100 mL	7	7	14
Cremas, geles y ungüentos tópicos (sin antibiótico)	15	15	30
Cremas, geles y ungüentos tópicos (con antibiótico)	20	20	40
Polvos y liofilizados estériles (inyectables)	20	20	40
Soluciones Óticas y Nasaes	30	30	60
Supositorios o supositorios en tabletas	30	30	60
Parches transdérmicos y emplastos o cintas adhesivas	15	15	30
Implantes	15	15	30
Ungüentos, cremas, soluciones y suspensiones oftálmicas (sin antibióticos)	30	30	60
Ungüentos, cremas, soluciones y suspensiones oftálmicas (con antibióticos)	40	40	80
Lata con más de 200 g de polvo	3	3	6
Sueros orales en solución	3	3	6

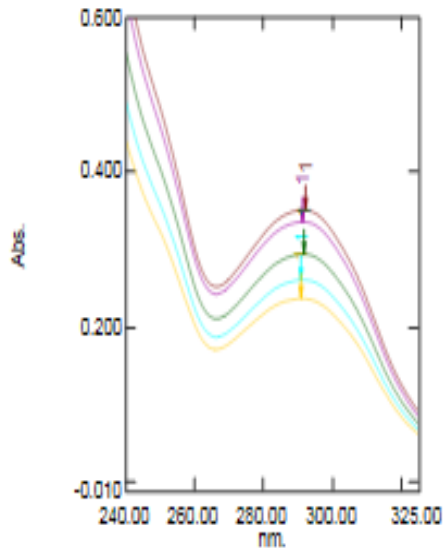
ANEXO N° 5

**EJEMPLO DE ESPECTO DE ABSORCION ULTRA VIOLETA DE LA
PRUEBA DE LINEALIDAD DEL SISTEMA**

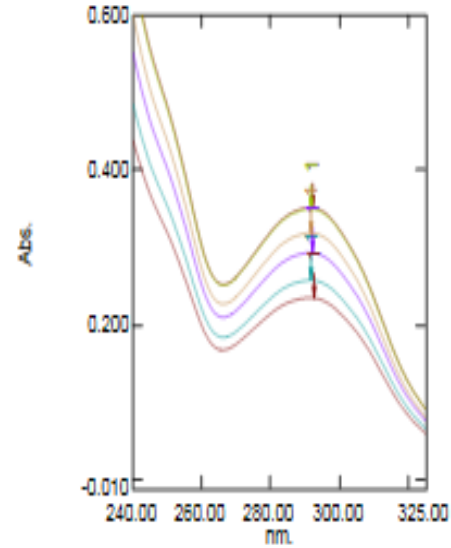
DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD

SILDENAFIL

LINEALIDAD



No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.237	80S1
2			



No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.235	80S2
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.261	90S1
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.258	90S2
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.294	100S1
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.293	100S2
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.336	110S1
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.318	110S2
2			

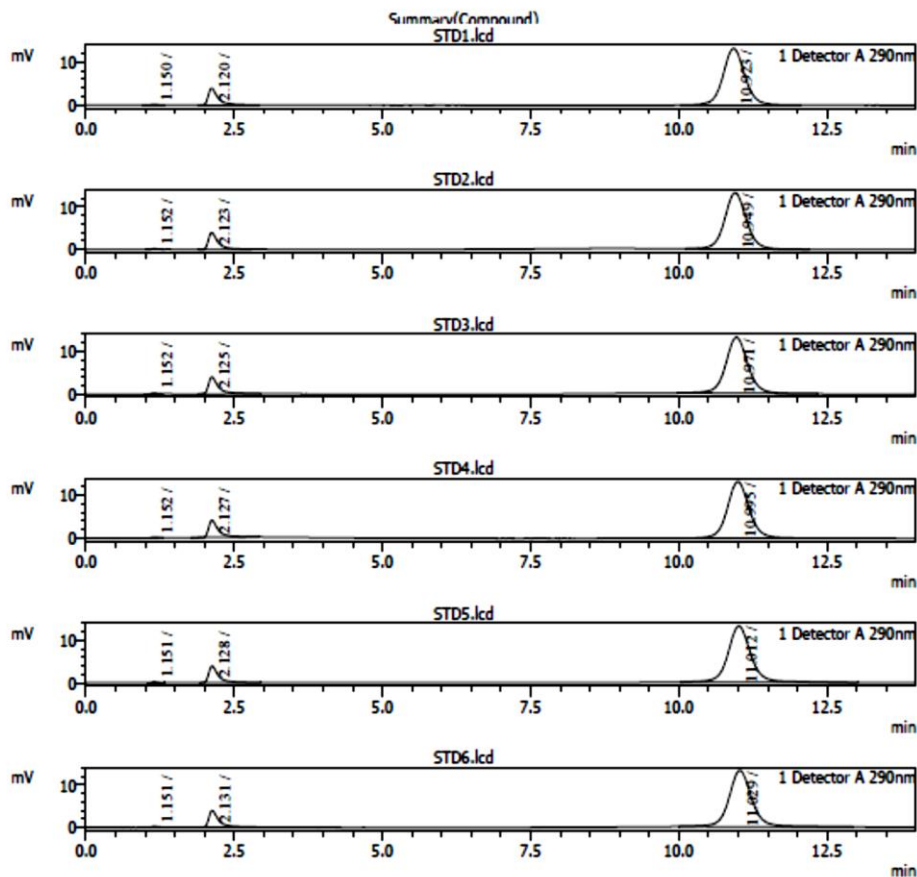
No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.351	120S1
2			

No.	Wavelength	Absorbance	Description
1	290.00	0.349	120S2
2			

ANEXO N° 6

CROMATOGRAMA DE LA PRUEBA DE APTITUD DEL SISTEMA

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS**



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: STD1.DENAFI

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
STD1.lcd	STD1	STD1	10.923	336363	13145	100.000	4544
STD2.lcd	STD2	STD2	10.949	332877	13065	99.479	4562
STD3.lcd	STD3	STD3	10.971	339832	13112	101.033	4521
STD4.lcd	STD4	STD4	10.995	339016	13070	100.592	4529
STD5.lcd	STD5	STD5	11.012	354162	13186	104.028	4471
STD6.lcd	STD6	STD6	11.029	353344	13168	103.136	4475
Average			10.980	342599	13124	101.378	4517
%RSD			0.363	2.621	0.384	1.784	0.819
Maximum			11.029	354162	13186	104.028	4562
Minimum			10.923	332877	13065	99.479	4471
Standard Deviation			0.040	8978	50	1.809	37

Tailing Factor	Resolution(USP2)
1.063	19.228
1.065	19.275
1.062	19.233
1.071	19.235
1.085	19.190
1.085	19.215
1.072	19.229
0.993	0.146

Tailing Factor	Resolution(USP2)
1.085	19.275
1.062	19.190
0.011	0.028

ANEXO N°7

**HOJA DE CÁLCULO PARA COMPARACIÓN DE MÉTODOS
ANALÍTICOS POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRA VIOLETA
VISIBLE Y CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTO DESEMPEÑO.**

HOJA DE CALCULO

Comparación Robustez

Robustez UV

Replica	Normal	Porcentaje sobre lo rotulado		
		Condición diferenre		
		288 nm	292nm	
1	96.271276	96.082593	96.43417	
2	95.595688	95.403564	96.09581	
3	95.595688	95.403564	95.7574	
Promedio	95.820884	95.629907	96.09581	#i DIV/0!
DS	0.3900509	0.3920375	0.338366	#i DIV/0!
CV%	0.4070625	0.4099529	0.352113	#i DIV/0!

Robustez HPLC

Replica	Normal	Porcentaje sobre lo rotulado		
		Condición diferenre		
		288 nm	292nm	
1	95.785002	97.199191	97.47052	
2	95.729662	97.509585	97.45672	
3	95.186981	96.819457	97.0250	
Promedio	95.567215	97.176078	97.31741	#i DIV/0!
DS	0.3304526	0.3456443	0.253335	#i DIV/0!
CV%	0.3457803	0.3556887	0.260318	#i DIV/0!

Prueba F para varianzas de dos muestras

	Condición normal UV	Condición normal HPLC
Media	95.820884	95.567215
Varianza	0.1521397	0.1091989
Observacio	3	3
Grados de l	2	2
F	1.3932344	F calculado
P(F<=f) una	0.4178446	
Valor críticc	19	F de tabla
CRITERIO	resultado	
Fcal<Ftab	F-cal	1.39 Fcalc<Ftab
varianzas son estadísticamente iguales		

HOJA DE CALCULO

Comparación Robustez

Prueba F para varianzas de dos muestras

	288nm UV	288nm HPLC
Media	95.6299074	97.17607791
Varianza	0.15369343	0.119469993
Observaciones	3	3
Grados de libertad	2	2
F	1.28646052	F calculado
P(F<=f) una cola	0.43735721	
Valor crítico	19	F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	1.29	Fcal<Ftab
	varianzas son estadísticamente iguales		

Prueba F para varianzas de dos muestras

	292nm UV	288nm HPLC
Media	96.0958063	97.3174138
Varianza	0.11449122	0.064178692
Observaciones	3	3
Grados de libertad	2	2
F	1.78394445	F calculado
P(F<=f) una cola	0.35920257	
Valor crítico	19	F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	1.78	Fcal<Ftab
	varianzas son estadísticamente iguales		

HOJA DE CALCULO

Comparación Estabilidad

Selectividad UV

Condición diferenre				
Replica	Placebo Adicionado	Placebo adicionado + degradación ácida	Placebo adicionado + degradación básica	Placebo adicionado + degradación UV
1	97.45	81.62	88.3562135	92.9467041
2	97.51	81.44	88.7437033	93.3477179
Promedio	97.477660	81.5308942	88.5499584	93.147211

Selectividad HPLC

Condición diferenre				
Replica	Placebo Adicionado	Placebo adicionado + degradación ácida	Placebo adicionado + degradación básica	Placebo adicionado + degradación UV
1	97.88	88.92	94.8910455	96.218193
2	98.21	91.57	93.563898	96.8817667
Promedio	98.043021	90.2460293	94.2274717	96.5499798

Prueba F para varianzas de dos muestras

	HCI UV	HCI HPLC
Media	81.5308942	90.2460293
Varianza	0.01581869	3.52264092
Observacion	2	2
Grados de lib	1	1
F	0.00449058	F calculado
P(F<=f) una c	0.04259733	
Valor crítico	0.00619396	F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	0.00449	Fcal<Ftab
varianzas son estadísticamente iguales			

HOJA DE CALCULO

Comparación Estabilidad

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>NaOH UV</i>	<i>NaOH HPLC</i>	
Media	88.5499584	94.2274717	
Varianza	0.07507419	0.88066023	
Observacion	2	2	
Grados de lib	1	1	
F	0.08524763		F calculado
P(F<=f) una c	0.18084805		
Valor crítico	0.00619396		F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	0.08525	Fcalc>Ftab

varianzas son estadisticamente diferentes

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>Luz UV</i>	<i>Luz HPLC</i>	
Media	93.147211	96.5499798	
Varianza	0.08040603	0.22016506	
Observacion	2	2	
Grados de lib	1	1	
F	0.36520794		F calculado
P(F<=f) una c	0.34606213		
Valor crítico	0.00619396		F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	0.36521	Fcalc>Ftab

varianzas son estadisticamente diferentes

HOJA DE CALCULO

Comparación Estabilidad

Estabilidad UV

Porcentaje sobre lo rotulado			
Replica	Inicial	24 horas	
		22 grados	5 grados
1	100.086203	99.54140748	100.943399
2	98.3723983	99.89190539	100.592901
3	98.7151593	100.2424033	100.242403
Promedio	99.0579202	99.89190539	100.592901
DS	0.90686028	0.350497914	0.35049791
CV%	0.91548488	0.350877193	0.34843206

Estabilidad HPLC

Porcentaje sobre lo rotulado			
Replica	Inicial	24 horas	
		22 grados	5 grados
1	99.7718546	100.9588085	101.04188
2	99.8271172	100.9148821	100.949844
3	99.6586695	100.7487385	101.048753
Promedio	99.7525471	100.874143	101.013492
DS	0.08586756	0.110802093	0.05522825
CV%	0.08608057	0.109841918	0.05467413

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>Est inicial UV</i>	<i>Est inicial HPLC</i>	
Media	99.0579202	99.75254711	
Varianza	0.82239558	0.007373238	
Observacion	3	3	
Grados de lib	2	2	
F	111.537909		F calculado
P(F<=f) una c	0.00888589		
Valor crítico	19		F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	111.54	Fcal>Ftab

varianzas son estadisticamente diferentes

HOJA DE CALCULO

Comparación Estabilidad

Prueba F para varianzas de dos muestras

	22°C UV	22°C HPLC
Media	99.8919054	100.874143
Varianza	0.12284879	0.0122771
Observacion	3	3
Grados de lib	2	2
F	10.0063328	
P(F<=f) una c	0.09085678	
Valor crítico	19	

F calculado

F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	10.01	Fcalc<Ftab
varianzas son estadísticamente iguales			

Prueba F para varianzas de dos muestras

	5°C UV	5°C HPLC
Media	100.592901	101.013492
Varianza	0.12284879	0.00305016
Observacion	3	3
Grados de lib	2	2
F	40.2761804	
P(F<=f) una c	0.02422705	
Valor crítico	19	

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	40.28	Fcalc>Ftab
varianzas son estadísticamente diferentes			

HOJA DE CALCULO			
Comparación Precisión del sistema			
		Precisión del sistema UV	
		X	Y
		ESTANDAR	
REPLICA	Concentración teórica	Valor de la lectura	
1	0.014104256	0.293	
2	0.013959844	0.290	
3	0.014056119	0.292	
4	0.013911707	0.289	
5	0.014104256	0.293	
6	0.013863569	0.288	
	Promedio	0.291	
	DesVesta	0.002136976	
	CV	0.734776868	
		Precisión del sistema HPLC	
		X	Y
		ESTANDAR	
REPLICA	Concentración teórica	Valor de la lectura	
1	0.014106460	352140	
2	0.013957640	348425	
3	0.013967535	348672	
4	0.013720129	342496	
5	0.013527564	337689	
6	0.013424051	335105	
	Promedio	344087.833	
	DesVesta	6765.105806	
	CV	1.966098522	
Prueba F para varianzas de dos muestras			
		<i>PS UV</i>	<i>PS HPLC</i>
Media	0.290833333	344087.8333	
Varianza	4.56667E-06	45766656.57	
Observacion	6	6	
Grados de lib	5	5	
F	9.97815E-14	F calculado	
P(F<=f) una c	0		
Valor crítico	0.1980069	F de tabla	
CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	9.98E-14	Fcalc<Ftab
	varianzas son estadisticamente iguales		

HOJA DE CALCULO

Comparación Linealidad del Sistema

Linealidad del sistema UV

Número	Nivel	Concentración	Lectura
1	80%	0.011	0.237
2	80%	0.011	0.235
3	80%	0.011	0.235
4	90%	0.013	0.261
5	90%	0.013	0.258
6	90%	0.013	0.263
7	100%	0.014	0.294
8	100%	0.014	0.293
9	100%	0.014	0.294
10	110%	0.015	0.336
11	110%	0.015	0.318
12	110%	0.015	0.335
13	120%	0.017	0.351
14	120%	0.017	0.349
15	120%	0.017	0.351

Linealidad del sistema HPLC

Número	Nivel	Concentración	Lectura
1	80%	0.011	267640
2	80%	0.011	262946
3	80%	0.011	266583
4	90%	0.013	299755
5	90%	0.013	297290
6	90%	0.013	301300
7	100%	0.014	335962
8	100%	0.014	329843
9	100%	0.014	334616
10	110%	0.015	370748
11	110%	0.015	362285
12	110%	0.015	368894
13	120%	0.017	403108
14	120%	0.017	398916
15	120%	0.017	402884

Continúa...

HOJA DE CALCULO

Comparación Linealidad del Sistema

Continúa...

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>LS UV</i>	<i>LS HPLC</i>
Media	0.294	333518
Varianza	0.00193586	2479149097
Observacion	15	15
Grados de lib	14	14
F	7.8086E-13	
P(F<=f) una c	0	
Valor crítico	0.40262094	

F calculado

F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	7.81E-13	Fcalc<Ftab
varianzas son estadisticamente iguales			

HOJA DE CALCULO					
Comparación Recobro (Exactitud y Precisión)					
		Recobro UV			
	NIVEL%	mg/mL Adic	Lectura	mg/mL Recu	%Recobro
SERIE 1	80	0.011	0.237	0.01132649	101.856889
SERIE 2			0.235	0.0112309	100.997338
SERIE 3			0.235	0.01119251	100.652048
SERIE 1	100	0.014	0.304	0.01452849	105.278902
SERIE 2			0.301	0.01438512	104.239966
SERIE 3			0.298	0.01419305	102.848205
SERIE 1	120	0.017	0.344	0.01638393	98.2249769
SERIE 2			0.346	0.01653571	99.1349754
SERIE 3			0.353	0.01681258	100.794816
		Recobro HPLC			
	NIVEL%	mg/mL Adic	Lectura	mg/mL Recu	%Recobro
SERIE 1	80	0.011	266855	0.01114491	100.224014
SERIE 2			262942	0.01103318	99.2192546
SERIE 3			266896	0.01114846	100.255895
SERIE 1	100	0.014	336228	0.0140422	101.755063
SERIE 2			330880	0.01388389	100.607931
SERIE 3			335527	0.01401523	101.559611
SERIE 1	120	0.017	401245	0.01676032	100.481528
SERIE 2			395254	0.01658506	99.4308181
SERIE 3			401112	0.01675476	100.448221
Prueba F para varianzas de dos muestras					
		<i>Recobro UV</i>	<i>Recobro HPLC</i>		
	Media	101.55868	100.4424818		
	Varianza	5.1862057	0.700258523		
	Observacion	9	9		
	Grados de lib	8	8		
	F	7.40613006		F calculado	
	P(F<=f) una c	0.00519985			
	Valor crítico	3.43810123		F de tabla	
	CRITERIO	resultado			
	Fcal<Ftab	F-cal	7.41	Fcalc>Ftab	
		varianzas son estadisticamente diferentes			

HOJA DE CALCULO

Comparación Linealidad del Método

Linealidad del método UV

	Adicionado	Recuperado
1	0.011	0.01132649
2	0.011	0.0112309
3	0.011	0.01119251
4	0.014	0.01452849
5	0.014	0.01438512
6	0.014	0.01419305
7	0.017	0.01638393
8	0.017	0.01653571
9	0.017	0.01681258

Linealidad del método HPLC

	Adicionado	Recuperado
1	0.011	0.01114491
2	0.011	0.01103318
3	0.011	0.01114846
4	0.014	0.0140422
5	0.014	0.01388389
6	0.014	0.01401523
7	0.017	0.01676032
8	0.017	0.01658506
9	0.017	0.01675476

Prueba F para varianzas de dos muestras

	<i>LIM UV</i>	<i>LIM HPLC</i>	
Media	0.01406542	0.01392978	
Varianza	5.3934E-06	5.8683E-06	
Observacion	9	9	
Grados de lib	8	8	
F	0.91907588		F calculado
P(F<=f) una c	0.45396038		
Valor crítico	0.29085822		F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	0.92	Fcalc>Ftab

varianzas son estadísticamente diferentes

HOJA DE CALCULO			
Comparación Repetibilidad 1			
Repetibilidad 1 UV			
MUESTRA	%SR		
1	105.077257		
2	99.98700969		
3	99.98700969		
4	99.98700969		
5	100.3353965		
6	100.3378413		
Promedio	100.9519207		
DesVesta	2.028238582		
CV	2.009113416		
Repetibilidad 1 HPLC			
MUESTRA	%SR		
1	98.338900		
2	99.92621039		
3	97.0672805		
4	98.66262322		
5	98.55688091		
6	100.2189712		
Promedio	98.7951443		
DesVesta	1.146699377		
CV	1.160683943		
Prueba F para varianzas de dos muestras			
		<i>Repetibilidad 50 UV</i>	<i>Repetibilidad 50HPLC</i>
Media	100.9519207	98.79514431	
Varianza	4.113751747	1.31491946	
Observacion	6	6	
Grados de lib	5	5	
F	3.128519937		F calculado
P(F<=f) una c	0.118138103		
Valor crítico	5.050329058		F de tabla
CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	3.13	Fcalc<Ftab
	varianzas son estadisticamente iguales		

HOJA DE CALCULO

Comparación Repetibilidad 2

Repetibilidad 100 UV

MUESTRA	%SR
1	102.0919994
2	99.98700969
3	101.0432105
4	105.8685985
5	98.25713063
6	99.2902361
Promedio	101.0896975
DesVesta	2.695258117
CV	2.666204554

Repetibilidad 100 HPLC

MUESTRA	%SR
1	98.19450924
2	99.1619658
3	99.33292479
4	98.0549132
5	97.37501557
6	98.87260647
Promedio	98.49865584
DesVesta	0.752037761
CV	0.763500531

Prueba F para varianzas de dos muestras

	Repetibilidad 100UV	Repetibilidad 100HPLC	
Media	101.0896975	98.49865584	
Varianza	7.264416319	0.565560794	
Observacion	6	6	
Grados de lib	5	5	
F	12.84462502		F calculado
P(F<=f) una c	0.007036079		
Valor crítico	5.050329058		F de tabla

CRITERIO	resultado		
Fcal<Ftab	F-cal	12.84	Fcalc>Ftab
varianzas son estadísticamente diferentes			

ANEXO N° 8.
MONOGRAFÍA DE SILDENAFIL CITRATO TABLETAS

MONOGRAFÍA NUEVA

Con fundamento en el numeral 4.11.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2010, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1° de agosto y hasta el 30 de septiembre de 2017, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhu número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México. Fax: 5207 6890
Correo electrónico: consultas@farmacoper.org.mx

SILDENAFILO. TABLETAS

Contienen citrato de sildenafilo equivalente a no menos del 90.0 % y no más del 110.0 % de la cantidad de sildenafilo ($C_{22}H_{26}N_4O_4S$), indicada en el marbete.

SUSTANCIA DE REFERENCIA. SRef-FEUM de Citrato de Sildenafilo, manejar de acuerdo con las instrucciones de uso.

ENSAYOS DE IDENTIDAD.

A. MGA 0351.

Solución A. Mezcla de hidróxido de amonio y agua (10:90)
Preparación de referencia. Transferir una cantidad de la SRef-FEUM de citrato de sildenafilo equivalente a 10 mg de sildenafilo a un matraz volumétrico de 10 mL. Disolver y llevar a volumen con Solución A, y mezclar. En un colector de cartuchos para extracción de fase sólida conectar un cartucho de extracción de fase sólida de 1000 mg en 6 mL, rellenos de empaque L1 y enjuagarlos con 10 mL de metanol seguido de 10 mL de Solución A, descartar los dos lavados. Adicionar 5 mL de la solución de sildenafilo y pasarlo a través del cartucho. Lavar con 10 mL de agua dejándolos pasar hasta su totalidad. Dejar activado el cartucho y dejar secar. Eluir el sildenafilo con 5 mL de metanol y colectarlo en un tubo de ensayo. Añadir alrededor 200 mg de bromuro de potasio. Agitar vigorosamente por 1 minuto. Evaporar a sequedad por un medio adecuado. Transferir 75 mg del polvo seco a un mortero y adicionar alrededor de 140 mg de bromuro de potasio. Moler y mezclar.

Preparación de la muestra. Moler una tableta hasta obtener un polvo fino. Transferir a un matraz volumétrico apropiado de tal manera que al momento de llevar al aforo se obtenga una solución de 1 mg/mL de sildenafilo. Llevar al aforo con solución A, y colocarlo en un baño de ultrasonido por dos minutos. Agitar vigorosamente. Centrifugar una alícuota de 15 mL a 3500 rpm durante 5 minutos. Proceder como se indica en la preparación de referencia a partir de "En un colector de cartuchos para extracción de fase sólida".

Procedimiento. Obtener los espectros de absorción al infrarrojo de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra utilizando un equipo de infrarrojo con

transformadas de Fourier y celdas de reflectancia difusa en el intervalo de 2000 a 450 cm^{-1} . El espectro de absorción al infrarrojo obtenido con la preparación de la muestra, exhibe máximos a las mismas longitudes de onda que el de la preparación de referencia.

B. MGA 0241, CLAR. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma de la preparación de la muestra corresponde al del cromatograma de la preparación de referencia, según se indica en la Valoración.

UNIFORMIDAD DE DOSIS. MGA 0299. Cumple los requisitos.

DISOLUCIÓN. MGA 0291. Aparato J. Q = 80 %.

Medio de disolución. Ácido clorhídrico 0.01 N.

Preparación de referencia. Preparar una solución de la SRef-FEUM de citrato de sildenafilo en medio de disolución que contenga 0.02 mg/mL de sildenafilo.

Procedimiento. Colocar cada tableta en el aparato con 900 mL del medio de disolución, a 100 rpm durante 15 min. Filtrar inmediatamente una porción de la solución. En caso necesario, diluir para tener una concentración similar a la de la preparación de referencia utilizando medio de disolución. Determinar la absorbancia en la región ultravioleta, de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra, a la longitud de onda de máxima absorbancia de 290 nm, en celdas de 1 cm, utilizando medio de disolución como blanco de ajuste. Calcular el porcentaje de $C_{22}H_{26}N_4O_4S$ disuelto por medio de la siguiente fórmula:

$$\frac{100 CD \left(\frac{A_m}{A_{ref}} \right)}{M}$$

Donde:

C = Cantidad por mililitro de sildenafilo en la preparación de referencia.

D = Factor de dilución de la muestra.

M = Cantidad del principio activo indicada en el marbete.

A_m = Absorbancia obtenida con la preparación de la muestra.

A_{ref} = Absorbancia obtenida con la preparación de referencia.

IMPUREZAS ORGÁNICAS. MGA 0241, CLAR.

Solución de trietilamina pH 3.0, Diluyente y Fase móvil. Preparar como se indica en valoración.

Preparación de referencia. Preparar una solución de la SRef-FEUM de citrato de sildenafilo con una concentración equivalente a 0.001 mg/mL de sildenafilo en fase móvil.

Preparación de sensibilidad. Preparar una solución de la SRef-FEUM de citrato de sildenafilo con una concentración equivalente a 0.00025 mg/mL de sildenafilo en fase móvil.

Preparación de aptitud del sistema. Es una mezcla de sildenafilo y del N-óxido de sildenafilo preparada de la siguiente manera: Disolver 70 mg de la SRef-FEUM de citrato

de sildenafil en 1 mL de una solución de peróxido de hidrógeno y ácido fórmico (2:1), dejar reposar por 10 minutos y diluir a 250 mL con fase móvil.

Preparación Concentrada de la muestra. Transferir 5 tabletas a un matraz volumétrico de 250 mL, dispersar en al menos 25 mL de diluyente con la ayuda de ultrasonido. Ya que las tabletas estén completamente dispersadas, llevar a volumen con fase móvil. Poner en baño de ultrasonido si es necesario. Mezclar. Centrifugar una porción de la muestra a 3000 rpm durante 5 minutos. Usar el sobrenadante para la preparación diluida.

Preparación diluida de la muestra. Transferir un volumen del sobrenadante, medido con precisión a un matraz volumétrico adecuado, de tal manera que cuando se afore, la concentración final sea de aproximadamente 0.5 mg/mL de sildenafil. Diluir a volumen con fase móvil y mezclar.

Condiciones del equipo. Detector de luz UV, a una longitud de onda de 290 nm; columna de 15 cm x 3.9 mm; empacada, con LI de 5 µm mantenida a 30°C, flujo 1.0 mL/min. Tiempo de corrida: no más de 3 veces el tiempo de retención de sildenafil.

Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo repetidas veces, volúmenes iguales de la preparación de la referencia (20 µL), registrar el área de los picos. El factor de coeleo es no mayor que 1.3 para el pico de sildenafil y el coeficiente de variación no es mayor que el 3.0%. Inyectar al cromatógrafo 20 µL de la preparación de sensibilidad y obtener el cromatograma, la relación señal ruido del pico de sildenafil no es menor que 10. Inyectar 20 µL de la preparación de aptitud del sistema y obtener el cromatograma: la resolución entre el N-óxido de sildenafil y el sildenafil no es menor que 2.6. Una vez obtenidos los parámetros de operación, inyectar al cromatógrafo, por separado, volúmenes iguales (20 µL) de la preparación de referencia y de la preparación diluida de la muestra. Obtener sus cromatogramas correspondientes y calcular el área de los picos.

Calcular el porcentaje de cualquier impureza en la muestra tomada por medio de la siguiente fórmula:

$$\left(\frac{A_m}{A_{ref}}\right) \left(\frac{C_{ref}}{C_m}\right) 100$$

Donde:

C_{ref} = Concentración en miligramos por mililitro de sildenafil en la preparación de referencia.

C_m = Concentración en miligramos por mililitro de sildenafil en la preparación de la muestra, tomando en cuenta la dosis declarada y el factor de dilución de la muestra.

A_m = Área del pico para sildenafil en el cromatograma de la preparación de la muestra.

A_{ref} = Área del pico para sildenafil en el cromatograma de la preparación de referencia.

Descartar cualquier pico menor que 0.05%. Las impurezas cumplen con lo descrito en la tabla 1.

Tabla 1

Nombre	Tiempo de retención relativo	Criterio de aceptación, no mayor que (%)
Sildenafil	1.0	—
N-Óxido de sildenafil*	1.2	0.20
Cualquier producto de degradación individual	—	0.20
Total de los productos de degradación	—	0.50

* N-óxido de 1-[[3-(6,7-Dihidro-1-metil-7-oxo-3-propil-1H-pirazolo[4,3-d]pirimidin-5-il)-4-etoxifenil]sulfonil]-4-metilpiperazina.

VALORACIÓN. MGA 0241, CLAR.

Solución de trietilamina pH 3.0. Diluir 7.0 mL de trietilamina grado CLAR a 1 L. Ajustar el pH de la solución a 3.0 ± 0.1 con ácido fosfórico y mezclar.

Diluyente. Mezcla de acetonitrilo y agua (90:10)

Fase móvil. Mezcla filtrada y desgasificada de solución de trietilamina pH 3.0, metanol y acetonitrilo (58:25:17 v/v/v).

Preparación de referencia. Preparar una solución de la SRef-FEUM de citrato de sildenafil con una concentración equivalente a 0.02 mg/mL de sildenafil en fase móvil.

Preparación Concentrada de la muestra. Dispersar 1 tableta en al menos 5 mL de diluyente con la ayuda de ultrasonido. Ya que la tableta esté completamente dispersada, transferir a un matraz volumétrico de 250 mL y llevar a volumen con fase móvil mezclando de manera rotatoria. Centrifugar una porción de la muestra a 3000 rpm durante 5 minutos y usar el sobrenadante para la preparación diluida.

Preparación diluida de la muestra. Transferir un volumen del sobrenadante, medido con precisión a un matraz volumétrico adecuado, de tal manera que cuando se afore, la concentración final sea de aproximadamente 0.02 mg/mL de sildenafil. Diluir a volumen con fase móvil y mezclar.

Condiciones del equipo. Detector de luz UV, a una longitud de onda de 290 nm; columna de 15 cm x 3.9 mm; empacada, con LI de 5 µm mantenida a 30°C, flujo 1.0 mL/min. Tiempo de corrida: no menos de 1.5 veces el tiempo de retención de sildenafil.

Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo repetidas veces, volúmenes iguales de la preparación de la referencia (20 µL), registrar el área de los picos. El factor de coeleo es no mayor que 1.3 para el pico de sildenafil y el coeficiente de variación no es mayor que 3.0%. Una vez obtenidos los parámetros de operación, inyectar al cromatógrafo, por separado, volúmenes iguales (20 µL) de la preparación de referencia y de la preparación diluida de la muestra. Obtener sus cromatogramas correspondientes y calcular el área de los picos.

Calcular la cantidad de sildenafil en la muestra tomada por medio de la siguiente fórmula:

$$CD \left(\frac{A_m}{A_{ref}}\right)$$

Donde:

- C^r = Cantidad por mililitro de sildenafil en la preparación de referencia.
 A_m = Área del pico para sildenafil obtenido en el cromatograma de la preparación diluida de la muestra.
 A_{ref} = Área del pico para sildenafil obtenido en el cromatograma con la preparación de referencia.
 D = Factor de dilución de la muestra.

CONSULTA

ANEXO N ° 9

**DETERMINACIÓN DE SELECTIVIDAD/ ESPECIFICIDAD SEGÚN LA
GUÍA DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS AEFI 2001**

2.3.2 Aplicación de técnicas confirmatorias con muestras sometidas a estrés

Otra posible aproximación se puede realizar mediante el estudio de muestras sometidas a estrés para generar los compuestos potencialmente interferentes. Este tipo de estudios adquiere especial importancia para los métodos en que se desea evaluar la estabilidad de un principio activo o forma farmacéutica. Se debe comprobar, a ser posible, la identidad del analito y que la señal proviene sólo de él. Las condiciones de estrés para lograr una degradación del orden del 10-20% en la mayoría de principios activos son:

Condiciones para la forma farmacéutica	Condiciones para la materia prima
Calor (40-70°C)	Calor (40-100°C)
Luz	Luz
Humedad relativa (85%)	Ácido (HCl 0.1N)
	Base (NaOH 0.1N)
	Oxidante (H ₂ O ₂ 3%)

Los productos así tratados son analizados y se evalúa la pureza cromatográfica y su resolución respecto a los picos más próximos. Un criterio de selectividad para los métodos cromatográficos sería para el pico principal y el conjunto de impurezas superiores al 0.1%, obtener una resolución cromatográfica superior a 1.5 (los picos están resueltos hasta la línea de base). Puede ser necesario ampliar este criterio si aparecen colas en los picos que no permite su clara separación. Si no es posible una perfecta separación debe demostrarse que el valor de la interferencia no es superior al 0.5%.

La evaluación de la degradación se puede determinar comparando los perfiles obtenidos del producto estresado y no estresado. Con esta finalidad puede ser de interés la superposición de los distintos cromatogramas obtenidos. Dichos cromatogramas se adjuntarán en el informe a una escala razonable que permita la perfecta visualización del perfil obtenido.

La siguiente tabla indica los criterios de aceptación recomendables. No todos los parámetros son de aplicación en todos los casos.

Parámetro	Criterio de aceptación propuesto
Capacidad de discriminación del procedimiento	El método ha de permitir distinguir entre todas las posibles especies químicas que puedan generarse
Resolución cromatográfica entre picos cercanos	> 1.5 (> 2)
Factor de cola cromatográfico	< 2
Nº de platos teóricos cromatográficos	> 2000
Identidad del pico cromatográfico	Pureza de pico, ausencia de coelución

Nota: Los valores indicados entre paréntesis hacen referencia a los criterios máximos aceptables en determinados casos.

2.4 Comentarios y conclusiones

La selectividad es un parámetro de aplicación universal ya que debe estudiarse en todo tipo de métodos analíticos. Su estudio requiere la utilización de todos los criterios técnicos que se posean para adaptarlo a las necesidades que se precisen en cada momento y, aún así, resulta imposible reflejar todas las situaciones.

Para la correcta evaluación de un analito se requiere que la señal producida se deba inequívocamente a su presencia y que no existan interferencias de otras sustancias que puedan estar en la muestra. No es necesario desechar los métodos analíticos poco selectivos. Se podrán utilizar siempre que en el método de control de rutina se incluya un procedimiento complementario que demuestre que las sustancias interferentes están ausentes, o bien que se encuentran en concentraciones inferiores a las que puede producir una interferencia significativa en el resultado.

Los resultados del estudio de selectividad están vinculados principalmente al origen de la muestra, su preparación y las condiciones instrumentales. Cualquier cambio en estos factores supone reconsiderar el estudio realizado.