

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



**VALIDACION DE UN METODO ANALITICO PARA LA
CUANTIFICACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN
TABLETAS RECUBIERTAS POR CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE
ALTA EFICIENCIA**

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACION
PRESENTADO POR:

**JORGE ALEJANDRO MORAN RODRIGUEZ
WENDY CAROLINA RIVERA QUINTANILLA**

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO(A) EN QUIMICA Y FARMACIA**

OCTUBRE 2022

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIO INTERINO

MAESTRO ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL

MSc. ENA EDITH HERRERA SALAZAR

TRIBUNAL EVALUADOR

**ASESORES DE AREA EN CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS
FARMACEUTICOS Y COSMETICOS**

MSc. ELISEO ERNESTO AYALA MEJIA

PhD. GUADALUPE DEL CARMEN ABREGO ESCOBAR

DOCENTES ASESORES

LIC. HENRY ALFREDO HERNANDEZ CONTRERAS

LIC. LUCIA ESMERALDA SEGURA FIGUEROA

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios Todopoderoso, por darme sabiduría y fortaleza para afrontar cada una de las adversidades que se han presentado en mi vida.

A mi madre Maira Lizet Morán Rodríguez por todo el esfuerzo y sacrificio que ha hecho para poder brindarme el estudio, por ser mi ejemplo a seguir, por guiarme en la vida.

A mi padre Jorge Henríquez por darme todo el apoyo necesario a pesar de la distancia, por corregirme cuando lo necesite y por siempre creer en mí.

A mi familia por estar conmigo en todo momento y brindarme el apoyo.

A Wendy Rivera, gracias por encaminarme en esta carrera tan hermosa, por motivarme cuando sentí que no podía más, por siempre creer que lo lograríamos. Agradezco a Dios por su vida.

Al Laboratorio Farmacéutico Nacional, por darnos la oportunidad de realizar este estudio de investigación y por brindarnos las condiciones adecuadas.

Al Licenciado Henry Hernández, por todo el conocimiento que nos impartió en los años de estudio, por su apoyo en el transcurso de la investigación y por el sacrificio que realizó para poder asesorarnos y ayudarnos a finalizar nuestra investigación.

Al tribunal calificador MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía, Dra. Guadalupe Del Carmen Abrego Escobar y MSc. Ena Edith Herrera Salazar, gracias por todo el apoyo en el desarrollo de esta investigación.

Jorge Alejandro Morán Rodríguez

DEDICATORIA

A mi madre Maira Lizet Morán Rodríguez, por el amor, comprensión, paciencia y apoyo incondicional que me brindaste en todo momento. Gracias.

A mi padre Jorge Henríquez, por su sacrificio y esfuerzo para que lograra terminar mis estudios y tener una mejor vida.

A mi Familia, por estar conmigo en todo momento, a mis Tías por brindarme su cariño y apoyo siempre, a mi Abuela por llevarme en sus oraciones y darme ánimos, a mi Abuelo por darme sus consejos.

A Wendy Rivera, por todo su apoyo en estos años, por su cariño y por impulsarme a ser una mejor persona. Gracias.

Atentamente,

Jorge Alejandro Morán Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios Todopoderoso, por darme salud y sabiduría, por haberme guiado en mi vida académica, por estar siempre a mi lado, dándome lo necesario para afrontar todas las dificultades que se presentaban en el camino. Sin ti nada de esto sería posible.

A mi papá Daniel Rivera, que me enseñó a seguir adelante por más difícil que fuera la situación, por darme sus consejos, por estar conmigo y cuidarme, por el esfuerzo para que lograra terminar mis estudios

A mi madre María Quintanilla, que siempre estuvo conmigo en todo momento, por darme una razón para esforzarme cada día, por apoyarme incondicionalmente en mis decisiones, por su amor y cariño, por educarme y hacerme una persona de bien, te agradezco tanto mami, gracias a ti es este logro.

A Jorge Moran, gracias por estar siempre conmigo en las buenas y en las malas, por estar en los momentos difíciles que atravesé, te agradezco por haberme llenado de felicidad todos estos años, por ayudarme a crecer como persona y profesional, gracias por todo.

Al Laboratorio Farmacéutico Nacional, por abrirnos las puertas y a la Licenciada Lucia segura, por capacitarnos y tener paciencia, gracias por darnos la oportunidad de haber llevado a cabo el estudio de investigación.

A mi asesor Licenciado Henry, por su valioso apoyo al desarrollo de este trabajo con su tiempo, paciencia y conocimientos, por su disponibilidad en todo momento, por ser una gran persona y un excelente profesional, por confiar en nosotros muchísimas gracias, además quiero agradecer al tribunal calificador MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, MSc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía, Dra. Guadalupe Del Carmen Abrego Escobar y MSc. Ena Edith Herrera Salazar, muchísimas gracias por su disponibilidad, por sus consejos y por todas sus observaciones en el desarrollo de esta investigación.

Wendy Carolina Rivera Quintanilla

DEDICATORIA

A mis padres, por haber sido mi apoyo a lo largo de toda mi carrera universitaria y a lo largo de mi vida.

A mi familia por estar conmigo, por escucharme, por darme ánimos para seguir estudiando, muchas gracias.

A Jorge Moran, por apoyarme en todo momento, muchas gracias por todo.

Y especialmente para mi abuelita Lucia Gonzales, por el amor y el cariño, gracias por cuidarme siempre, un abrazo hasta el cielo.

Con mucho cariño,

Wendy Carolina Rivera Quintanilla.

INDICE GENERAL

	Pág. N°
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	XVII
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	22
3.1 Tramadol HCl/ Dexketoprofeno	22
3.1.1 Información farmacológica	22
3.2 Cromatografía	26
3.3 Generalidades de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia	27
3.3.1 Aparato	27
3.3.2 Procedimiento	30
3.4 Método Analítico	32
3.4.1 Clasificación de los métodos	32
3.5 Procedimientos analíticos que son objeto de validación	33
3.6 Validación	34
3.6.1 Exactitud	34
3.6.2 Precisión	35
3.6.3 Especificidad	35
3.6.4 Linealidad del Sistema	36
3.6.5 Linealidad del método y Rango	37
3.6.6 Linealidad e Intervalo	37
3.6.7 Robustez	39
3.7 Documentación de la Validación de un Método	39
3.7.1 Protocolo de validación	40
3.7.2 Informe certificado	40

3.7.3 Certificado	41
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	43
4.1 Tipo de Estudio	43
4.2 Investigación Bibliográfica	43
4.3 Ámbito de aplicación	44
4.4 Parte Experimental	44
Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión de Resultados	47
5.1 Elaboración de Protocolo para la validación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia	47
5.2 Análisis de los resultados obtenidos en los parámetros de desempeño de la validación de la metodología analítica por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia, para la para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl	82
5.2.1 Robustez	82
5.2.2 Estabilidad	84
5.2.3 Especificidad	85
5.2.4 Precisión del Sistema	87
5.2.5 Linealidad del Sistema	88
5.2.6 Exactitud	91
5.2.7 Repetibilidad y Precisión Intermedia	93
5.3 Redacción del Informe de Validación	95
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	105
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	107
Bibliografía	

Glosario

Anexos

INDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág. N°
1	Estructura de molécula de Dexketoprofeno trometamol y Tramadol HCl	22
2	Diagrama que muestra los componentes de un HPLC	31

INDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág. N°
1	Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos Físico - Químicos y potencia microbiológica	35
2	Resultados de la prueba de Robustez de Tramadol HCl	82
3	Resultados de la prueba de Robustez de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol)	83
4	Resultados de la prueba de Estabilidad (Tramadol HCl)	84
5	Resultados de la prueba de Estabilidad (Dexketoprofeno)	85
6	Resultados de la prueba de Especificidad y Selectividad para Tramadol HCl	86
7	Resultados de la prueba de Especificidad/Selectividad para Dexketoprofeno	86
8	Resultados de la prueba de Precisión del sistema. Estándar de tramadol HCl	87
9	Resultados de la prueba de Precisión del sistema. Estándar De Dexketoprofeno	88
10	Resultados de Linealidad del sistema para Tramadol HCl	89
11	Resultados de Linealidad del sistema para Tramadol HCl (Dictamen)	89
12	Resultados de Linealidad del sistema para Dexketoprofeno	90
13	Resultados de Linealidad del sistema para Dexketoprofeno (Dictamen)	90

14	Cálculos de porcentaje de Recobro para Tramadol HCl	91
15	Cálculos de porcentaje de Recobro para Dexketoprofeno (Como Dexketoprofeno trometamol)	92
16	Resultados de la prueba de Linealidad del método para Tramadol HCl	92
17	Resultados de la prueba de Linealidad del método para Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol)	92
18	Distribución de análisis para precisión intermedia	93
19	Resultados de la prueba de repetibilidad 1 y 2 para Dexketoprofeno (Como Dexketoprofeno trometamol)	94
20	Resultados de prueba de repetibilidad 1 y 2 para Tramadol HCl	94
21	Resultados de la prueba de precisión intermedia	94

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

- 1 Imágenes del equipo HPLC
- 2 Formatos de hojas de cálculos
- 3 Formato de protocolo de validación
- 4 Formato de informe de validación de metodologías analíticas
- 5 Tratamiento estadístico de resultados
- 6 Cromatogramas de los parámetros evaluados
- 7 Certificados de análisis de materia prima

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto principal desarrollar la validación de una metodología analítica para la cuantificación simultánea de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas, utilizando un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), marca SHIMADZU modelo LC-2030.

Se siguió el procedimiento interno de validación de metodologías analíticas fisicoquímicas del departamento de control de calidad, guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos versión 2. El Salvador, Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) y las pruebas analíticas que se desarrollaron para comprobar la calidad del medicamento fueron tomadas del RTCA 11.03.47.07 de Verificación de Calidad. Esta investigación se llevó a cabo en el departamento de Control de Calidad, de un Laboratorio Nacional ubicado en la ciudad de Antigua Cuscatlán del departamento de la Libertad, en los meses de diciembre del 2021 y marzo del 2022.

El protocolo de validación fue redactado a fin de estudiar parámetros tales como: Robustez, Estabilidad, Selectividad/Especificidad, Precisión del sistema, Linealidad del sistema, Linealidad del método, Exactitud, Repetividad y Precisión intermedia. A partir de los datos obtenidos, se redactó el informe de validación con el fin de demostrar la idoneidad del método analítico. Para finalizar con la validación el protocolo y el informe están documentados en el departamento de Control de Calidad.

Los parámetros estudiados revelaron resultados conforme a la normativa vigente y por tanto es posible concluir que la validación del método se llevó a cabo de manera exitosa y al mismo tiempo, la metodología desarrollada es la idónea para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

En El Salvador la DNM (Dirección Nacional de Medicamentos), es la encargada de asegurar la calidad y el cumplimiento de normas para los productos que se realizan en las industrias farmacéuticas. Uno de los requerimientos que exigen las entidades reguladoras es la validación ya que forma parte las Buenas Prácticas de Manufactura y Buenas Prácticas de Laboratorio.

Los requerimientos principales según el apartado 14.4.1 del RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano) 11.03.42.07 “Buenas Prácticas de Manufactura de la industria farmacéutica”, es el que manifiesta que todos los métodos analíticos deben de estar escritos, aprobados y validados.

El objetivo principal de este estudio fue el desarrollo de la validación de la metodología analítica que cuantifica simultáneamente los activos Dexketoprofeno 25 mg y Tramadol HCl 75 mg en tabletas recubiertas. Se utilizo el equipo de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC), marca SHIMADZU modelo LC-2030.

Los parámetros desarrollados son los descritos por el RTCA 11.03.39:06 “Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos”, los cuales son: Exactitud, Precisión, Selectividad/Especificidad, Linealidad e intervalo, adicional a estos, se estudió el parámetro de Robustez ya que brinda una indicación de la fiabilidad del método durante su uso normal. Se tomo en cuenta la clasificación del método según Guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos versión 2. El Salvador, del Organismo Salvadoreño de acreditación (OSA). Las pruebas analíticas que se desarrollaron para comprobar la calidad del medicamento son tomadas del RTCA 11.03.47.07 de Verificación de Calidad. Los datos obtenidos se registraron y fueron sometidos a un tratamiento estadístico, se procesaron y se calcularon con el fin de interpretar y evaluar cada uno de los parámetros mencionados.

Posteriormente se realizó el protocolo de validación de metodologías analíticas. A partir de los resultados obtenidos en la determinación de los parámetros, se redactó el informe de análisis, con el fin de demostrar la idoneidad del método para la cuantificación de Dexketoprofeno 25 mg y Tramadol HCl 75 mg en tabletas recubiertas.

Finalmente se concluye que la validación de la metodología analítica por cromatografía líquida de alto desempeño es la idónea para la cuantificación simultánea de los activos Dexketoprofeno 25 mg y Tramadol HCl 75 mg en tabletas recubiertas. Se recomienda al departamento de control de calidad realizar la transferencia tecnológica y calificación técnica al personal de análisis fisicoquímico de producto terminado para la utilización de la metodología analítica por cromatografía líquida de alto desempeño.

La validación de la metodología analítica se realizó en los meses de diciembre del año 2021 y marzo del año 2022, los documentos realizados se encuentran documentados en el departamento de Control de Calidad de un Laboratorio Nacional ubicado en el municipio de Antiguo Cuscatlán del departamento de la Libertad, El Salvador.

CAPITULO II

OBJETIVO

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL:

Validar un método analítico para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- 2.2.1 Realizar un protocolo de validación para la valoración de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.
- 2.2.2 Desarrollar los parámetros de desempeño de la validación del Método Analítico para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas.
- 2.2.3 Analizar los resultados obtenidos para los parámetros de desempeño de la validación del Método Analítico para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas.
- 2.2.4 Redactar un informe final de validación y dictamen final de la validación del Método Analítico para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

La validación en la industria farmacéutica es la que proporciona la evidencia documental que un procedimiento analítico conduce un alto grado de seguridad, ya que se obtienen resultados precisos y exactos. Para realizarla se han establecido parámetros que aportan información estadística, que ayudan a concluir si el método analítico es conforme o no. Para poseer evidencia del proceso, se realiza un protocolo de validación, el cual describe paso a paso la metodología que identifica y cuantifica los principios activos, en este caso se analizaron los principios activos Dexketoprofeno y Tramadol contenidos en su forma farmacéutica de tableta recubierta. La técnica empleada utilizada fue la cromatografía líquida de alta eficacia, ya que por sus características de separación proporciona resultados confiables, los cuales se procesan estadísticamente, permitiendo emitir el informe de validación, el que contiene las conclusiones y el dictamen final.

3.1 Tramadol HCl/ Dexketoprofeno

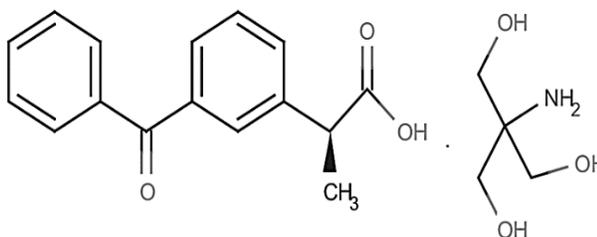


Figura N°1. Estructura de molécula de Dexketoprofeno trometamol y Tramadol HCl

3.1.1 Información farmacológica ⁽²⁾

Mecanismo de acción

Tramadol hidrocloreto es un analgésico opiáceo sintético de acción central. Es un agonista parcial, no selectivo sobre los receptores opioides μ , δ y κ con mayor

afinidad por los receptores μ . Su actividad como opiáceo es debida a una baja afinidad de unión de los receptores opiáceos μ - con el compuesto de origen y de una alta afinidad de unión de éstos con el metabolito O-desmetilado M1. Como otros opiáceos analgésicos, se ha demostrado que tramadol inhibe la recaptación de norepinefrina y serotonina. Estos mecanismos pueden contribuir de manera independiente al perfil analgésico general de tramadol.

Dexketoprofeno es la sal de trometamina del ácido S-(+)-2-(3-benzoilfenil) propiónico, un fármaco analgésico, antiinflamatorio y antipirético perteneciente a la familia de los antiinflamatorios no esteroideos. El mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos se relaciona con la disminución de la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de la vía de la ciclooxigenasa. Concretamente, hay una inhibición de la transformación del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, las PGG₂ y PGH₂, que dan lugar a las prostaglandinas PGE₁, PGE₂, PGF₂ α y PGD₂, así como a la prostaciclina PGI₂ y a los tromboxanos (TxA₂ y TxB₂). Además, la inhibición de la síntesis de prostaglandinas podría tener efecto sobre otros mediadores de la inflamación como las quininas, ejerciendo una acción indirecta que se sumaría a su acción directa. Dexketoprofeno es un inhibidor de las actividades COX-1 y COX-2.

Indicaciones

Tratamiento sintomático a corto plazo del dolor agudo de moderado a intenso en pacientes adultos cuyo dolor requiera una combinación de Tramadol y Dexketoprofeno.

Contraindicaciones

No se debe administrar Tramadol/Dexketoprofeno en los siguientes casos:

- Hipersensibilidad a tramadol o al Dexketoprofeno, a cualquier otro AINE o a alguno de los excipientes incluidos.

- En intoxicación aguda por alcohol, hipnóticos, analgésicos, opioides o medicamentos psicótropos.
- En pacientes en tratamiento con inhibidores de la MAO, o que los han tomado en los últimos 14 días.
- En pacientes con epilepsia que no esté controlada adecuadamente por el tratamiento.
- Depresión respiratoria grave.
- Reacciones fotoalérgicas o fototóxicas conocidas durante el tratamiento con ketoprofeno o fibratos.
- Pacientes con úlcera péptica/hemorragia gastrointestinal activa o con cualquier antecedente de sangrado, ulceración o perforación gastrointestinal con tratamientos anteriores con AINE.
- Pacientes con diátesis hemorrágica y otros trastornos de la coagulación.
- Pacientes con dispepsia crónica.
- Pacientes con la enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.
- Pacientes con insuficiencia cardíaca grave.
- Pacientes con disfunción renal moderada a grave.
- Contraindicado durante el embarazo y la lactancia.

Interacciones

Hay algunos medicamentos que no deben tomarse conjuntamente y otros pueden requerir un ajuste de dosis si se toman conjuntamente, a continuación, se presentan algunas interacciones:

Asociaciones con Tramadol/ Dexketoprofeno:

- Ácido acetilsalicílico, corticosteroides u otros medicamentos antiinflamatorios.
- Warfarina, heparina u otros medicamentos utilizados para prevenir la formación de coágulos.

- Litio, utilizado para tratar algunas alteraciones del estado de ánimo.
- Metotrexato, utilizado para la artritis reumatoide y el cáncer.
- Hidantoínas y fenitoína, utilizados para la epilepsia.
- Sulfametoxazol, utilizado para las infecciones bacterianas.
- Inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAOs) (medicamentos para el tratamiento de la depresión).
- Inhibidores de la ECA, diuréticos, betabloqueantes y antagonistas de la angiotensina II, utilizados para el control de la presión arterial elevada y trastornos cardiacos.
- Pentoxifilina, utilizados para tratar úlceras venosas crónica.
- Clorpropamida y glibenclamida, utilizados para la diabetes.
- Antibióticos aminoglucósidos, usados para el tratamiento de infecciones bacterianas.
- El uso concomitante de tramadol/ Dexketoprofeno y medicamentos sedantes como benzodíacepinas o medicamentos relacionados aumenta el riesgo de somnolencia, dificultad para respirar.
- Digoxina, utilizado en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica.
- Carbamazepina (para ataques epilépticos).
- Buprenorfina, nalbufina, o pentazocina (analgésicos).

Efectos adversos

- Náuseas/malestar.
- Mareos, vómitos, dolor de estómago, flatulencias, diarrea, estreñimiento.
- Dolor de cabeza, somnolencia, fatiga, sequedad de boca.
- Aumento de la sudoración, visión borrosa, contracción de la pupila.
- Aumento del número de plaquetas.
- Presión arterial elevada o muy elevada.
- Inflamación en la laringe (edema de laringe).

- Niveles bajos de potasio en sangre.
- Alteraciones psicóticas.
Inflamación alrededor de los ojos, reacciones cutáneas, hinchazón de la cara.
- Respiración superficial o lenta, falta de aire.
- Sangre en orina
- Nerviosismo/ansiedad, sofocos, sensación de malestar.
- Temblor, espasmos musculares, movimientos descoordinados.
- Alteraciones en la percepción, confusión, trastornos del sueño y pesadillas.

Sobredosis

Síntomas.

En particular, este cuadro incluye somnolencia, vértigo, desorientación, dolor de cabeza, miosis, vómitos, anorexia, colapso cardiovascular, dolor abdominal, alteraciones de la consciencia hasta estados comatosos, convulsiones y depresión respiratoria o incluso parada respiratoria.

Tratamiento

En caso de intoxicación con las formulaciones de administración por vía oral, la descontaminación gastrointestinal con carbón activado o mediante un lavado gástrico sólo se recomienda en la primera hora posterior a la ingesta.

3.2 Cromatografía ⁽¹⁾

Las técnicas de separación cromatográficas son métodos de múltiples etapas en las cuales los componentes de una muestra se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es estacionaria y la otra móvil.

La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido absorbido sobre un sólido o un gel. La fase estacionaria puede estar empacada en una columna, extendida como una capa, distribuida como película o aplicada mediante otras técnicas. La fase móvil puede ser gaseosa o líquida o un fluido supercrítico. La separación puede basarse en adsorción, distribución de masa (partición) o intercambio iónico; o puede basarse en diferencias entre las propiedades fisicoquímicas de las moléculas, tales como tamaño, masa o volumen.

3.3 Generalidades de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia ⁽¹⁾

La Cromatografía líquida de alta eficiencia o High performance liquid chromatography (HPLC), es una técnica utilizada para separar componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica la cual es su fase estacionaria. La utilización de esta técnica tiene la ventaja que las separaciones pueden tener lugar a temperatura ambiente para muchas sustancias. Por lo tanto, las sustancias no volátiles o térmicamente inestables pueden separarse sin descomposición o necesidad de hacer derivados volátiles. La afinidad de una sustancia por la fase estacionaria y, por consiguiente, su tiempo de retención en la columna, se controla variando la polaridad de la fase móvil mediante el agregado de un segundo y, a veces, un tercer o hasta un cuarto componente.

3.3.1 Aparato ⁽¹⁾

Un cromatógrafo de líquidos consta de un recipiente que contiene 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 cromatográfica, un detector y un dispositivo de recolección de datos que puede ser una computadora por ejemplo; Las computadoras se utilizan para controlar operaciones y parámetros cromatográficos, estas permiten periodos largos de

operación sin necesidad de supervisión. (Ver Anexo N°1). A continuación, se presentan las partes del equipo y sus características:

Reservorio: Recipiente o frasco de vidrio transparente o color ámbar, donde se colocan las fases móviles, solución de lavado, y sustancias como Metanol, Acetonitrilo y Agua, todos de calidad HPLC y sustancias de alta pureza. (Ver Anexo N°1).

Sistema de bombeo: Este impulsa cantidades exactas de fase móvil desde el Reservorio de fase móvil a la columna mediante tuberías y uniones aptas para soportar altas presiones. Los sistemas modernos constan de una o varias bombas dosificadoras, controladas por computadora, que pueden programarse para variar la composición de la fase móvil cuando se trabaja con gradiente o para mezclar los componentes de la fase móvil cuando se trabaja en condiciones isocráticas. Generalmente se trabaja con gradiente cuando la muestra es muy compleja o contiene sustancias que difieren mucho en su factor de capacidad. Las bombas pueden dar origen a caudales de hasta 10 ml por minuto y generar presiones de hasta 6.000 psi. Sin embargo, los caudales típicos son de 1 a 2 ml por minuto, con presiones no mayores a 2.000 o 2.500 psi. Las bombas empleadas para el análisis cuantitativo son de material resistente tanto al ataque químico como al ataque mecánico y son capaces de entregar la fase móvil a una velocidad constante, con fluctuaciones mínimas, durante períodos prolongados.

Sistema de inyección: Se emplea para introducir la muestra.

Columna: En la columna se produce la separación efectiva de los componentes de la muestra inyectada. Las fases estacionarias para la cromatografía de líquidos en fase reversa constan de una fase orgánica químicamente unida a sílice u otros materiales. Las partículas son generalmente de 3 a 10 μ m de diámetro, pero los tamaños pueden llegar hasta 50 μ m o más para las columnas preparativas. Las partículas recubiertas con una capa delgada de fase orgánica tienen una baja resistencia a la transferencia de masa y, por lo tanto, se obtiene

una transferencia rápida de las sustancias entre la fase estacionaria y la fase móvil. La polaridad de la fase estacionaria depende de la polaridad de sus grupos funcionales que van desde el octadecilsilano relativamente no polar a grupos nitrilo muy polares. Por lo general, las columnas empleadas para las separaciones analíticas tienen diámetros internos de 2 a 5 mm; para la cromatografía preparativa se emplean columnas de diámetro mayor. En algunos casos las columnas pueden calentarse para mejorarla eficiencia durante la separación, pero rara vez se las emplea 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. Las columnas se emplean a temperatura ambiente, a menos que se especifique de otro modo en la monografía correspondiente. (Ver Anexo N°1).

Un detector: Se emplean generalmente un detector espectrofotométrico que consta de una celda de flujo colocada a la salida de la columna. Un haz de radiación ultravioleta pasa a través de la celda de flujo en forma perpendicular a la dirección del flujo de la fase móvil e incide en el fotodetector. A medida que las sustancias eluyen 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. Este detector es el más empleado. Existen detectores de longitud de onda fija, variable y múltiple. Los detectores de longitud de onda fija operan a una sola longitud de onda, en general 254 nm, emitida por una lámpara de mercurio de baja presión. Los detectores de longitud de onda variable contienen una fuente continua, como una lámpara de deuterio o de xenón de alta presión y un monocromador o un filtro de interferencia que generan una radiación monocromática a una longitud de onda seleccionada por el analista. Los detectores de longitud de onda variable pueden programarse para variar la longitud de onda durante el análisis. Los detectores de longitud de onda múltiple miden la absorbancia a dos o más longitudes de onda simultáneamente. Detectores por arreglo de diodos: el haz de luz continua atraviesa la celda. Luego la radiación es resuelta en sus longitudes de onda constitutivas que son detectadas individualmente mediante el arreglo de

diodos. Estos detectores adquieren los datos de absorbancia sobre el intervalo total UV-visible y, por lo tanto, proveen al analista varias longitudes de onda seleccionadas y espectros de los picos eluidos. Los arreglos de diodos tienen, por lo general, menos relación señal-ruido que los detectores de longitud de onda fija o variable y, por lo tanto, son menos apropiados para el análisis de sustancias presentes en bajas concentraciones.

Un registrador: Recibe la información del detector y realiza la impresión del cromatograma. Los dispositivos modernos almacenan la señal de salida del detector permitiendo reprocesar el cromatograma luego de cambiar las variables de integración. También pueden emplearse para programar el cromatógrafo controlando la mayoría de las variables y automatizando el proceso.

Rack: Dispositivo del equipo donde se colocan de manera ordenada los viales para que el automuestreador del equipo pueda tomarlo y realizar la inyección en el equipo. (Ver Anexo N°1).

Vial: Son los recipientes donde se colocan las muestras ya preparadas y filtradas para ser analizadas por el equipo. (Ver Anexo N°1).

Septum: Son membranas que se le colocan a cada vial cuando las muestras ya están preparadas y filtradas para ser analizadas por el equipo.

Filtros de jeringa: Se utilizan para eliminar sustancias precipitadas o insolubles en las preparaciones del estándar y de la muestra a fin de proteger el sistema de flujo del cromatógrafo y evitar resultados falsos positivos.

3.3.2 Procedimiento ⁽¹⁾

La composición de la fase móvil influye significativamente en la resolución de las sustancias en la muestra. Se deben emplear solventes de grado HPLC y reactivos de alta pureza. Se debe equilibrar la columna con la fase móvil y preparar las soluciones estándar y muestra según se especifique en la

monografía correspondiente. Las soluciones deben ser filtradas, y en el sistema cromatográfico se deben de adecuar según se especifica en la monografía correspondiente. Inyectar por separado las soluciones estándar y muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos según se especifique en la monografía correspondiente. A partir de los valores obtenidos calcular el contenido de la o las sustancias a ensayar. Los métodos generalmente empleados son los de estándar externo y estándar interno. En general se obtienen resultados confiables por los sistemas de estándar externo, especialmente cuando se emplean inyectores automáticos. Este método compara directamente la respuesta obtenida cromatografiando separadamente soluciones estándar y muestra. En otros casos se obtienen mejores resultados empleando el sistema de estándar interno. En este caso se agrega una cantidad conocida de una sustancia no interferente, el estándar interno, a las soluciones muestra y estándar. Luego se compara la relación de respuesta estándar/estándar interno y muestra/estándar interno. Se presenta a continuación los componentes en general, de la técnica de HPLC. (Ver Figura N°2).

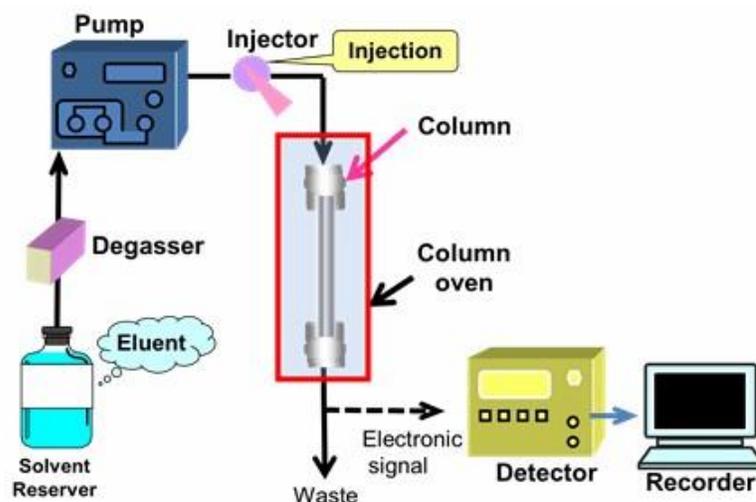


Figura N°2. Diagrama que muestra los componentes de un HPLC

3.4 Método Analítico ^(4,15)

Los métodos involucran técnicas analíticas que son fundamentales para el desarrollo de fármacos. Sin ellas, no se puede evaluar la calidad de los materiales o el producto final.

Los métodos analíticos deben de desarrollarse antes de la etapa de producción del producto, pueden mejorarse y optimizarse a medida que avanza el estudio. Estos deben ser validados de acuerdo con los requisitos reglamentarios antes de su uso.

3.4.1 Clasificación de los métodos ⁽¹⁵⁾

- **Método Normalizado**

Se trata de un método de ensayo normalizado, que se aplica exactamente como está descrito en referencias reconocidas internacionalmente. Ejemplos de referencias reconocidas: USP, FEUM, EP, BP, JP, IP, AOAC, Standard Methods, EPA, PAM, CIPAC, ASTM, ASHTO, ISO, Codex Alimentarius, FDA, FAO, CE, USDA, otras referencias serán evaluadas.

- **Método Normalizado modificado**

Se trata de una modificación a un método de ensayo normalizado. Ejemplos: un método de extracción diferente o la aplicación del método en una matriz diferente a la indicada, aplicación del método en rangos distintos trabajos.

- **Método no normalizado**

Se trata de un método de ensayo que no se encuentra en referencias reconocidas internacionalmente.

3.5 Procedimientos analíticos que son objeto de validación ⁽⁴⁾

Se deben validar los siguientes procedimientos analíticos químicos, físicos y microbiológicos:

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 fisicoquímicas 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. La validez de un método analítico puede comprobarse sólo mediante estudios de laboratorio. En consecuencia, la documentación que avale tales estudios es un requisito básico para determinar si un método es apropiado para una aplicación determinada. Cualquier método analítico propuesto debe estar acompañado de la documentación necesaria.

Tabla N°1. Parámetros de desempeño de los procedimientos analíticos
Físico - Químicos y potencia microbiológica

Categoría de prueba Parámetro de desempeño	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
	Principio(s) Activo(s)	Prueba de límite cuantitativa	Prueba de 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.

3.6 Validación ⁽¹⁾

La validación es el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos.

Las características de desempeño analítico habituales que deben considerarse en la validación son:

3.6.1 Exactitud ⁽¹⁾

La exactitud de un procedimiento analítico expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero o un valor de referencia y el valor experimental encontrado.

3.6.2 Precisión ⁽¹⁾

La precisión de un procedimiento analítico es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento repetitivamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. La precisión de un procedimiento analítico habitualmente se expresa como la desviación estándar relativa (Coeficiente de variación) de una serie de mediciones. La precisión puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del procedimiento analítico en condiciones normales de operación.

3.6.3 Especificidad ⁽⁴⁾

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 las 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.

3.6.4 Linealidad del Sistema ⁽⁴⁾

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) y 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%.

3.6.5 Linealidad del método y Rango ⁽¹⁾

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.

La cantidad de matriz analítico es equivalente a una muestra analítica por triplicado, al 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 el matriz adicionado al menos por triplicado a cada nivel, manteniendo constante la cantidad de matriz analítico en los tres niveles. Los matriz adicionados deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones, utilizando como referencia, la sustancia empleada en la adición al matriz analítico. Como lo indica el método, preparar 3 soluciones estándar al 100% de la concentración teórica. Realizar una determinación de cada matriz adicionado, de acuerdo con la siguiente secuencia:

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

3.6.6 Linealidad e Intervalo ⁽¹⁾

La linealidad debe de establecerse en el intervalo completo del procedimiento analítico. Debería establecerse inicialmente mediante examen visual de un gráfico de señales en función de la concentración de analito del contenido. Si parece existir una relación lineal, los resultados de la prueba deberían establecerse mediante métodos estadísticos adecuados. Los datos obtenidos a partir de la línea de regresión pueden ser útiles para proporcionar estimaciones matemáticas del grado de linealidad. Se deberían presentar el coeficiente de

correlación, la intersección con el eje de ordenadas, la pendiente de la línea de regresión y la suma de los cuadros residuales.

El intervalo del procedimiento se valida verificando que el procedimiento analítico proporciona precisión, exactitud y linealidad aceptables cuando se aplica a muestras que contienen el analito en los extremos del intervalo, al igual que dentro del intervalo. El Consejo Internacional de armonización de los requisitos técnicos para el registro de medicamentos de uso humano (ICH) recomienda que, para establecer la linealidad, se utilicen normalmente un mínimo de cinco concentraciones. También recomienda que se consideren los intervalos especificados mínimos que se indican a continuación:

- Valoración de un fármaco (o de un producto terminado): De 80% a 120% de la concentración de prueba.
- Determinación de una impureza: De 50% a 120% del criterio de aceptación.
- Para uniformidad de contenido: Un mínimo de 70% a 130% de la concentración de prueba, a no ser que se justifique un intervalo más amplio o más apropiado, basándose en la naturaleza de la forma farmacéutica.
- Para pruebas de Disolución: $\pm 20\%$ por encima del intervalo especificado. (por ejemplo: si los criterios de aceptación de un producto de liberación controlada cubren una región de 30%, después de 1 hora, y hasta 90%, después de 24 horas, el intervalo validado sería 10% a 110% de la cantidad declarada).
- La definición tradicional de linealidad, es decir el establecimiento de una relación lineal o matemática entre la concentración de la muestra y la respuesta, no es aplicable al análisis del tamaño de partícula. Para el análisis de tamaño de partícula, se define un intervalo de concentración (que depende del instrumento y el tamaño de partícula. Para el análisis de

tamaño de partícula, se define un intervalo de concentración (que depende del instrumento y el tamaño de partícula) tal que la distribución de tamaño de partícula medida no se vea afectada por cambios en la concentración dentro del intervalo de concentración definido. Las concentraciones por debajo del intervalo de concentración definido pueden introducir un error debido a una pobre relación señal ruido, mientras que las concentraciones que exceden el intervalo de concentración definido pueden introducir un error debido a dispersiones múltiples.

3.6.7 Robustez (1, 8,15)

La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad para no ser afectado por variaciones pequeñas, aunque deliberadas, en los parámetros del procedimiento indicados en la documentación, y provee una indicación de su aptitud durante condiciones normales de uso. La robustez puede determinarse durante la etapa de desarrollo del procedimiento analítico.

3.7 Documentación de la Validación de un Método (1,12)

Toda validación comienza a partir de un método ya aprobado, la validación trata de demostrar con un número mínimo de ensayos que tanto el método como su sistema analítico producirán resultados adecuados a las exigencias preestablecidas dicha demostración debe ir acompañada de documentación que sustente las actividades realizadas, se debe de preparar por el analista/operador/técnico y posteriormente revisado y aprobado por personal calificado. Los elementos de las actividades de validación deben de estar planificadas, y definidas con claridad en los siguientes documentos: Protocolo, Reporte y Certificado.

3.7.1 Protocolo de validación

Se elabora un protocolo por escrito en el que se especifica el método de validación además recolecta el objetivo principal del estudio, la definición del sistema a validar, identificación de parámetros, el diseño experimental y criterios de aceptación. Debe de ser específico para cada producto y método.

Los criterios para una validación del método del ensayo son:

- Título, objetivos
- Definición de la aplicación, propósito y alcance del método
- Responsabilidades
- Definir los parámetros de desempeño y criterios de aceptación
- Definir los experimentos de validación
- Verificar las características pertenecientes a los equipos, cualificar materiales
- Ajustar los parámetros del método y criterios de aceptación.
- Formato de registro de resultados.

3.7.2 Informe de validación

Se realiza un informe el cual resumirá los resultados obtenidos, comentará desviaciones observadas, y extraerá las conclusiones pertinentes incluyendo recomendaciones sobre cambios necesarios para corregir las deficiencias. El informe debe de incluir la siguiente información:

- Título
- Datos obtenidos en la validación
- Análisis de resultados
- Confrontación contra los criterios de aceptación
- Observaciones, conclusiones, dictamen.
- Anexos

3.7.3 Certificado

Una vez llevada a cabo la validación satisfactoria, se efectuará una aprobación formal, el laboratorio lo emite con los resultados obtenidos para cada parámetro, se firma por las personas responsables, y las partes que contiene son:

- Resumen del protocolo de validación
- Responsables
- Resumen de los resultados obtenidos
- Conclusiones
- Dictamen

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de Estudio:

Experimental: Se realizaron pruebas experimentales en el laboratorio de Control de Calidad ubicado en el municipio de Antiguo Cuscatlán del departamento de la Libertad, El Salvador.

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

Exploratorio: Esta investigación pretende resolver una necesidad existente en el presente como lo es validar un método de análisis para cuantificar los principios activos de manera simultánea, siendo un método que no ha sido implementado debido a que no se ha demostrado la validez requerida.

Prospectivo: Los datos obtenidos en dicho estudio servirán como punto de partida para los analistas del laboratorio de control de calidad que realicen modificaciones en el método, lo cual conllevará a la revalidación del método.

Descriptivo: Se detalló de manera específica el desarrollo de todo el proceso de la validación de un método analítico por cromatografía líquida de alta eficiencia.

4.2 Investigación Bibliográfica

Se realizó en las siguientes bibliotecas:

- "Dr. Benjamín Orozco" Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador (UES).
- Universidad Alberto Masferrer (USAM).
- Internet.

4.3 Ámbito de aplicación

Metodología Analítica de Cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl.

Muestra: El muestreo se realizó en el área de investigación y desarrollo de Laboratorio Farmacéutico que se encuentra en las condiciones de 20 ± 2 °C de temperatura y $65 \pm 5\%$ de humedad relativa. El número de muestras se determinó por lo establecido por el RTCA de Productos Farmacéuticos. Medicamentos de Uso Humano. Verificación de la Calidad 11.03.47:07.

Datos de la muestra:

Nombre: Dexketoprofeno 25.0 mg (como Dexketoprofeno trometamol 36.9 mg)
+ Tramadol HCl 75.0 mg Tabletas Recubiertas.

Lote: 19038A2

Vence: 07/2022

Universo: 5,000 tabletas

Muestra: 120 tabletas

4.4 Parte Experimental

Para la validación del método analítico que cuantifica los principios activos de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas, se elaboró un protocolo (Ver Anexo N°3), en él se detalla los objetivos, el ámbito de aplicación, los responsables y funciones, la información general y farmacológica de cada uno de los principios activos, la cristalería, reactivos y equipo utilizado, además se estableció la descripción del desarrollo de cada parámetro utilizado en el proceso de la validación, las fórmulas respectivas para el análisis de los resultados. Se incluye además un resumen de los parámetros de validación y finalmente la bibliografía utilizada para su redacción.

La validación del método analítico para cuantificar Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenido en tabletas recubiertas se llevó a cabo utilizando el equipo de

cromatografía líquida de alta eficiencia marca SHIMADZU modelo LC-2030, con sus especificaciones siguientes: Columna: L1 C18 125 x 4 mm (5 μ m), temperatura columna: 40°C, flujo: 2.0 mL/min, longitud de onda: 270 nm, volumen de inyección: 20 μ L, diluyente: Fase móvil, además se ocuparon balanzas analíticas calibradas, pipetas y balones volumétricos calibrados y certificados, reactivos calidad HPLC.

Finalizada la validación se elaboró un informe (Ver Anexo N°4), este contiene los resultados obtenidos para cada una de las pruebas desarrolladas, además se encuentran los criterios de aceptación y los respectivos dictámenes para cada parámetro evaluado, posee las conclusiones y recomendaciones. Para el informe se emitió un dictamen final del desarrollo de la validación.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

En este capítulo se describe el desarrollo, resultados y análisis de cada parámetro de desempeño estudiado en la validación de la metodología analítica para cuantificar Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficiencia.

5.1 Elaboración de Protocolo para la validación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl por cromatografía líquida de alta eficiencia.

Se elaboró un protocolo de validación, que incluye un encabezado en todas las páginas, posee el nombre del documento, el código del documento, el código de validación, la edición, el periodo de vigencia y número correlativo de página. La portada contiene el nombre y firma de quien lo realizo, reviso y autorizo.

Posteriormente contiene el objetivo, ámbito de aplicación, los responsables y funciones, además incluye, la justificación de la validación, medidas de seguridad, las calificaciones y calibraciones de los quipos utilizados, reactivos, cristalería y especificaciones de los principios activos.

Establece los parámetros de validación a determinar, el procedimiento, cálculos y especificaciones requeridas en cada uno de ellos, además incluye un resumen de los parámetros de validación y finalmente la bibliografía utilizada para su redacción.

A continuación, se presenta el protocolo de validación del método analítico que cuantifica el Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol) y Tramadol HCl en Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75 mg, en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 1 de 34

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 para cuantificar **Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl en Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas** es la idónea para cuantificar e identificar el principio activo frente a los demás componentes de la fórmula.

2.0 ÁMBITO DE APLICACIÓN:

La validación es un medio o una base de datos que demuestran científicamente que el método analítico para determinar **Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl en Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas** tiene las características que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las pruebas especificadas.

3.0 RESPONSABLES Y FUNCIONES:

Coordinador de Validación de Métodos y Analistas Físicoquímicos: son las personas encargadas de realizar las pruebas establecidas en este protocolo.

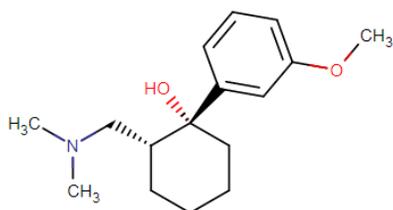
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 49 de 34

Jefe de Control de Calidad: es el 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

Tramadol HCl



HCl

CAS: 36282-47-0

Fórmula Química: $C_{16}H_{25}NO_2 \cdot HCl$

Masa Molecular: 299.84 g/mol

Figura N°1: Estructura de molécula de Tramadol HCl.

El tramadol es un analgésico opioide sintético de acción central y un IRSN (inhibidor de la recaptación de serotonina / noradrenalina) que está estructuralmente relacionado con la codeína y la morfina.

El tramadol se diferencia de otros medicamentos opioides tradicionales en que no solo actúa como un agonista opioide μ , sino que también afecta a las monoaminas al modular los efectos de los neurotransmisores involucrados en la modulación del dolor, como la serotonina y la norepinefrina, que activan las vías inhibitorias del dolor descendente. Los efectos del tramadol sobre la serotonina y la noradrenalina imitan los efectos de otros antidepresivos SNRI como la duloxetina y la venlafaxina. El tramadol existe como una mezcla racémica que

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 3 de 34

consta de dos enantiómeros farmacológicamente activos que contribuyen a su propiedad analgésica a través de diferentes mecanismos y también se metabolizan en metabolitos activos: (+) - tramadol y su metabolito primario (+) - O-desmetil-tramadol (M1) son agonistas del receptor opioide μ mientras que (+) - tramadol inhibe la recaptación de serotonina y (-) - tramadol inhibe la recaptación de noradrenalina. Estas vías son complementarias y sinérgicas, mejorando la capacidad del tramadol para modular la percepción y la respuesta al dolor. También se ha demostrado que el tramadol afecta a varios otros moduladores del dolor dentro del sistema nervioso central, así como a marcadores inflamatorios no neuronales y mediadores inmunes. Debido al amplio espectro de objetivos involucrados en el dolor y la inflamación, no es sorprendente que la evidencia haya demostrado que el tramadol es efectivo para varios tipos de dolor, incluido el dolor neuropático, el dolor postoperatorio, la disminución dolor de espalda, así como dolor asociado con el trabajo de parto, osteoartritis, fibromialgia y cáncer. Debido a su actividad de IRSN, el tramadol también tiene efectos ansiolíticos, antidepresivos y anti-temblores, que con frecuencia se encuentran como comorbilidades del dolor.

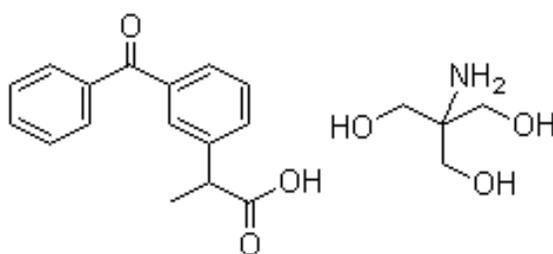
Al igual que otros medicamentos opioides, el tramadol presenta un riesgo de desarrollar tolerancia, dependencia y abuso. Si se usa en dosis más altas, o con otros opioides, existe un riesgo relacionado con la dosis de sobredosis, depresión respiratoria y muerte. Sin embargo, a diferencia de otros medicamentos opioides, el uso de tramadol también conlleva un riesgo de convulsiones y síndrome de serotonina, particularmente si se usa con otros medicamentos serotoninérgicos.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 4 de 34

El mecanismo principal de acción

Tramadol es una mezcla racémica (R & S) que tiene un mecanismo de acción complicado. Tiene cierta acción del receptor opioide μ , pero este efecto es 10 veces menor que la codeína y 6000 veces menor que la morfina. El tramadol también inhibe la recaptación de norepinefrina (NE) y serotonina (5 HT) y produce efectos secundarios sobre los receptores adrenérgicos alfa-2 en las vías del dolor. Un isómero tiene un mayor efecto sobre la recaptación de 5 HT y una mayor afinidad por los receptores de opiáceos μ . El otro isómero es más potente para la recaptación de NE y menos activo para inhibir la recaptación de 5 HT. Tomados en conjunto, los efectos del tramadol puede explicarse mediante la inhibición de la recaptación de 5 HT, la acción sobre los receptores alfa2 y la actividad leve sobre los receptores μ opiáceos.

Dexketoprofeno Trometamol



CAS: 156604-79-4

Fórmula Química: $C_{20}H_{25}NO_6$

Masa Molecular: 375,4 g / mol

Figura N°2: Estructura del Dexketoprofeno Trometamol

Dexketoprofeno Trometamol es un analgésico perteneciente al grupo de medicamentos denominados antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Se utiliza

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 5 de 34

para tratar el dolor de intensidad leve o moderada, tal como dolor de tipo muscular o de las articulaciones, dolor menstrual (dismenorrea), dolor dental.

Mecanismo principal de acción

El Dexketoprofeno Trometamol es la sal de Trometamina del ácido S-(+)-2-(3-benzoilfenil) propiónico, un fármaco analgésico, antiinflamatorio y antipirético perteneciente a la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (M01AE).

El mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos se relaciona con la disminución de la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de la vía de la ciclooxigenasa.

Concretamente, hay una inhibición de la transformación del ácido araquidónico en endoperóxidos cíclicos, las PGG₂ y PGH₂, que dan lugar a las prostaglandinas PGE₁, PGE₂, PGF₂ α y PGD₂, así como a la prostaciclina PGI₂ y a los tromboxanos (TxA₂ y TxB₂). Además, la inhibición de la síntesis de prostaglandinas podría tener efecto sobre otros mediadores de la inflamación como las quininas, ejerciendo una acción indirecta que se sumaría a su acción directa. Se ha demostrado en animales de experimentación y en humanos que el Dexketoprofeno es un inhibidor de las actividades COX-1 y COX-2.

Estudios clínicos realizados sobre diversos modelos de dolor, demostraron actividad analgésica efectiva del Dexketoprofeno Trometamol. El inicio del efecto se obtuvo en algunos estudios a los 30 minutos postadministración. El efecto analgésico persiste de 4 a 6 horas.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 6 de 34

Resumen de las características físicas de la entidad a evaluar:

Tramadol HCl: Polvo cristalino blanco. Fácilmente soluble en agua y en metanol; muy poco soluble en acetona.

Dexketoprofeno Trometamol: Polvo cristalino de color blanco. Soluble en agua, alcohol, acetona, insoluble en cloroformo.

Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas:

Tableta circular plana de 9 mm, recubierta de color blanco, núcleo de color blanco, con ranura y logo L/S en uno de sus lados. Lote 19038A2, Vence 07/2022.

4.2 JUSTIFICACIÓN:

Se realizará 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.

Se realizará una validación prospectiva del método de análisis de **Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas**, ya que es producto nuevo del Laboratorio Farmacéutico y para cumplir con los requerimientos establecidos en RTCA 11.03.42.07 de Buenas Prácticas de Manufactura de la industria farmacéutica.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 7 de 34

4.3 MEDIDAS DE SEGURIDAD:

- **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 mascara de gases. Manipular en área bien ventilada bajo cámara extractora de gases.
- **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.
- **Ácido perclórico:** Inflamable y corrosivo. Puede provocar quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Usar equipo de protección adecuado: gabacha, guantes, gafas protectoras y mascara de gases.
- **Amoniaco 25%:** Corrosivo e irritante, puede provocar quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede irritar las vías respiratorias. Muy tóxico para los organismos acuáticos. Usar equipo de protección adecuado: gabacha, guantes, gafas protectoras y mascara de gases.
- **Ácido acético glacial:** Corrosivo e inflamable, puede provocar quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede irritar las vías respiratorias. Muy tóxico para los organismos acuáticos. Usar equipo de protección adecuado: gabacha, guantes, gafas protectoras y mascara de gases.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 8 de 34

4.4 CALIFICACIONES:

Nombre del equipo	Marca	Código	Calificación	Informe
Balanza analítica	METTLER TOLEDO	EQCC-007	13/08/19 – 24/08/19	ICA-CC-0055
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	31/08/17 – 04/09/20	ICA-CC-0055
Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución	SHIMADZU	EQCC-047	17-18/02/2020	ICA-CC-0055

4.5 CALIBRACIONES:

Nombre del equipo	Marca	Código	Calibración	Informe
Balanza analítica	METTLER TOLEDO	EQCC-007	18/12/20	FA19121801
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053	18/12/20	FA19121910
Bomba de vacío	WELCH	EQCC-084	06/01/21	PRE06200106CE
pH-metro	BANTE	EQCC-043	12/01/21	QUI02191212CE

4.6 ESPECIFICACIÓN:

NOMBRE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletadas Recubiertas	No menos de 90.0% y no más de 110.0% de Tramadol HCl
	No menos de 90.0% y no más de 110.0% de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol)

4.7 MÉTODO DE ANÁLISIS A VALIDAR:

Para la identificación y cuantificación de **Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol)** y **Tramadol HCl** se utiliza el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), a una longitud de onda de 270 nm.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 9 de 34

4.8 PRINCIPIO ACTIVO Y CONCENTRACIÓN:

Cada tableta recubierta contiene:

Tramadol HCl.....	75.00 mg
Dexketoprofeno.....	25.00 mg
(Equivalente a 36.90 mg de Dexketoprofeno Trometamol).	

4.9 EQUIPOS:

Nombre del equipo	Marca	Código
Balanza analítica	METTLER TOLEDO	EQCC-007
Balanza CS series	OHAUS	EQCC-053
Cromatógrafo líquido de alta resolución	SHIMADZU	EQCC-047
pH-metro	BANTE	EQCC-043

4.10 CRISTALERÍA Y MATERIALES:

- Balón volumétrico 25, 50, 100, 1000 mL
- Pipeta volumétrica de 1, 3, 5, 15, 25 mL
- Beaker de 250, 500, 1000 mL
- Columna L1 RP-18
- Filtro de membrana de 0.45 mcm
- Jeringa estéril
- Probeta de 500 mL
- Papel filtro
- Septum
- Viales HPLC

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 10 de 34

Tipo de Columna	Marca	Código
Columna L1 RP-18 125 x 4 mm	Merck	Solvente: HX425563 Columna: 433180

4.11 REACTIVOS:

- Agua
- Ácido fosfórico
- Ácido acético glacial
- Ácido perclórico
- Amoniacó
- Acetonitrilo

4.12 MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL

Especificaciones cromatográficas (HPLC)

Columna: **L1**

Velocidad del Flujo: **2.0 mL/minuto**

Volumen de Inyección: **20 µL**

Longitud de onda: **270 nm**

Temperatura: **40 °C**

Diluyente: Fase Móvil

Nota: preparar Solución A con agua purificada.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 11 de 34

Preparación de Solución A:

1. Adicionar con pipeta 5.0 mL de Ácido perclórico a 650 mL de Agua HPLC en un balón de 1000 mL.
2. Adicionar con pipeta 4 mL de Amoniacó 25%.
3. Aforar con Agua HPLC.
4. Llevar a pH 3.0 ± 0.2 con Ácido fosfórico.
5. Homogenizar.

Preparación de Fase Móvil:

1. Preparar una mezcla de Solución A, Acetonitrilo y Ácido acético (59:40:1).
2. Llevar a pH 3.0 ± 0.2 con Ácido fosfórico.
3. Pasar a través de un filtro de membrana de 0.45 micras o de menor tamaño de poro y desgasificar.

Preparación de Solución Estándar:

1. Pesar exactamente 14.76 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno) y 30.0 mg de Tramadol HCl.
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.

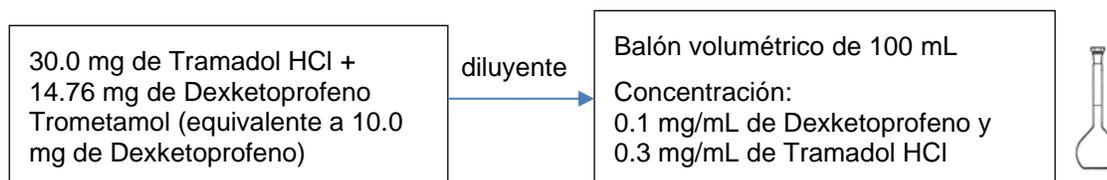
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 12 de 34

Preparación de solución muestra:

1. Pesar individualmente 20 tabletas de Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas 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 Dexketoprofeno y 30 mg de Tramadol HCl.
4. Transferir a un balón volumétrico de 100 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.

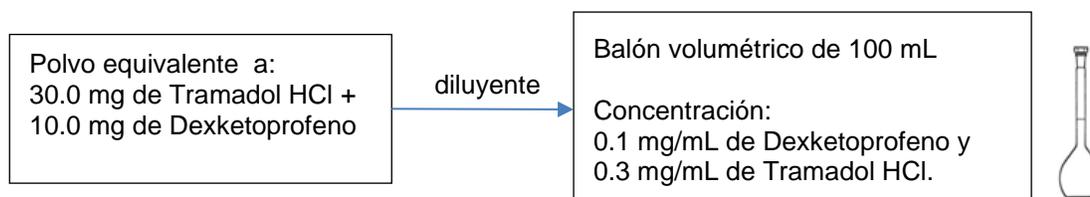
CASCADA DE DILUCIÓN DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN:

Cascada de Dilución de Estándar:



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

Cascada de Dilución de la Muestra:



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 13 de 34

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

Nota: Realizar por duplicado tanto el estándar como la muestra.

PROCEDIMIENTO:

- 1- Inyectar por separado volúmenes iguales (20µL) de la preparación del estándar y la preparación de la muestra
- 2- Registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos principales
- 3- Calcular las cantidades en mg de cada principio activo

CÁLCULOS:

Calcular la concentración del estándar:

$$Cst = \frac{(Pst) \frac{Potencia}{100}}{FD}$$

Donde:

Cst: Concentración del estándar

Pst: Peso del estándar

Potencia: Pureza del estándar

FD: Factor de Dilución del estándar

Calcular la concentración de la muestra:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 14 de 34

$$C_{mx} = \frac{(A_{mx})(C_{st})(FD)(P_{prom})}{(A_{st})(P_{mx})}$$

Donde:

C_{mx}: Concentración de la muestra

A_{mx}: Área de la muestra

C_{st}: Concentración del estándar

FD: Factor de Dilución de la muestra

A_{st}: Área del estándar

P_{prom}: Peso promedio de 20 tabletas

P_{mx}: Peso de la muestra

5.0 PARÁMETROS A EVALUAR:

La validación del método analítico busca la confianza de los valores obtenidos por el método son aceptables y seguros. La validación se efectuará 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)	-----

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 15 de 34

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación
Robustez	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	-----
	Coeficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$
Linealidad del sistema	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98
Linealidad del sistema	Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	$\leq 3\%$
	Pendiente (b)	$\neq 0$
	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	
	Prueba de Cochran	$G_{exp} - G_{tab}$
	Prueba t de Student	$t_{exp} - t_{tab}$
	Porcentaje de recobro	98 – 102%
	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	$\neq 0$
	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	-----
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 16 de 34

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación
Repetibilidad	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coefficiente de variación	≤2%
Precisión intermedia	Promedio	-----
	Coefficiente de variación	≤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

➤ Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas

Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
REFCDC001	TRAMADOL HCL	24.16	g
REFCDC002	DEXKETOPROFENO TROMETAMOL	11.9	g
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA CANTIDADES PARA 100 g			

7.0 PROCEDIMIENTO:

De acuerdo a lo establecido en el literal 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:

- Velocidad del flujo:** puede ajustarse hasta en un $\pm 1\%$.
- Volumen de inyección:** $\pm 2\%$.
- Temperatura de la columna:** la temperatura es ajustable hasta en un $\pm 2^\circ\text{C}$.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 17 de 34

Preparación del estándar: por duplicado

Pesar exactamente 14.76 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno) y 30.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl.**

Preparación de muestras: Producto terminado.

Pesar individualmente 20 tabletas recubiertas de Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletadas Recubiertas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas recubiertas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno y 30.0 mg de Tramadol HCl. Transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl**

Cambios deliberados del método:

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

- Condición uno, normal: 20 μ L, 2.0 mL/min y 40 °C.
- Condición dos, volumen de inyección aumentado: 21 μ L, 2.0 mL/min y 40°C.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 18 de 34

- c) Condición tres, volumen de inyección disminuido: 19 μ L, 2.0 mL/min y 40°C.
- d) Condición cuatro, flujo aumentado: 20 μ L, 2.02 mL/min y 40 °C.
- e) Condición cinco, flujo disminuido: 20 μ L, 1.98 mL/min y 40 °C.
- f) Condición seis, temperatura aumentada: 20 μ L, 2.0 mL/min y 42 °C.
- g) Condición siete, temperatura disminuida: 20 μ L, 2.0 mL/min y 38 °C.

Reportar:

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

7.2 ESTABILIDAD

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

- a) Inicial.
- b) En refrigeración 24 horas (10°C).
- c) A temperatura ambiente 24 horas (22°C).

Preparación del estándar: preparar por duplicado

Pesar exactamente el equivalente a 14.76 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno) y 30.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 19 de 34

diluyente y homogenizar la solución. Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl.

Preparación de muestras: Producto terminado.

Pesar individualmente 20 tabletas recubiertas de **Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletadas Recubiertas** y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas recubiertas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno y 30.0 mg de Tramadol HCl. Transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl**

Procedimiento.

Realizar la lectura inicial de las muestras, fraccionar las muestras en diferentes viales y guardar en las condiciones respectivas. Inyectar por triplicado. Leer después de 24 horas y preparar estándares nuevos.

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.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 20 de 34

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

- Adición de 2 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 4 horas a 60°C.
- Adición de 2 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 4 horas a 60°C.
- Degradación térmica, calentar 4 horas a 60 °C.
- Exposición a luz UV, 1 hora.

Estándar: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl.

Muestras: Placebo y placebo adicionado con Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl.

Preparación de placebo:

Preparar 100 g de Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas sin adicionar el analito Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl.

Tratamiento de muestras:

Fraccionar el placebo y producto terminado para las condiciones:

- Sin tratamiento
- Adición de 2 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 2 horas a 60°C
- Adición de 2 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 2 horas a 60°C
- Degradación térmica, calentar 2 horas a 60 °C

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 21 de 34

e) Exposición a luz UV, 1 hora

Preparación del estándar: preparar dos estándares

Pesar exactamente el equivalente a 14.76 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno) y 30.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl**

Preparación de muestras: producto terminado

Pesar individualmente 20 tabletas recubiertas de Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletadas Recubiertas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas recubiertas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno y 30.0 mg de Tramadol HCl. Transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl.**

Inyectar por duplicado cada muestra y reportar el resultado.

Preparación de muestras: placebo

Pesar 89.9 mg de placebo (equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno y 30.0 mg de Tramadol HCl) y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 22 de 34

de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. Inyectar por duplicado cada muestra y reportar el resultado.

Reportar:

La respuesta es solamente debida al analito.

7.4 PRECISIÓN DEL SISTEMA

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

Estándar: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl.

Muestras: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl.

Preparación de Solución madre estándar: preparar por duplicado

Pesar exactamente 147.6 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 100.0 mg de Dexketoprofeno base) y 300.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración final: 1.0 mg/mL de Dexketoprofeno y 3.0 mg/mL de Tramadol HCl.**

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 23 de 34

Preparación de solución Estándar: preparar por duplicado

Tomar 10.0 mL de la solución madre estándar y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl.

Preparación de soluciones muestras: preparar por sextuplicado

Tomar 10.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 100.0 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 0.1 mg/mL Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl

Inyectar estándares de calibración seguidos de una inyección de cada muestra.

Reportar: Promedio, Desviación estándar, Coeficiente de variación.

Aptitud del sistema: Factor de asimetría, número de platos teóricos, resolución.

7.5 LINEALIDAD DEL SISTEMA

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

Para el **estándar de referencia** se prepararán por pesadas independientes de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl, en la siguiente serie de concentraciones de estándar por triplicado para 50%, 80%, 100%, 120% y 150%. Cada serie se analizará de menor a mayor concentración para evaluar arrastre de muestras.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 24 de 34

7.5.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)

Estándar: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl

Muestras: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl

Preparación de solución madre estándar

Preparar por triplicado

Pesar exactamente 147.6 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 100.0 mg de Dexketoprofeno base) y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 1.0 mg/mL de Dexketoprofeno

Preparación de solución estándar: 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 final: 0.1 mg/mL

Preparación de muestras:

Solución con estándar de trabajo al 50%: Preparar por triplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 25 de 34

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.05 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 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 final: 0.08 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 100%: Preparar por triplicado.

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 final: 0.10 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 120%: Preparar por triplicado.

Tomar 3.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 25 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.12 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 150%: Preparar por triplicado.

Tomar 15.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.15 mg/mL

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 26 de 34

Inyectar estándares de calibración seguidos de:

Estándar 50%, 80%, 100%, 120% y 150%, 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.

7.5.2 LINEALIDAD DEL SISTEMA DE TRAMADOL HCL

Estándar: Estándar de trabajo Tramadol HCl

Muestras: Estándar de trabajo Tramadol HCl

Preparación de solución madre Tramadol HCl: Preparar por triplicado

Pesar exactamente el equivalente a 300.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente.

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

Concentración final: 3.0 mg/mL

Preparación de estándar: 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.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 27 de 34

Concentración final: 0.3 mg/mL

Preparación de muestras:

Solución con estándar de trabajo al 50%: Preparar por triplicado.

Tomar 5.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.15 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 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 final: 0.24 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 100%: Preparar por triplicado.

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 final: 0.3 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 120%: Preparar por triplicado.

Tomar 3.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 25 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.36 mg/mL

Solución con estándar de trabajo al 150%: Preparar por triplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 28 de 34

Tomar 15.0 mL de la solución madre y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.45 mg/mL

Inyectar estándares de calibración seguidos de:

Soluciones Estándar 50%, 80%, 100%, 120% y 150%, 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.

7.6 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.

- 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.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 29 de 34

Estándar: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl

Muestras: Placebo + Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl

Preparación de solución estándar madre (Dexketoprofeno + Tramadol HCl)

Pesar exactamente 147.6 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 100.0 mg de Dexketoprofeno base) y 300.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución. **Concentración: 1.0 mg/mL de Dexketoprofeno y 3.0 mg de Tramadol HCl**

Preparación de Estándar: preparar dos estándares para cada serie

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: 0.1 mg/mL Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl

Preparación de muestras:

Para las muestras se prepararán por pesadas independientes de placebos correspondientes a los niveles de concentración: 80%, 100%, 120%

Solución de patrón adicionado a Placebo al 80%: Preparar por triplicado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 30 de 34

Pesar exactamente la cantidad de 36.0 mg de Placebo y transferir a un balón volumétrico de 50 mL. Adicionar 30 mL de Diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tomar 4.0 mL de la *solución estándar madre* (Dexketoprofeno + Tramadol HCl). Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.08 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.24 mg/mL de Tramadol HCl

Solución de patrón adicionado a Placebo al 100%: Preparar por triplicado.

Pesar exactamente la cantidad de 89.9 mg de Placebo y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de Diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tomar 10.0 mL de la *solución estándar madre* (Dexketoprofeno + Tramadol HCl). Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.10 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.30 mg/mL de Tramadol HCl

Solución de patrón adicionado a Placebo al 120%: Preparar por triplicado.

Pesar exactamente la cantidad de 27.0 mg de Placebo y transferir a un balón volumétrico de 25 mL. Adicionar 10 mL de Diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Tomar 3.0 mL de la *solución estándar madre* (Dexketoprofeno + Tramadol HCl). Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 31 de 34

Concentración final: 0.12 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.36 mg/mL de Tramadol HCl

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: Prueba de Cochran, Prueba t de Student, 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:

	Repetibilidad 1	Repetibilidad 2
Analista	Analista 1	Analista 2
Equipo	HPLC	HPLC
Día	1	2

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 32 de 34

Estándar: Estándar de Trabajo de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl

Muestras: Dexketoprofeno 25mg + Tramadol HCl 75mg Tabletas Recubiertas

Preparación de solución madre Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol) y Tramadol HCl: Pesar exactamente 147.6 mg de Dexketoprofeno Trometamol (equivalente a 100.0 mg de Dexketoprofeno base) y 300.0 mg de Tramadol HCl y transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración: 1.0 mg/mL de Dexketoprofeno y 3.0 mg/mL de Tramadol HCl.

Preparación de solución 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: 0.1 mg/mL Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl

Preparación de producto terminado: preparar por sextuplicado

Pesar individualmente 20 tabletas recubiertas de Dexketoprofeno 25.0 mg + Tramadol HCl 75.0 mg Tabletas Recubiertas y obtener el peso promedio. Triturar las 20 tabletas recubiertas con ayuda de mortero y pistilo. Pesar polvo triturado equivalente a 10.0 mg de Dexketoprofeno y 30.0 mg de Tramadol HCl.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 33 de 34

Transferir a un balón volumétrico de 100 mL. Adicionar 60 mL de diluyente. Sonicar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Llevar a volumen con diluyente y homogenizar la solución.

Concentración final: 0.1 mg/mL de Dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de Tramadol HCl

Inyectar estándares de calibración 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.

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

8.0 CONTROL DE CAMBIOS:

EDICIÓN MODIFICADA	DESCRIPCIÓN	No. DE EDICIÓN NUEVA	NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CAMBIO	FECHA DE MODIFICACIÓN
N/A	EDICIÓN INICIAL	00	Alejandro Morán	19-02-2022

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS				
VALIDACIÓN DE MÉTODO ANALÍTICO PARA VALORACIÓN DE DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL) Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA (HPLC)				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: 34 de 34

9.0 BIBLIOGRAFÍA:

- Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos. (2015). Trigésima octava revisión y Formulario Nacional trigésima tercera edición. Estados Unidos de América.
- Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaria de la salud (2011). Farmacopea de los Estados Unidos de América.
- ICH Harmonised Tripartite Guideline, (1994) Text on Validation of Analytical Procedures Q2A, United States of America.

10.0 ANEXOS:

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

5.2 Análisis de los resultados obtenidos en los parámetros de desempeño de la validación de la metodología analítica por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia, para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl.

5.2.1 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: $\pm 1 \%$.
- Temperatura de la columna: $\pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$

Tabla N°2. Resultados de la prueba de robustez de Tramadol HCl

		TRAMADOL HCl		
		PORCENTAJE SOBRE LO ROTULADO (%)		
Replica	Normal	19 uL	21uL	
1	97.14	96.96	97.04	
2	97.52	96.86	97.11	
3	97.23	97.26	97.13	
Promedio	97.30	97.03	97.10	
Replica	Normal	1.98 mL/min	2.02 mL/min	
1	97.14	96.27	98.06	
2	97.52	96.26	97.99	
3	97.23	96.29	98.05	
Promedio	97.30	96.27	98.04	
Replica	Normal	38 °C	42 °C	
1	97.14	97.28	96.91	
2	97.52	97.39	96.99	
3	97.23	97.31	96.95	
Promedio	97.30	97.33	96.95	

Tabla N°3. Resultados de la prueba de robustez de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol)

DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)			
PORCENTAJE SOBRE LO ROTULADO (%)			
Replica	Normal	19 uL	21uL
1	103.80	104.04	103.63
2	103.53	103.67	103.73
3	104.01	103.71	103.77
Promedio	103.78	103.81	103.71
Replica	Normal	1.98 mL/min	2.02 mL/min
1	103.80	103.20	104.97
2	103.53	103.33	104.73
3	104.01	103.20	104.79
Promedio	103.78	103.24	104.83
Replica	Normal	38 °C	42 °C
1	103.80	103.70	103.58
2	103.53	103.84	103.62
3	104.01	103.69	103.76
Promedio	103.78	103.74	103.65

En la Tabla N°2 y Tabla N°3, se presentan los resultados de la prueba de robustez para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia.

Los resultados para Tramadol HCl fueron, en el cambio de volumen de inyección 0.27% y 0.20%; en el flujo de fase móvil 1.03% y 0.74%; y para la temperatura de la columna 0.03% y 0.35%. Los resultados para Dexketoprofeno fueron, en el cambio de volumen de inyección 0.03% y 0.07%; en el flujo de fase móvil 0.54% y 1.07%; y para la temperatura de la columna 0.04% y 0.13%. (Ver Anexo N°5).

Los resultados obtenidos confirman que el método es robusto, ya que, las diferencias significativas entre la condición normal y las condiciones modificadas son menores al 2%.

En consecuencia, el método no se ve afectado por pequeñas variaciones en los parámetros establecidos, tal es el caso del cambio de volumen de inyección, flujo de la fase móvil y temperatura de la columna, es decir, que esta prueba proporcionó una indicación de fiabilidad del método durante su uso normal.

5.2.2 Estabilidad

Se analizó muestra de producto terminado por triplicado en las siguientes condiciones de almacenamiento:

- a) Inicial
- b) En refrigeración 24 horas a 5°C
- c) A temperatura ambiente 24 horas a 22°C

Tabla N°4. Resultados de la prueba de Estabilidad para Tramadol HCl.

	TRAMADOL HCL		
	PORCENTAJE SOBRE LO ROTULADO (%)		
Replica	Inicial	5 °C	22 °C
1	101.03	102.01	99.03
2	101.00	102.02	99.00
3	101.21	102.00	99.22
Promedio	101.08	102.01	99.09

Tabla N°5. Resultados de la prueba de Estabilidad para Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol)

	DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)		
	PORCENTAJE SOBRE LO ROTULADO (%)		
Replica	Inicial	5 °C	22 °C
1	101.28	100.32	99.57
2	101.36	100.49	99.56
3	101.61	100.35	99.68
Promedio	101.42	100.39	99.60

En la Tabla N°4 y Tabla N°5 se presentan los resultados de la prueba de Estabilidad para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tableta recubierta por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia. Los resultados fueron, para Tramadol HCl 0.4% y 0.6%, y para Dexketoprofeno trometamol 0.3% y 1.1%. (Ver Anexo N°5). Se demostró 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. Los resultados obtenidos confirman que el método cumple con el parámetro de Estabilidad, ya que, las diferencias absolutas de los valores promedio obtenidos de las condiciones de 5° C y 22° C en 24 horas son menores al 2%.

5.2.3 Especificidad/Selectividad

Se preparó cantidad suficiente de placebo para el análisis y se analizó placebo y muestras de placebo con patrón adicionado. Debido a que no se contaba con la existencia de impurezas de origen farmacopeico, se degradó el placebo y las muestras en las siguientes condiciones:

- a) Sin tratamiento.
- b) Adición de 2 mL de Ácido clorhídrico 0.1 N, calentar 2 horas a 60°C

- c) Adición de 2 mL de Hidróxido de sodio 0.1 N, calentar 2 horas a 60°C
- d) Exposición a luz UV por 1 hora.
- e) Calentamiento por 4 horas a 60°C

Tabla N°6. Resultados de la prueba de Especificidad/Selectividad para Tramadol HCl.

REPLICA	PLACEBO ADICIONADO	PLACEBO ADICIONADO + DEGRADACION ACIDA	PLACEBO ADICIONADO+ DEGRADACION BASICA	PLACEBO ADICIONADO + UV	PLACEBO ADICIONADO + DEGRADACION TERMICA
	PORCENTAJE SOBRE LO ROTULADO (%)				
1	103.72	104.96	103.94	103.19	107.09
2	103.75	105.03	103.98	103.17	107.07
PROMEDIO	103.74	104.99	103.96	103.18	107.08

Tabla N°7. Resultados de la prueba de Especificidad/Selectividad para Dexketoprofeno.

REPLICA	PLACEBO ADICIONADO	PLACEBO ADICIONADO + DEGRADACION ACIDA	PLACEBO ADICIONADO+ DEGRADACION BASICA	PLACEBO ADICIONADO + UV	PLACEBO ADICIONADO + DEGRADACION TERMICA
	PORCENTAJE SOBRE LO ROTULADO (%)				
1	103.28	103.92	103.30	92.08	107.32
2	103.31	103.96	103.32	92.03	107.06
PROMEDIO	103.30	103.94	103.31	92.05	107.19

En la Tabla N°6 y N°7 se presentan los resultados de la prueba de Selectividad y Especificidad. Estas determinaciones permiten demostrar 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 y Especificidad se realizó con el fin de generar compuestos potencialmente interferentes.

Se recomienda no modificar el diluyente con Hidróxido de Sodio 0.1N y colocar la muestra en viales de color ámbar para cromatografía líquida de alta eficiencia para evitar degradación con la luz UV.

Al realizar el tratamiento estadístico de los datos obtenidos, se determinó que para el caso del principio activo Tramadol HCl presentó una diferencia absoluta mayor del 2% (3%) cuando se somete la muestra en condiciones de degradación básica con respecto a la muestra sin degradación. En cuanto a Dexketoprofeno presentó una diferencia absoluta mayor del 2% cuando se sometió la muestra en condiciones de degradación básica y luz UV (4% y 11%, respectivamente) con respecto a la muestra sin degradación. Al observar los cromatogramas obtenidos en cada una de las diferentes condiciones de degradación, no se observan señales diferentes al pico principal con respecto a la muestra tratada en condición sin degradación (normal). En conclusión, confirmó que el método de análisis es selectivo para los principios activos en estudio. (Ver Anexo N°5).

5.2.4 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° 8. Resultados de la prueba de Precisión del sistema.
Estándar de Tramadol HCl.

REPLICA	Concentración teórica (mg/mL)	Valor de la lectura (Área de pico)
1	0.3	978423
2	0.3	979707
3	0.3	988766
4	0.3	979745
5	0.3	979848
6	0.3	976431
Promedio		980486.7
DesVesta		4261.93
CV		0.43

Tabla N° 9. Resultados de la prueba de Precisión del sistema.
Estándar De Dexketoprofeno

REPLICA	Concentración teórica (mg/mL)	Valor de la lectura (Área de pico)
1	0.1	2464376
2	0.1	2470924
3	0.1	2471079
4	0.1	2465319
5	0.1	2491895
6	0.1	2473811
Promedio		2472900.7
DesVesta		9989.90
CV		0.40

En las Tablas N°8 y N°9 se presentan los resultados de la prueba de Precisión del sistema para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tableta recubierta por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia, 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 0.43% para Tramadol HCl y 0.40% para Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol), con esto se evidencia que el cromatógrafo líquido de Alta Eficacia se encuentra en óptimas condiciones para brindar los resultados que se esperan. (Ver Anexo N°5).

5.2.5 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: 50%, 80%, 100%, 120% y 150%

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

Tabla N°10. Resultados de Linealidad del sistema para Tramadol HCl.

NIVEL	mg/mL	AREA
50%	0.1500	494265
50%	0.1500	494013
50%	0.1500	493223
80%	0.2400	788442
80%	0.2400	786353
80%	0.2400	784615
100%	0.3000	980600
100%	0.3000	979986
100%	0.3000	979115
120%	0.3600	1184131
120%	0.3600	1180279
120%	0.3600	1191782
150%	0.4500	1478355
150%	0.4500	1481928
150%	0.4500	1479329

Tabla N°11. Resultados de Linealidad del sistema para Tramadol HCl.

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CVy/x	0.39	CV ≤ 2%	Conforme
b1	3291976.82	b1 ≠ 0	Conforme
r²	0.9999	r² ≥ 0.98	Conforme
IC (β1)	3269802.97	no debe incluir el cero	Conforme
	3314150.67		
IC (βo)	-9526.04	debe incluir el cero	Conforme
	4528.75		

Tabla N°12. Resultados de Linealidad del sistema para Dexketoprofeno.

NIVEL	mg/mL	AREA
50%	0.0500	1249371
50%	0.0500	1250452
50%	0.0500	1279675
80%	0.0800	2001023
80%	0.0800	1992246
80%	0.0800	1985266
100%	0.1000	2481860
100%	0.1000	2464904
100%	0.1000	2490223
120%	0.1200	2978874
120%	0.1200	2978514
120%	0.1200	2996511
150%	0.1500	3739504
150%	0.1500	3716795
150%	0.1500	3738980

Tabla N°13. Resultados de Linealidad del sistema para Dexketoprofeno.

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CVy/x	0.84	CV≤2%	Conforme
b1	24729674.14	b1≠0	Conforme
r²	0.9998	r² ≥0.98	Conforme
IC (β1)	24517572.39	no debe incluir el cero	Conforme
	24941775.88		
IC (βo)	-5760.83	debe incluir el cero	Conforme
	39052.41		

En las Tablas N°10, N°11, N°12 y N°13 se presentan los resultados de la prueba de Linealidad del sistema, que es la capacidad del instrumento de medición (cromatógrafo líquido de alta eficiencia) de emitir respuestas directamente proporcionales a la cantidad de analito presente en la muestra.

Los resultados obtenidos se procesaron en el programa Microsoft Excel, para demostrar el comportamiento lineal sin necesidad de ninguna transformación

matemática. El coeficiente de determinación obtenido mayor a 0.98 para ambos principios activos, el coeficiente de variación de los factores de respuesta ($CV_{y/x}$) es menor 2%, las pendientes tienen un valor diferente de cero, el intervalo de confianza de las pendientes no incluye cero y el intervalo de confianza para los intercepto si incluye el cero. En conclusión, los valores obtenidos son conforme ya que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra, por lo cual la prueba es aceptable. (Ver Anexo N°5).

5.2.6 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%.

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°14. Cálculos de porcentaje de Recobro para Tramadol HCl.

	NIVEL%	mg/mL Adicionados	Lectura (Área de pico)	mg/mL Recuperados	%Recobro
SERIE 1	80	0.240	784033	0.241	100.36
SERIE 2			782146	0.240	100.06
SERIE 3			782142	0.240	99.98
SERIE 1	100	0.300	976458	0.300	99.99
SERIE 2			975480	0.300	99.84
SERIE 3			975678	0.299	99.77
SERIE 1	120	0.36	1178400	0.362	100.56
SERIE 2			1170709	0.359	99.85
SERIE 3			1178029	0.361	100.39

Tabla N°15 Cálculos de porcentaje de Recobro para Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno Trometamol)

	NIVEL%	mg/mL Adicionados	Lectura (Área de pico)	mg/mL Recuperados	%Recobro
SERIE 1	80	0.240	784033	0.241	100.36
SERIE 2			782146	0.240	100.06
SERIE 3			782142	0.240	99.98
SERIE 1	100	0.300	976458	0.300	99.99
SERIE 2			975480	0.300	99.84
SERIE 3			975678	0.299	99.77
SERIE 1	120	0.36	1178400	0.362	100.56
SERIE 2			1170709	0.359	99.85
SERIE 3			1178029	0.361	100.39

Tabla N°16. Resultados de la prueba de Linealidad del método para Tramadol HCl.

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CVy/x	0.28	CV≤2%	Conforme
b1	1.00531346	b1≠0	Conforme
r²	0.99971	r² ≥0.98	Conforme
IC (β1)	0.9899	debe incluir la unidad	Conforme
	1.0207		
IC (βo)	-0.00598	debe incluir el cero	Conforme
	0.00339		

Tabla N°17. Resultados de la prueba de Linealidad del método para Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol).

	RESULTADO	Criterio aceptación	Dictamen
CVy/x	0.36	CV≤2%	Conforme
b1	1.013126086	b1≠0	Conforme
r²	0.99971	r² ≥0.98	Conforme
IC (β1)	0.9978	debe incluir la unidad	Conforme
	1.0285		
IC (βo)	-0.00300	debe incluir el cero	Conforme
	0.00011		

En las Tablas N°14 y N°15 presentan los resultados de porcentaje de recobro que, mediante el cálculo del intervalo de confianza de la media poblacional, debe incluir el 100% de la cantidad adicionada, este valor indica la exactitud, ya que 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 99.87% al 100.31% para Tramadol HCl y 99.56% al 100.11% para Dexketoprofeno.

En las Tablas N°16 y N°17 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 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. Por lo tanto, se cumple el criterio dado ya que el comportamiento es directamente proporcional entre la concentración adicionada y la concentración recuperada. (Ver Anexo N°5).

5.2.7 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:

Tabla N°18 Distribución de análisis para precisión intermedia

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

Tabla N°19. Resultados de la prueba de repetibilidad 1 y 2 para Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno) trometamol.

FECHA	25/11/2020	26/11/2020
ANALISTA	5	4
EQUIPO	EQCC-047	EQCC-047
MUESTRA	%S/R	%S/R
1	103.74	102.21
2	100.97	103.10
3	106.64	102.76
4	102.50	104.70
5	102.90	104.51
6	103.49	104.20
PROMEDIO	103.37	103.58

Tabla N°20. Resultados de prueba de repetibilidad 1 y 2 para Tramadol HCl.

FECHA	25/11/2020	26/11/2020
ANALISTA	5	4
EQUIPO	EQCC-047	EQCC-047
MUESTRA	%S/R	%S/R
1	97.68	99.42
2	100.87	102.26
3	101.93	101.89
4	102.92	101.96
5	101.41	103.30
6	99.43	103.73
PROMEDIO	100.71	102.10

Tabla N°21. Resultados de la prueba de precisión intermedia.

	Tramadol HCl		Dexketoprofeno trometamol		
	5	4	5	4	
Analista	5	4	5	4	
Promedio	100.71	102.1	103.37	103.58	
Varianza	3.54465405	2.27061116	3.52553793	1.05746492	
f calculado	1.561101304		3.333952604		Fcalc<Ftab Varianzas son estadísticamente iguales
f de tabla	5.050329058		5.050329058		
t calculado	1.411560726		0.236406956		tcal<ttab No hay diferencia significativa en los promedios
t de tabla	2.228138852		2.228138852		

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 las Tablas N°19 y N°20, 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 las Tablas N°21, con la cual se estudió 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. (Ver Anexo N°5).

5.3 Informe de Validación

El informe de validación para la metodología de cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia, se redactó con base al análisis de resultados obtenidos en el desarrollo de los parámetros de la validación.

En el informe se detalla cada uno de los parámetros desarrollados en la validación, los resultados obtenidos, los criterios de aceptación, observaciones, recomendaciones, conclusiones de la validación y se redactó un dictamen final de la validación de la metodología

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIA ANALITICA

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 1 de 8

REALIZO	REVISO	AUTORIZO
Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad	Gerente de Garantía de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha de revisó:	Fecha de vigencia:

PRINCIPIO ACTIVO:	Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol + Tramadol HCl)
NOMBRE DEL PRODUCTO (S):	Tramadex Tabletas Recubiertas
FORMA FARMACÉUTICA:	Tabletas Recubiertas
CONCENTRACIÓN:	25.00 mg de Dexketoprofeno (como Dexketoprofeno trometamol 36.90 mg) 75.00 mg de Tramadol HCl
EQUIPO:	EQCC-0047
TÉCNICA ANALITICA:	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia

TRAMADOL HCl				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
	Promedio de contenido	-----	97.30%	CONFORME
Robustez	Promedio para la condición normal (X ₀) y con el cambio (X _i)	-----	Condición Normal	X ₀ = 97.30%
			Vol. inyección 19uL	X ₁ = 97.03%
			Vol. inyección 21 uL	X ₂ = 97.10%
				CONFORME

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 8

TRAMADOL HCl						
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado		Dictamen	
Robustez			Flujo 1,98 mL/min	X ₃ = 96.27%		
			Flujo 2,02 mL/min	X ₄ = 98.04%		
			38°C	X ₅ = 97.33%		
			42°C	X ₆ = 96.95%		
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)		$\leq 2\%$	Vol. inyección 19uL	$\Delta_1 = 0.27\%$	CONFORME
				Vol. inyección 21 uL	$\Delta_2 = 0.20\%$	
				Flujo 1,98 mL/min	$\Delta_3 = 1.02\%$	
				Flujo 2,02 mL/min	$\Delta_4 = 0.74\%$	
				38°C	$\Delta_5 = 0.03$	
				42°C	$\Delta_6 = 0.34$	
Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	24 horas a 10°C	24 horas a 22°C	CONFORME	
			$\Delta = 0.9\%$	$\Delta = 2.0\%$		
Especificidad y selectividad	La respuesta es solamente debida al analito $\leq 2\%$	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	Degradación acida X ₀ =104.99% Degradación básica X _i =103.96% Degradación térmica X _{ii} =107.08% Degradación UV X _{iii} = 103.18%		CONFORME	
Precisión del sistema	Promedio	-----	980486.7		CONFORME	
	Desviación estándar	-----	4261.93		CONFORME	

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 8

TRAMADOL HCl				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
	Coeficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$	0.43	CONFORME
Linealidad del sistema	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9999	CONFORME
	Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	$\leq 2\%$	0.39%	CONFORME
	Pendiente (b)	$\neq 0$	3291976.82	CONFORME
	Linealidad del sistema	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	No debe incluir el cero	3269802.97 3314150.67
Intervalo de confianza del intercepto (a)		Debe incluir el cero	-9526.04 4528.75	CONFORME
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro		---	--
	Prueba de Cochran	$G_{exp} < G_{tab}$	$G_{exp} = 0.836$ $G_{tab} = 0.870$	CONFORME
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	$t_{exp} = 0.962$ $t_{tab} = 2.3060$	CONFORME
	Porcentaje de recobro	98 – 102%	100.1%	CONFORME
	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo	Límite Inferior. = 99.87% Límite superior = 100.31%	CONFORME
	Linealidad del método		-----	--
	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9997	CONFORME
	Pendiente	$\neq 0$	1.00531346	CONFORME

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 8

TRAMADOL HCl					
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado		Dictamen
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad	0.9899 1.0207		CONFORME
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	-0.00598 0.00339		CONFORME
	Precisión				
	Promedio	-----	100.1%		CONFORME
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$	0.28%		CONFORME
Repetibilidad	Promedio	-----	100.71%		CONFORME
	Desviación estándar	-----	1.88		CONFORME
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$	1.9%		CONFORME
Precisión intermedia	Promedio	-----	100.71% 102.10%		CONFORME
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$	1.87% 1.48%		CONFORME
Precisión intermedia	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	$F_{exp} = 1.5611$ $F_{tab} = 5.0503$		CONFORME
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	$t_{exp} = 1.4116$ $t_{tab} = 2.2281$		CONFORME
Robustez	Promedio de contenido	-----	103.78%		CONFORME
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----	Condición Normal	$X_0 = 103.78\%$	CONFORME
			Vol. inyección 19uL	$X_1 = 103.81\%$	
			Vol. inyección 21 uL	$X_2 = 103.71\%$	
Flujo 1,98 mL/min	$X_3 = 103.24\%$				

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 8

DEXKETOPROFENO TROMETAMOL						
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado		Dictamen	
Robustez			Flujo 2,02 mL/min	X ₄ = 104.83%		
			38°C	X ₅ = 103.74%		
			42°C	X ₆ = 103.65%		
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)	$\leq 2\%$		Vol. inyección 19uL	$\Delta_1 = 0.02\%$	CONFORME
				Vol. inyección 21 uL	$\Delta_2 = 0.07\%$	
				Flujo 1,98 mL/min	$\Delta_3 = 0.54\%$	
				Flujo 2,02 mL/min	$\Delta_4 = 1.02\%$	
				38°C	$\Delta_5 = 0.04\%$	
				42°C	$\Delta_6 = 0.13\%$	
	Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	24 horas a 10°C	24 horas a 22°C	CONFORME
$\Delta = 1.0\%$				$\Delta = 1.8\%$		
Especificidad/selectividad	La respuesta es solamente debida al analito $\leq 2\%$	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	Degradación acida X ₀ =103.94% Degradación básica X _i =103.31% Degradación térmica X _{ii} =107.19% Degradación UV X _{iii} = 92.05%		CONFORME	

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 6 de 8

DEXKETOPROFENO TROMETAMOL				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Precisión del sistema	Promedio	-----	2472900.7	CONFORME
	Desviación estándar	-----	9989.90	CONFORME
	Coeficiente de variación (CV)	$\leq 2\%$	0.40	CONFORME
Linealidad del sistema	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9998	CONFORME
	Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	$\leq 2\%$	0.84%	CONFORME
	Pendiente (b)	$\neq 0$	24729674.14	CONFORME
	Intervalo de confianza de la pendiente $IC(\beta_1)$	No debe incluir el cero	24517572.39 24941775.88	CONFORME
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	-5760.83 39052.41	CONFORME

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 7 de 8

DEXKETOPROFENO TROMETAMOL				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro		---	--
	Prueba de Cochran	$G_{exp} < G_{tab}$	$G_{exp} = 0.515$ $G_{tab} = 0.870$	CONFORME
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	$t_{exp} = 1.363$ $t_{tab} = 2.3060$	CONFORME
	Porcentaje de recobro	98 – 102%	99.8%	CONFORME
	Intervalo de confianza de la media poblacional	Debe incluir el 100% o el promedio del % de recobro se incluya en el intervalo	Límite Inferior. = 99.56% Límite superior = 100.11%	CONFORME
	Linealidad del método		-----	--
	Coeficiente de determinación (r^2)	≥ 0.98	0.9997	CONFORME
	Pendiente	$\neq 0$	1.0131261	CONFORME
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad	IC(β_1) = 0.9978 - 1.0285	CONFORME
	Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero	-00300 0.00011
Precisión		---	--	
Promedio		-----	99.8%	CONFORME
Coeficiente de variación		$\leq 2\%$	0.36%	CONFORME

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25 mg Y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 8 de 8

DEXKETOPROFENO TROMETAMOL				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Repetibilidad	Promedio	-----	103.37%	CONFORME
	Desviación estándar	-----	1.88	CONFORME
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$	1.82%	CONFORME
Precisión intermedia	Promedio	-----	103.37% 103.58%	CONFORME
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$	1.82% 0.99%	CONFORME
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	$F_{exp} = 3.3340$ $F_{tab} = 5.0503$	CONFORME
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	$t_{exp} = 0.2634$ $t_{tab} = 2.2281$	CONFORME
OBSERVACIONES:				
<ol style="list-style-type: none"> En la prueba de estabilidad en la muestra almacenada a temperatura ambiente por 24 horas se obtuvo una diferencia de 2% para Tramadol HCl y 1.8% para Dexketoprofeno. En la prueba de Selectividad se obtuvo una diferencia del 11.24% en la muestra de placebo adicionado más degradación UV. 				
CONCLUSIONES				
<ol style="list-style-type: none"> La cuantificación de Tramadol HCl y Dexketoprofeno debe realizarse en las primeras 12 horas después de la preparación. Proteger de la luz UV los principios activos Tramadol HCl y Dexketoprofeno en el momento de la preparación y análisis de los mismos. 				
DICTAMEN:				
El método propuesto cumple los criterios de robustez, estabilidad, selectividad, exactitud, linealidad, repetibilidad y precisión intermedia. Por tanto, se declara VALIDADO el método analítico para cuantificación de Tramadol HCl y Dexketoprofeno por Cromatografía líquida de alta eficiencia.				

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. La validación demuestra que el método analítico que cuantifica los principios activos Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficacia, es exacto ya que los porcentajes de recobro se mantienen dentro de la especificación del 98.0% al 102.0%.
2. El equipo de cromatografía líquida de alta eficacia utilizado en la validación de la metodología analítica se encuentra en óptimas condiciones ya que en la evaluación de la precisión del sistema se reportan coeficientes de variación de áreas de 0.43% para el Dexketoprofeno y 0.40% para el Tramadol HCl los cuales cumplen con la especificación de ser menor o igual a 2% para las áreas.
3. Los resultados obtenidos a partir del desarrollo de los parámetros de desempeño para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficacia, permiten concluir que el método es robusto, selectivo, exacto, lineal y preciso. Por lo tanto, el método analítico demostró ser el idóneo para el propósito que fue diseñado.
4. La redacción del informe final conduce a la generación del dictamen final para esta investigación, indicándose que el método es válido para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl contenidos en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficiencia y por tanto con la metodología analítica validada el laboratorio farmacéutico da cumplimiento a uno de los requerimientos exigidos por el ente regulador nacional.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Estudios adicionales a esta investigación podrían orientados a estudiar los parámetros de especificidad y selectividad usando compuestos relacionados USP, ya que en esta investigación se realizó partiendo de la degradación del placebo y placebo adicionado con analito.
2. Para el personal de análisis fisicoquímico de producto terminado del departamento de control de calidad del laboratorio farmacéutico se recomienda realizar la transferencia tecnológica y calificación técnica al personal para utilizar la metodología por cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas.
3. El analista del sector fisicoquímico del área de control de calidad que utilice la metodología analítica para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas, debe controlar el pH y las proporciones de la fase móvil para obtener la elución de picos simétricos y definidos en el cromatograma.
4. El analista del sector fisicoquímico del área de control de calidad que ejecute la validación debe de utilizar todo el equipo de protección personal que se incluye dentro del protocolo de validación para evitar daños a la salud y obtener los resultados idóneos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Asociación Española de Farmacéuticos en la Industria, (2001) *Validación de Métodos Analíticos*. Barcelona: Agilent Technologies, Mcc Analytical S.A, Merck eurolab, Perkin Elmer, S.L, PH-C, Sociedad de validación de sistemas SL. España.
2. Centro de información online de medicamentos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios (AEMPS – CIMA). <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html> [En línea]__[Fecha de consulta: 12/02/2022.]
3. Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2011) secretaria de la salud. Farmacopea de los Estados Unidos de América.
4. Convención de la Farmacopea de los Estados Unidos de América. Farmacopea de los Estados Unidos. (2015). Trigésima octava revisión y Formulario Nacional trigésima tercera edición. Estados Unidos de América.
5. ICH Harmonised Tripartite Guideline, (1994) Text on Validation of Analytical Procedures Q2A, United States of America.
6. Organismo Salvadoreño de Acreditación (OSA) (2010). Guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos versión 1. El Salvador.

7. Organismo Salvadoreño de acreditación (OSA) (2017). Guía de validación de métodos analíticos fisicoquímicos versión 2. El Salvador.
8. Procedimiento interno de validación de métodos analíticos del laboratorio Farmacéutico Nacional. El Salvador.
9. Reyes Velásquez R.A, (2018) Propuesta de Validación y Comparación de dos metodologías analíticas (Espectrofotometría ultravioleta y Cromatografía líquida de alto desempeño) para la valoración de Silnedafil citrato tabletas 50 mg y 100 mg, para el departamento de control de calidad de un laboratorio farmacéutico nacional. Trabajo de graduación para optar al grado de licenciado en química y farmacia. Universidad de El Salvador. El Salvador.
10. RTCA 11.03.39.06. Reglamento Técnico Centroamericano, productos farmacéuticos. (2011) Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos.
11. RTCA 11.03.42:07 Reglamento Técnico Centroamericano, productos farmacéuticos. (2014) Medicamentos de uso humano. Buenas Prácticas de Manufactura para la industria Farmacéutica.
12. RTCA 11.03.47:07 Reglamento Técnico Centroamericano, productos farmacéuticos. (2007) Medicamentos para uso humano. Verificación de la calidad.

GLOSARIO

Analito ⁽⁸⁾: Sustancia contenida en la muestra sometida a análisis.

Blanco ⁽⁸⁾: Muestra preparada para la lectura final pero que no contiene analitos.

Calidad ⁽⁷⁾: 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.

Cromatografía ⁽¹⁾: La cromatografía es un método por el cual las sustancias se separan mediante un proceso de migración diferencial en un sistema que consta de dos fases. Una fase que fluye continuamente en una dirección dada (fase móvil) y otra que permanece fija (fase estacionaria). En estos sistemas los componentes de una mezcla pueden presentar diferentes movilidades debido a diferencias en la capacidad de adsorción, partición, solubilidad, presión de vapor, tamaño molecular o carga.

DNM ⁽⁹⁾: Es la autoridad sanitaria competente para autorización de la inscripción, importación, fabricación, control de precios, control de la cadena de distribución, hasta el expendio al consumidor final de los medicamentos y productos afines. (Dirección Nacional de Medicamentos).

Especificidad ⁽²⁾: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes de la muestra.

Exactitud ⁽⁸⁾: Expresa la proximidad entre el valor que es aceptado convencionalmente como valor verdadero, valor nominal, teórico o un valor de referencia y el valor encontrado experimentalmente. Capacidad del método analítico para proporcionar resultados más cercanos posibles al valor teórico o nominal.

Forma farmacéutica ⁽⁷⁾: 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.

HPLC ⁽¹⁾: Cromatografía líquida de alta presión o de alta eficacia cuando se emplean partículas de fase estacionaria muy pequeñas y una presión de entrada relativamente alta. (HPLC, High Pressure Liquid Chromatography / High Performance Liquid Chromatography).

Intervalo ⁽⁸⁾: Diferencia en magnitud entre la mayor y menor concentración de analito que puede determinarse satisfactoriamente con adecuada linealidad, exactitud y precisión.

Límite de cuantificación ⁽¹⁾: Cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud aceptable. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en matrices de muestra y se usa particularmente para impurezas y productos de degradación. Se expresa como concentración del analito.

Límite de detección ⁽¹⁾: Cantidad más pequeña de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, con un nivel de confianza determinado, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito.

Linealidad ⁽¹⁵⁾: Define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito.

Método analítico ⁽²⁾: Adaptación específica de una técnica analítica para un propósito de medición seleccionado, en la cual se identifican los recursos materiales y el procedimiento.

Muestra ⁽¹⁰⁾: 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.

Medicamento ⁽¹¹⁾: 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.

Polifármaco ⁽¹⁴⁾: Es un medicamento que incluye dos o más elementos y sus efectos de sinergia tienen acción en el organismo.

Precisión ⁽¹⁾: Expresa la cercanía de coincidencia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas. Puede considerarse a tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad. Debe determinarse utilizando muestras originales y homogéneas. Sin embargo, si no es posible obtener una muestra homogénea puede ser determinada usando muestras preparadas o una disolución de la muestra.

Principio activo ⁽¹⁴⁾: Ingrediente activo o molécula que se incluye en un determinado medicamento y que confiere propiedades para tratar o prevenir una o varias enfermedades específicas.

Procedimiento analítico ⁽⁶⁾: Descripción detallada de los pasos necesarios para aplicar un método.

Procedimiento analítico oficial ⁽⁶⁾: Descripción detallada de los pasos necesarios para aplicar un método analítico estandarizado y validado contenido en las bibliografías de referencias oficiales, según listado armonizado por los países de la región centroamericana.

Procedimiento analítico no oficial ⁽⁶⁾: Descripción detallada de los pasos necesarios para aplicar un método analítico desarrollado por el fabricante para la verificación de la calidad de su producto.

RTCA₍₁₀₎: Reglamento Técnico Centroamericano.

Repetibilidad₍₁₆₎: Precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos.

Reproducibilidad₍₁₆₎: Precisión bajo condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos.

Robustez_(16,9): Medida de la capacidad de un procedimiento analítico de permanecer inafectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y provee una indicación de su fiabilidad en condiciones de uso normales.

Selectividad₍₁₆₎: Describe la habilidad de un procedimiento analítico para diferenciar entre varias sustancias en la muestra y es aplicable a métodos en los que dos o más componentes son separados y cuantificados en una matriz compleja.

Validación₍₁₆₎: Confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista.

Validación de un procedimiento analítico₍₆₎: Procedimiento para establecer por medio de estudios de laboratorio una base de datos que demuestren científicamente que un método analítico tiene las características de desempeño que son adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas. Implica la demostración de la determinación de las fuentes de

variabilidad y del error sistemático y al azar de un procedimiento, no solo dentro de la calibración sino en el análisis de muestras reales.

ANEXOS

ANEXO N°1
IMÁGENES DEL EQUIPO HPLC

ANEXO N°1 IMÁGENES DEL EQUIPO HPLC



Equipo de Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC por sus siglas en inglés) marca SHIMADZU modelo LC-2030.



Reservorios para solventes calidad HPLC y Fase móvil.

ANEXO N°2
FORMATOS DE HOJAS DE CALCULOS

ROBUSTEZ

Código: R-0219

Edición: 00

Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABL
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	28/9/2021

MUESTRAS: PRODUCTO TERMINADO

REPLICA	REPORTAR %			
	NORMAL	CONDICION DIFERENTE		
		VOLUMEN INYECCION 21uL	VOLUMEN INYECCION 19uL	FLUJO AUMENTADO 2,02 mL/min
1	97.14	97.04	96.96	98.06
2	97.52	97.11	96.86	97.99
3	97.23	97.13	97.26	98.05
PROMEDIO	97.30	97.10	97.03	98.04
DS	0.20	0.05	0.21	0.04
CV%	0.21	0.05	0.21	0.04
	DIFERENCIA	0.20	0.27	0.74
	RESULTADO	<2%	<2%	<2%
	DICTAMEN	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE

CRITERIO: 2**CRITERIO DE ACEPTACION:**

≤2% métodos cromatografía y volumétricos

≤3% métodos químicos y espectrofotométricos

Nota: Solo se pueden editar los cuadros en color azul.

Figura N°3 Formato de hoja de cálculo para validación: Prueba de Robustez.

ESTABILIDAD		
Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	NO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLET/
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	28/9/2021

MUESTRAS: PRODUCTO TERMINADO

REPLICA	INICIAL	REPORTAR %		
		TIEMPO DE ALMACENAMIENTO (24 HORAS)		
		24 horas a 10*0	24 horas a 22*0	N/A
1	101.03	102.01	99.03	N/A
2	101.00	102.02	99.00	N/A
3	101.21	102.00	99.22	N/A
PROMEDIO	101.08	102.01	99.09	#DIV/0!
DS	0.12	0.01	0.12	0.00
CV%	0.12	0.01	0.12	#DIV/0!
	DIFERENCIA	0.9	2.0	#DIV/0!
	RESULTADO	<2%	<2%	#DIV/0!
	DICTAMEN	CUMPLE	CUMPLE	#DIV/0!

CRITERIO DE ACEPTACION:

Diferencia absoluta <2%.

Nota: Solo se pueden editar los cuadros en color azul.

Figura N°4 Formato de hoja de cálculo para validación: Prueba de Estabilidad

SELECTIVIDAD

Código: R-0219

Edición: 00

Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TAB
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	29/9/2021

MUESTRAS: PLACEBO Y PLACEBO ADICIONADO

REPORTAR %Diferencia					
REPLICA	PLACEBO	PLACEBO+ DEGRADACION ACIDA	PLACEBO+ DEGRADACION BASICA	PLACEBO+ DEGRADACION TERMICA	PLACEBO+UV
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
PROMEDIO	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	Diferencia	0.00	0.00	0.00	0.00
	DICTAMEN	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE	CUMPLE
REPORTAR %Diferencia					
REPLICA	PLACEBO ADICIONADO	PLACEBO ADICIONADO+ DEGRADACION ACIDA	PLACEBO ADICIONADO+ DEGRADACION BASICA	PLACEBO ADICIONADO+ DEGRADACION TERMICA	PLACEBO ADICIONADO+ UV
1	103.72	104.96	103.94	107.09	103.19
2	103.75	105.03	103.98	107.07	103.17
PROMEDIO	103.74	104.99	103.96	107.08	103.18
	Diferencia	1.26	0.22	3.34	0.55
	DICTAMEN	DEGRADACION	CUMPLE	NO CUMPLE	CUMPLE

CRITERIO DE ACEPTACION:

CRITERIO DE ACEPTACION:

≤2% métodos cromatografía y volumétricos

≤3% métodos químicos y espectrofotométricos

Figura N°5 Formato de hoja de cálculo para validación: Prueba de Selectividad.

PRECISION DEL SISTEMA		
Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PED-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	5mg + TRAMADOL HCL 75 mg TAB
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	27/9/2021

MUESTRAS: ESTANDAR

PUNTOS DE CURVA ESTANDAR						
REPLICA	ESTANDAR 1		ESTANDAR 2		ESTANDAR 3	
	X	Y	X	Y	X	Y
	mg/mL	AREA	Concentraci anterior	Valor lectura	Concentra cion	Valor lectura
1	0.3	978423	N/A	N/A	N/A	N/A
2	0.3	979707	N/A	N/A	N/A	N/A
3	0.3	988766	N/A	N/A	N/A	N/A
4	0.3	979745	N/A	N/A	N/A	N/A
5	0.3	979848	N/A	N/A	N/A	N/A
6	0.3	976431	N/A	N/A	N/A	N/A
PROMEDIO	980486.7	PROMEDIO	#DIV/0!	PROMEDIO	#DIV/0!	
DS	4261.93	DS	0	DS	0	
CV	0.43	CV	#DIV/0!	CV	#DIV/0!	
RESULTADO	<2%	RESULTADO	#DIV/0!	RESULTADO	#DIV/0!	
DICTAMEN	CUMPLE	DICTAMEN	#DIV/0!	DICTAMEN	#DIV/0!	

CRITERIO DE ACEPTACION	2
El CV es <2% para métodos cromatográficos y volumétricos y ≤3% métodos fisicoquímicos y espectrofotométricos	

Nota: Solo se pueden editar los cuadros en color azul.

Figura N°6 Formato de hoja de cálculo para validación: Precisión del sistema.

LINEALIDAD DEL SISTEMA		
Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	mg + TRAMADOL HCL 75 mg T/
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	27/9/2021
MUESTRAS: ESTANDAR	

NUMERO	NIVEL	mg/L	AREA
1	50%	0.1500	494265
2	50%	0.1500	494013
3	50%	0.1500	493223
4	80%	0.2400	788442
5	80%	0.2400	786353
6	80%	0.2400	784615
7	100%	0.3000	980600
8	100%	0.3000	979986
9	100%	0.3000	979115
10	120%	0.3600	1184131
11	120%	0.3600	1180279
12	120%	0.3600	1191782
13	150%	0.4500	1478355
14	150%	0.4500	1481928
15	150%	0.4500	1479329

Promedio \bar{x}	328337.8148	Factor de conversión	
BEST.F[V/X]	12832.81884		
CV%	0.390892894		
S_1	3294376.82	pendiente	
S_0	-2438.8468	ordenada al origen	
r^2	0.99987	coeficiente de determinación	
r	0.99994	coeficiente de correlación	
probabilidad α	0.05		
n	15		
$n-2$	13		
$t_{\alpha/2, n-2}$	2.160	de tabla	
IC [L]	3269802.973	$\hat{y} \pm t_{\alpha/2, n-2} \cdot S_1$	Intervalo de confianza de la pendiente
	3314150.667	$\hat{y} \pm t_{\alpha/2, n-2} \cdot S_1$	
IC [L]	-9526.041	$\hat{y} \pm t_{\alpha/2, n-2} \cdot S_0$	Intervalo de confianza de la ordenada
	4528.749	$\hat{y} \pm t_{\alpha/2, n-2} \cdot S_0$	
Rango lineal	0.458	x	0.458 mg/L

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Figura N°7 Formato de hoja de cálculo para validación: Linealidad de sistema.

LINEALIDAD DEL SISTEMA

Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PEO-CC-0065
----------------	-------------	-------------------------

$F(x/y)$	X	Y	$x \cdot y$	x^2	y^2		
3235100.0	0.450	434265.00	74493.75	0.2025	244297890225.0		
3235420.0	0.450	434015.00	74103.25	0.2025	244000441625.0		
3200453.3	0.450	433223.00	73985.45	0.2025	243283277225.0		
3205475.0	0.240	700442.00	168226.80	0.0576	621640707364.0		
3275470.0	0.240	706353.00	169724.72	0.0576	61951040609.0		
3263223.2	0.240	704645.00	169307.60	0.0576	615620690225.0		
3266666.7	0.300	506600.00	254100.00	0.0900	351576360000.0		
3266620.0	0.300	573306.00	239995.80	0.0900	368972560156.0		
3263746.7	0.300	373145.00	239794.50	0.0900	350666109225.0		
3203252.0	0.360	1104131.00	426287.16	0.1296	1402166225164.0		
3270552.0	0.360	1100275.00	424900.44	0.1296	139988547044.0		
3310585.6	0.360	1131702.00	429414.52	0.1296	1428944335524.0		
3205200.0	0.450	1470355.00	662539.75	0.2025	218533080025.0		
3233473.3	0.450	1401320.00	66067.60	0.2025	2136110537104.0		
3207937.0	0.450	1473325.00	665308.85	0.2025	2100444200244.0		
PROM	3203377.0	SUMATORIA	4.500	14776446.00	434040.37	1.5000	16253470763710.0

PROMEDIO **0.300**

$\sum xy$	434040.370
$\sum x$	4.500
$\sum y$	14776446.000
$(\sum x)^2$	20.250
$\sum x^2$	1.507
$(\sum y)^2$	218542463002056.0
$\sum y^2$	16253470763710.0
$(\sum x^2)$	0.030

Sk_1	10263.91798
Sk_2	3252.868635

	RESULTADO	Criterio apropiado	Distancia
CV_x	0.35	CV_x ≤ 0.50	cumple
b₁	3231976.02	≤ 0.0	cumple
r²	0.9999	r² ≥ 0.90	cumple
IC (δ1)	3263002.37	no debe incluirse el error	cumple
	3314450.67		
IC (δo)	-3526.84	debe incluirse el error	cumple
	4520.75		

%CV:
 ≤2% métodos cromatografía y volumétricos
 ≤3% métodos químicos y espectrofotométricos

Nota: Solo se pueden editar los cuadros en color azul.

Firma			
Fecha			
	ANALIZO	VERIFICO	AUTO
Funcion	Coordinador de Validaciones	Coordinador de Control de Calidad	Jefatura de Control de Calidad

Figura N°7 Continuación.

CALCULOS DEL RECOBRO		
Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO	OFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETAS F
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	27/9/2021

MUESTRAS: ESTANDAR Y PLACEBO ADICIONADO

ESTANDARES	AREA	PROMEDIO
SERIE 1	975722	*****
	977294	
SERIE 2	977403	*****
	976715	
SERIE 3	977128	*****
	978664	

MUESTRAS

	NIVEL%	adicionada		Am/Aest	Rec	entre	%R
		mg/mL	AREA		mg/mL	Zrec entre	
SERIE 1	80	0.240	784033	0.802895	0.241	80.3	100.36
SERIE 2			782146	0.800511	0.240	80.1	100.06
SERIE 3			782142	0.799821	0.240	80.0	99.98
SERIE 1	100	0.300	976458	0.999949	0.300	100.0	99.99
SERIE 2			975480	0.998384	0.300	99.8	99.84
SERIE 3			975678	0.997732	0.299	99.8	99.77
SERIE 1	120	0.360	1178400	1.206749	0.362	120.7	100.56
SERIE 2			1170709	1.198197	0.359	119.8	99.85
SERIE 3			1178029	1.204657	0.361	120.5	100.39

Rec= mg recuperados

%R= % recuperados

Figura N°8 Formato de hoja de cálculo para validación: Prueba de Exactitud

PRECISION DEL METODO		
Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	lg + TRAMADOL HCL 75 mg T
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO
EQUIPO	EQCC-047
FECHA	27/9/2021

MUESTRAS: ESTANDAR Y PLACEBO ADICIONADO

	% Teorico	% Encontrado			Promedio	DS	Varianza
Sin 1	80	80.23946	80.0510512	79.9821249	80.11	0.1613	0.0260
Sin 2	100	99.99	99.84	99.77	99.87	0.1139	0.0130
Sin 3	120	120.67	119.82	120.47	120.32	0.4458	0.1987

Gexp	0.836
Gtab	0.870

Gexp < Gtab
EL FACTOR CONCENTRACION NO INFLUYE EN LA VARIABILIDAD DE LOS RESULTADOS

	% Teorico	% Recuperacion		
Sin 1	80	100.36	100.06	99.98
Sin 2	100	99.99	99.84	99.77
Sin 3	120	100.56	99.85	100.39

t exp	0.962
p	0.05
n	9.0
n-1	8.0
t tab(P=0.05)	2.3060

Promedio	100.1
DS	0.28055
CV	0.28
PRECISION	CV < 2
	CUMPLE

t exp < t tab
NO EXISTE DIFERENCIA SIGNIFICATIVA ENTRE LA RECUPERACION MEDIA Y 100 SE CONFIRMA LA BUENA EXACTITUD DEL METODO

Figura N°9 Formato de hoja de cálculo para validación: Precisión del método

PRECISION INTERMEDIA		
Código: R-0219	Edición: 00	Referencia: PEO-CC-0065

NOMBRE DEL PRODUCTO/MP	25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABL
ANALITO	TRAMADOL CLORHIDRATO
TECNICA	HPLC
PRUEBA	VALORACION DE CONTENIDO

MUESTRAS: PRODUCTO TERMINADO

FECHA	28/9/2021	29/9/2021
ANALISTA	5	4
EQUIPO	EQCC-047	EQCC-047
MUESTRA		
1	97.68	99.42
2	100.87	102.26
3	101.93	101.89
4	102.92	101.96
5	101.41	103.30
6	99.43	103.73
PROMEDIO	100.71	102.10
MIN(%)	97.68	99.42
MAX(%)	102.92	103.73
DS	1.88	1.51
CV%	1.87	1.48
Varianza	3.54	2.27
PROMEDIO	101.40	
SD	1.78	
CV%	1.76	
S ²	2.91	

CRITERIO	resultado	
F _{calc} /F _{tab}	F-cal	1.56
	F_{calc}<F_{tab}	
	varianzas son estadísticamente	
	t-cal	1.41
	t-cal<t_{tab}	
t _{calc} /t _{tab}	no hay diferencia entre los promedi	

α	0.05	5	n -1
n -1	5	10	n -2
Si F - Cal ≤	5.05	: varianzas son estadísticamente iguales	
t - Cal ≤	2.23	: no hay diferencia significativa en los promedios	

Nota: Solo se pueden editar los cuadros en color azul.

Firma			
Fecha			
	ANALISTA	VERIFICO	AUTORIZO
Funcion	Coordinador de Validaciones	Coordinador de Control de Calidad	Jefatura de Control de Calidad

Figura N°10 Formato de hoja de cálculo para validación: Precisión intermedia

ANEXO N°3
FORMATO DE PROTOCOLO DE VALIDACION

ANEXO N°3. FORMATO DE PROTOCOLO DE VALIDACION.

PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOLOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Edición: 00	Página: 1 de 6

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

1.0 OBJETIVO:

Se detalla el propósito del protocolo.

2.0 AMBITO DE APLICACION:

Se delimita el área de aplicación

3.0 RESPONSABLES Y FUNCIONES:

Se detalla quienes son las personas involucradas en la ejecución, verificación y aprobación del protocolo.

4.0 PROCEDIMIENTOS (METODOLOGIA ANALITICA):

4.1 INTRODUCCION

En esta parte se detalla información general del principio activo a evaluar.

4.2 JUSTIFICACION:

En esta parte se detalla por qué se va a realizar la validación del principio activo

4.3 MEDIDAS DE SEGURIDAD:

Se detalla los solventes que representan un riesgo al momento de manipularlos, los equipos de protección que se necesitan para manipularlo y los daños a la salud que pueden generar.

4.4 CALIFICACIONES:

En esta tabla se detallan todos los equipos calificables utilizados en la validación.

PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOLOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Edición: 00	Página: 2 de 6

Nombre del equipo	Marca	Código	Calificación	Informe

4.5 CALIBRACIONES:

En esta tabla se detallan todos los equipos calibrados utilizados en la validación.

Nombre del equipo	Marca	Código	Calibración	Informe

4.6 ESPECIFICACION:

En esta tabla se detalla el criterio de aceptación para el principio activo que se va a evaluar. La especificación se define de acuerdo a monografías oficiales.

NOMBRE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Principio activo	No menos de 90.0% y no más de 110.0% de principio activo

4.7 METODO DE ANALISIS A VALIDAR:

Se detalla el método a utilizar para el análisis del principio activo.

4.8 PRINCIPIO ACTIVO Y CONCENTRACION:

Se detalla forma farmacéutica, el principio activo y la concentración del activo.
Ejemplo:

PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Edición: 00	Página: 3 de 6

Cada tableta recubierta contiene:

Tramadol HCl..... 75.00 mg
Dexketoprofeno..... 25.00 mg
(Equivalente a 36.90 mg de Dexketoprofeno Trometamol).

4.9 EQUIPOS:

En esta tabla se detalla los equipos utilizados en la validación

Nombre del equipo	Marca	Código

4.10 CRISTALERIA Y MATERIALES:

Se detalla toda la cristalería con su capacidad y materiales que se van a utilizar en el análisis y procesamiento de las muestras.

4.11 REACTIVOS:

Se detalla todos los solventes a utilizar en todo el proceso de la validación.

4.12 METODO DE CUANTIFICACION

En esta sección se detalla las especificaciones del método, parámetros del equipo a utilizar, preparación de solventes, preparación de fases móviles, y preparación de muestras y estándares.

5.0 PARAMETROS A EVALUAR:

En esta sección se detalla los parámetros específicos que deben cumplir una validación.

PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Edición: 00	Página: 4 de 6

RESUMEN DE PARAMETROS A EVALUAR Y CRITERIOS DE ACEPTACION METODOS FISICOQUIMICOS

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)	$\leq 3\%$
	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	
	Prueba de Cochran	$G_{exp} - G_{tab}$
	Prueba t de Student	$t_{exp} - t_{tab}$
	Porcentaje de recobro	98 – 102%
	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

PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Edición: 00	Página: 5 de 6

Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación
<i>Exactitud</i>	Pendiente	≠0
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β1)	Debe incluir la unidad
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero
	Precisión	
	Promedio	-----
	Coefficiente de variación	≤2%
<i>Repetibilidad</i>	Promedio	-----
	Desviación estándar	-----
	Coefficiente de variación	≤2%
<i>Precisión intermedia</i>	Promedio	-----
	Coefficiente de variación	≤2%
	Prueba de Fisher	$F_{exp} - F_{tab}$
	Prueba t de Student	$t_{exp} - t_{tab}$

6.0 MUESTRAS

Se Incluye el detalle de la formulación



Código de cada materia prima	Descripción	Cantidad	Unidad
xxxxxxxx	Principio activo	xx.xx	g
xxxxxxxx	Principio activo	xx.xx	g
EXCIPIENTES CANTIDAD SUFICIENTE PARA CANTIDADES PARA 100 g			

7.0 PROCEDIMIENTO:

En esta sección se describe paso a paso cada uno de los parámetros a evaluar en validación.

7.1 Robustez

PROTOCOLO DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg y TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOLOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: PVA-CC-001	Código de validación: VMA-CC-001	Edición: 00	Edición: 00	Página: 6 de 6

7.2 Estabilidad

7.3 Especificidad/Selectividad

7.4 Precisión del sistema

7.5 Linealidad del sistema

7.6 Exactitud del método (Recobro, Precisión y Linealidad)

7.7 Repetibilidad y Precisión Intermedia

8.0 CONTROL DE CAMBIOS:

En esta sección se detalla los cambios que se realizan al protocolo desde la fecha de creación hasta la última modificación.

EDICIÓN MODIFICADA	DESCRIPCIÓN	No. DE EDICIÓN NUEVA	NOMBRE DEL RESPONSABLE DEL CAMBIO	FECHA DE MODIFICACIÓN
N/A	EDICIÓN INICIAL	00		DD-MM-AAAA

9.0 BIBLIOGRAFIA:

En esta sección se detalla toda la bibliografía utilizada para la validación.

10.0 ANEXOS:

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

ANEXO N°4
FORMATO DE INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS
ANALITICAS

FORMATO DE INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
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
Coordinador de Validaciones Metodológicas	Jefe de Control de Calidad	Gerente de Garantía de Calidad
Fecha de emisión:	Fecha:	Fecha de vigencia:

PRINCIPIO ACTIVO:	
NOMBRE DEL PRODUCTO (S):	
FORMA FARMACEUTICA:	
CONCENTRACION:	
EQUIPO:	
TECNICA ANALITICA:	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia

PRINCIPIO ACTIVO					
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado		Dictamen
Robustez	Promedio de contenido	-----	Condición Normal	$X_0 =$	
	Promedio para la condición normal (X_0) y con el cambio (X_i)	-----	Vol. Inyección disminuido	$X_1 =$	
			Vol. inyección aumentado	$X_2 =$	
			Flujo disminuido	$X_3 =$	

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 2 de 5

TRAMADOL/ DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)						
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado		Dictamen	
			Flujo aumentado	X ₄ =		
			Temperatura disminuida	X ₅ =		
			Temperatura aumentada	X ₆ =		
	Diferencia absoluta de los valores promedio (Δ_i)		$\leq 2\%$	Vol. Inyección disminuido	$\Delta 1 =$	
				Vol. inyección aumentado	$\Delta 2 =$	
				Flujo disminuido	$\Delta 3 =$	
				Flujo aumentado	$\Delta 4 =$	
				Temperatura disminuida	$\Delta 5 =$	
	Estabilidad analítica	Diferencia absoluta	$\leq 2\%$	24 horas a 5°C	24 horas a 22°C	
				$\Delta = \%$	$\Delta = \%$	
	Especificidad/ selectividad	La respuesta es solamente debida al analito $\leq 2\%$	Degradación debe ser en el orden del 10 al 20%	Degradación acida X ₀ = Degradación básica Xi = Degradación térmica Xii= Degradación UV Xiii=		

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 3 de 5

TRAMADOL/ DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Precisión del sistema	Promedio	-----		
	Desviación estándar	-----		
	Coeficiente de variación (CV)	≤2%		
Linealidad del sistema	Coeficiente de determinación (r^2)	≥0.98		
	Coeficiente de variación de los factores de respuesta (CV)	≤2%		
	Pendiente (b)	≠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		

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 4 de 5

TRAMADOL/ DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud (Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)	Recobro		---	--
	Prueba de Cochran	$G_{exp} < G_{tab}$		
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$		
	Porcentaje de recobro	98 – 102%		
	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	$\neq 0$		
	Intervalo de confianza de la pendiente IC(β_1)	Debe incluir la unidad		
	Intervalo de confianza del intercepto (a)	Debe incluir el cero		

INFORME DE VALIDACION DE METODOLOGIAS ANALITICAS				
VALIDACION DE METODO ANALITICO PARA VALORACION DE DEXKETOPROFENO Y TRAMADOL HCL EN DEXKETOPROFENO 25mg + TRAMADOL HCL 75 mg TABLETA RECUBIERTA POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA				
Código: IVA-CC-001	Código de Informe de validación: IVMA-CC-001	Edición: 00	Período de vigencia: 5 años	Página: Página 5 de 5

TRAMADOL/ DEXKETOPROFENO (COMO DEXKETOPROFENO TROMETAMOL)				
Parámetros de Desempeño	Reportar	Criterio de Aceptación	Resultado	Dictamen
Exactitud <i>(Recobro, Precisión del método y Linealidad del método)</i>	Precisión			
	Promedio	-----		
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$		
Repetibilidad	Promedio	-----		
	Desviación estándar	-----		
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$		
Precisión intermedia	Promedio	-----		
	Coeficiente de variación	$\leq 2\%$		
	Prueba de Fisher	$F_{exp} < F_{tab}$	$F_{exp} =$ $F_{tab} =$	
	Prueba t de Student	$t_{exp} < t_{tab}$	$t_{exp} =$ $t_{tab} =$	

ANEXO N°5

TRATAMIENTO ESTADISTICO DE RESULTADOS.

ANEXO N°5. TRATAMIENTO ESTADISTICO DE RESULTADOS.

ROBUSTEZ

Reportar:

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

-Para promedio de contenido se utilizó la formula

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

Donde: x: valor de área de pico obtenido en el cromatograma

n: número de mediciones

-Para diferencia absoluta se utilizó la formula:

$$|\Delta_x| = X_0 - X_i$$

Donde: $|\Delta_x|$ = Diferencia absoluta

X_0 = Condición normal

X_i = Condición diferente

ESTABILIDAD

Reportar:

La diferencia absoluta entre las condiciones

-Para diferencia absoluta se utilizó la formula:

$$|\Delta_x| = X_0 - X_i$$

Donde: $|\Delta x|$ = Diferencia absoluta

X_0 = Condición normal

X_i = Condición diferente

PRECISION DEL SISTEMA

Reportar:

Promedio, Desviación estándar, Coeficiente de variación.

-Para promedio de contenido se utilizó la formula

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

Donde: x: valor de área de pico obtenido en el cromatograma

n: número de mediciones

-Para el cálculo de la Desviación estándar (S) se utiliza la formula:

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

-Para el cálculo del Coeficiente de variación se utilizó la formula:

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

LINEALIDAD DEL SISTEMA

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

- Para el cálculo del Coeficiente de Determinación (r^2) se utilizó la formula:

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

Se completaron los datos de las tablas N°22, N°23, N°24 y se graficaron en Excel, en donde la concentración se le asigno el eje X y el valor de área respuesta obtenida en el cromatograma se le asigno el eje Y.

Tabla N°22 Tabla de resultados para la prueba de Linealidad del sistema.

	X	Y
NIVEL	mg/mL	AREA
50%	0.1500	494265
50%	0.1500	494013
50%	0.1500	493223
80%	0.2400	788442
80%	0.2400	786353
80%	0.2400	784615
100%	0.3000	980600
100%	0.3000	979986
100%	0.3000	979115
120%	0.3600	1184131
120%	0.3600	1180279
120%	0.3600	1191782
150%	0.4500	1478355
150%	0.4500	1481928
150%	0.4500	1479329

Tabla N°23 Resultados para la prueba de linealidad del sistema.

	F(Y/X)		X.Y	X ²	Y ²
	3295100.0		74139.75	0.0225	244297890225.0
	3293420.0		74101.95	0.0225	244048844169.0
	3288153.3		73983.45	0.0225	243268927729.0
	3285175.0		189226.08	0.0576	621640787364.0
	3276470.8		188724.72	0.0576	618351040609.0
	3269229.2		188307.60	0.0576	615620698225.0
	3268666.7		294180.00	0.0900	961576360000.0
	3266620.0		293995.80	0.0900	960372560196.0
	3263716.7		293734.50	0.0900	958666183225.0
	3289252.8		426287.16	0.1296	1402166225161.0
	3278552.8		424900.44	0.1296	1393058517841.0
	3310505.6		429041.52	0.1296	1420344335524.0
	3285233.3		665259.75	0.2025	2185533506025.0
	3293173.3		666867.60	0.2025	2196110597184.0
	3287397.8		665698.05	0.2025	2188414290241.0
PROMEDIO	3283377.8	SUMATORIA	4948448.37	1.5066	16253470763718.0

Tabla N°24 Resultados para la prueba de linealidad del sistema

$\sum xy$	4948448.370
$\sum x$	4.500
$\sum y$	14776416.000
$(\sum x)^2$	20.250
$\sum x^2$	1.507
$(\sum y)^2$	218342469805056.0
$\sum y^2$	16253470763718.0
$-(\bar{x})^2$	0.090
Sb1	10263.91798
Sbo	3252.868635

Con los datos de la tabla N°24 se sustituyeron en las siguientes formulas:

-Para el cálculo del Coeficiente de variación se utilizó la formula:

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

-Para el cálculo de la pendiente:

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

n = Número de mediciones

-Para el cálculo del Intervalo de confianza para la pendiente (β_1) se utilizó la siguiente formula:

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

$$S_{b_1} = S_{\frac{y}{x}} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

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

- Para el cálculo del intercepto:

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

-Para calcular el Intervalo de confianza para el intercepto (b_0) se utilizó la siguiente formula:

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

$$S_{b_0} = S_{\frac{y}{x}} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(\bar{x})^2}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}}$$

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

EXACTITUD

Reportar:

Recobro:

Con el programa Excel se realizó la prueba G de Cochran, para determinar si el factor concentración tiene alguna influencia en la variabilidad de la concentración en todos los niveles de concentración.

Si $G_{exp} < G_{tab}$ las varianzas de las tres concentraciones son equivalentes, o lo que es igual, el factor concentración no influye en la variabilidad de los resultados.

Además, se aplicó la prueba t de Student para demostrar que no existen diferencias significativas entre el valor medio de recobro y el 100%.

Para el cálculo de Linealidad del método: coeficiente de determinación, pendiente, intervalo de confianza de la pendiente e intervalo de confianza del intercepto se realizó de igual forma que la linealidad del sistema.

Para la Precisión: promedio y coeficiente de variación, se precedió como de igual forma que en la precisión del sistema.

ANEXO N°6
CROMATOGRAMAS DE LOS PARAMETROS EVALUADOS

CROMATOGRAMAS DE LOS PARAMETROS EVALUADOS

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD REPORTE DE ANALISIS

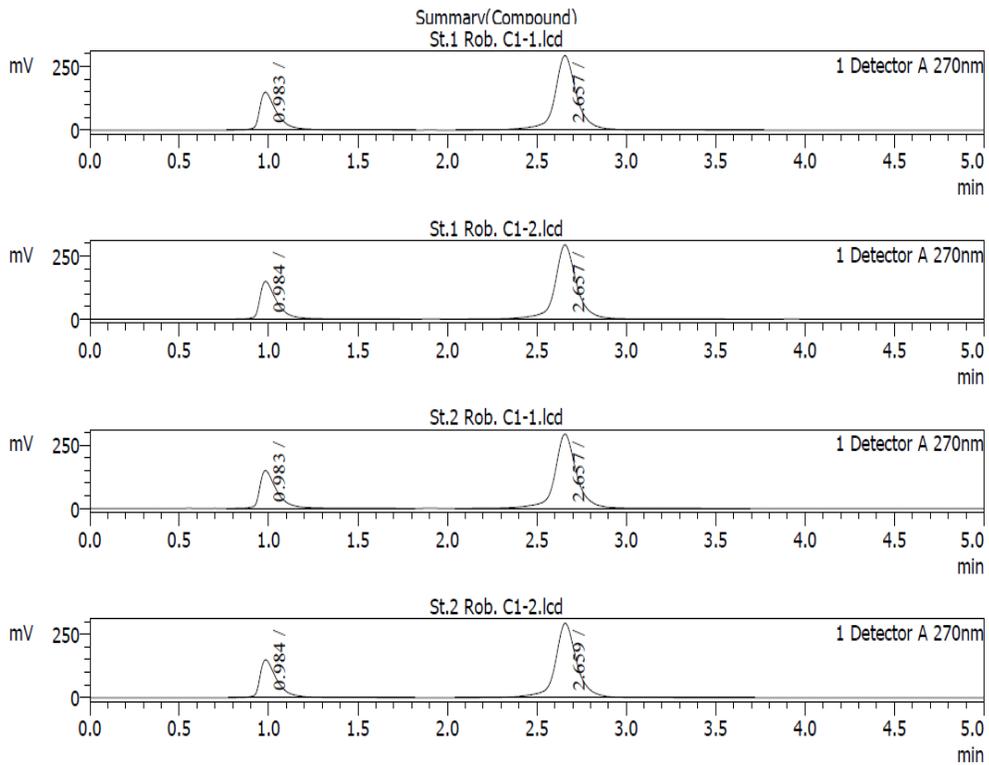
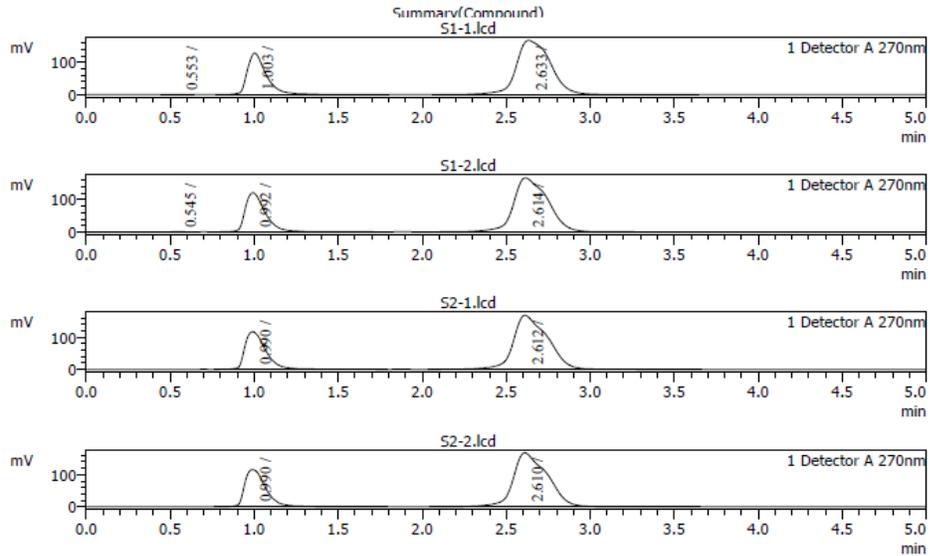


Figura N°11. Cromatograma para prueba de Robustez

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS



<< Detector A >>
 ID#1 Compound Name: Dexketoprofeno

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
S1-1.lcd	S1 Tramadol H	S1-1	2.633	2379627	168814	100.000	804
S1-2.lcd	S1 Tramadol H	S1-2	2.614	2372146	167422	99.843	759
S2-1.lcd	S2 Tramadol H	S2-1	2.612	2374789	168134	99.969	733
S2-2.lcd	S2 Tramadol H	S2-2	2.610	2374657	168502	99.973	728
Average			2.617	2375305	168218	99.946	756
%RSD			0.412	0.132	0.356	0.070	4.603
Maximum			2.633	2379627	168814	100.000	804
Minimum			2.610	2372146	167422	99.843	728
Standard Deviation			0.011	3128	599	0.070	35

Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
1.211	5.774	8535.13	19.78
1.214	5.522	8674.04	19.30
1.245	5.357	6830.70	24.61
1.257	5.328	7144.86	23.58
1.232	5.495	7796.18	21.82
1.855	3.724	12.108	12.249
1.257	5.774	8674.04	24.61
1.211	5.328	6830.70	19.30
0.023	0.205	943.94	2.67

Figura N°12. Cromatograma para prueba de Estabilidad.

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
REPORTE DE ANALISIS

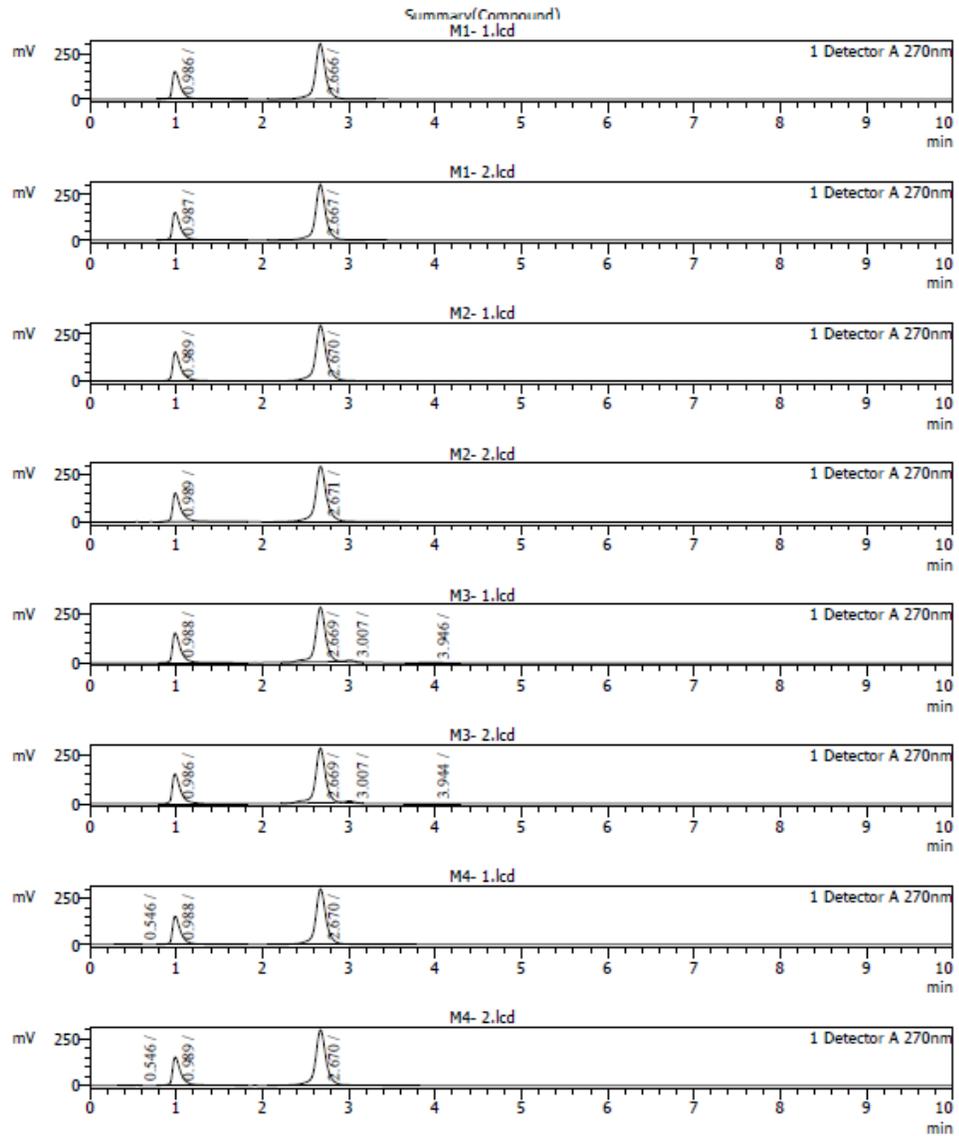


Figura N°13. Cromatograma de la muestra para el parámetro de selectividad

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
REPORTE DE ANALISIS

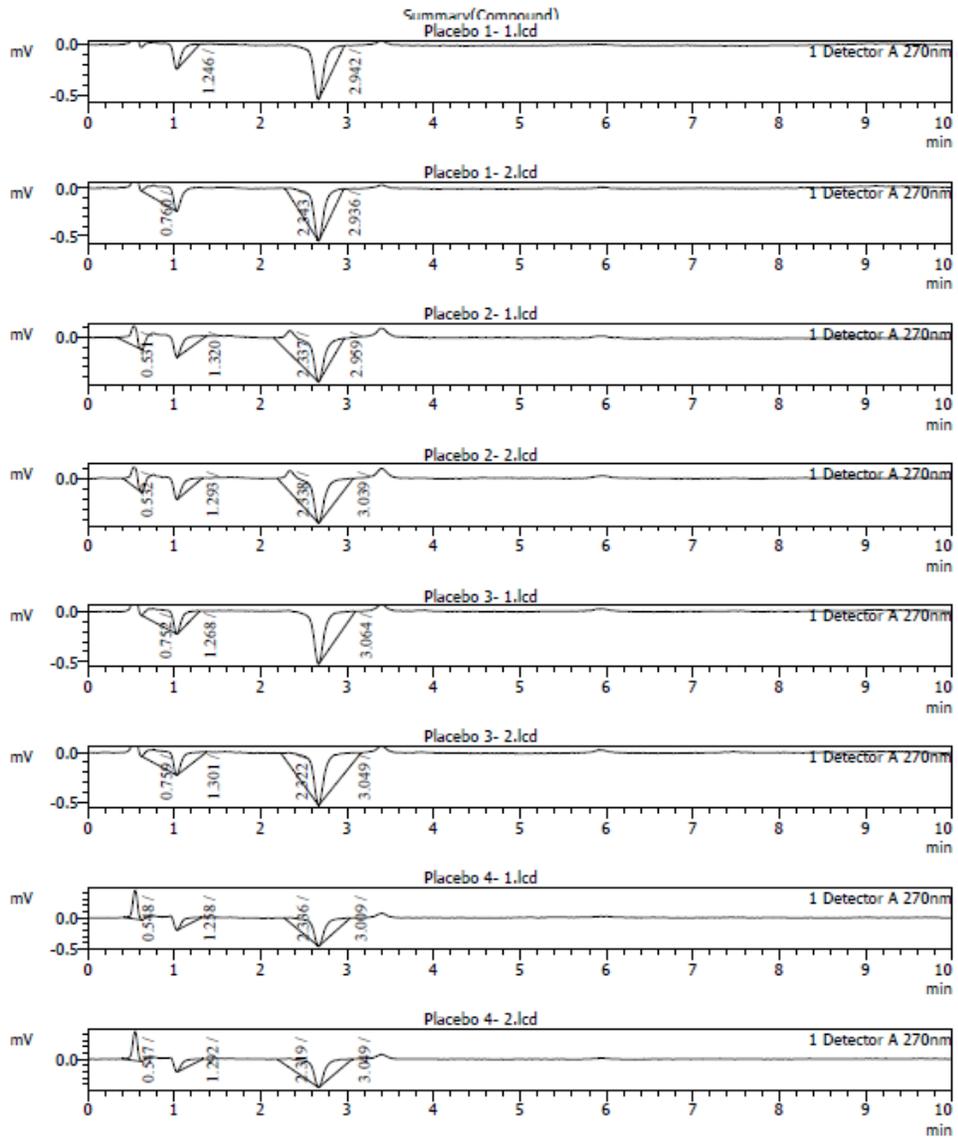
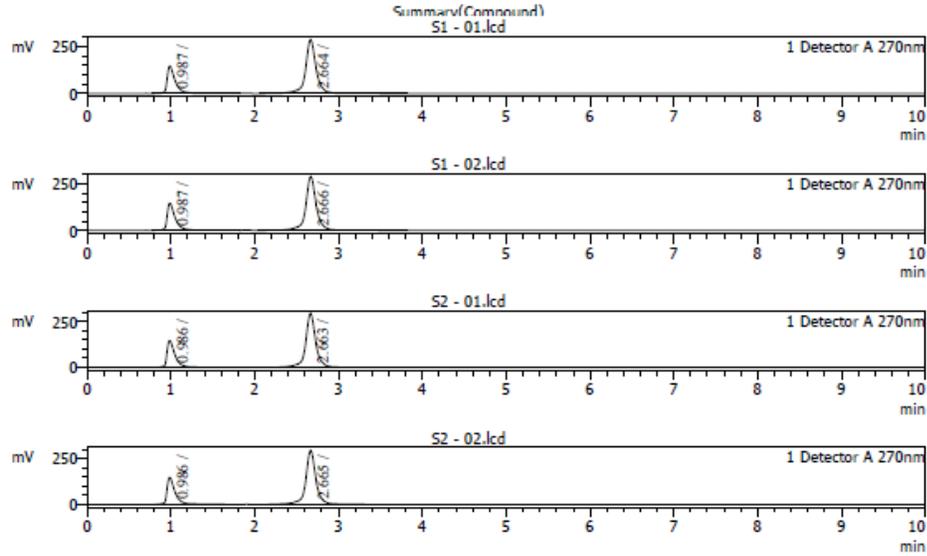


Figura N°14. Cromatograma del placebo para el parámetro de selectividad

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS**



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Tramadol HCl

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
S1 - 01.lcd	S1 Tramadol HI	S1 - 01	0.987	980939	146121	100.000	628
S1 - 02.lcd	S1 Tramadol HI	S1 - 02	0.987	982584	145959	100.084	625
S2 - 01.lcd	S2 Tramadol HI	S2 - 01	0.986	968638	146608	99.105	622
S2 - 02.lcd	S2 Tramadol HI	S2 - 02	0.986	969285	146775	99.377	623
Average			0.987	975361	146366	99.641	624
%RSD			0.098	0.761	0.265	0.479	0.409
Maximum			0.987	982584	146775	100.084	628
Minimum			0.986	968638	145959	99.105	622
Standard Deviation			0.001	7425	388	0.477	3

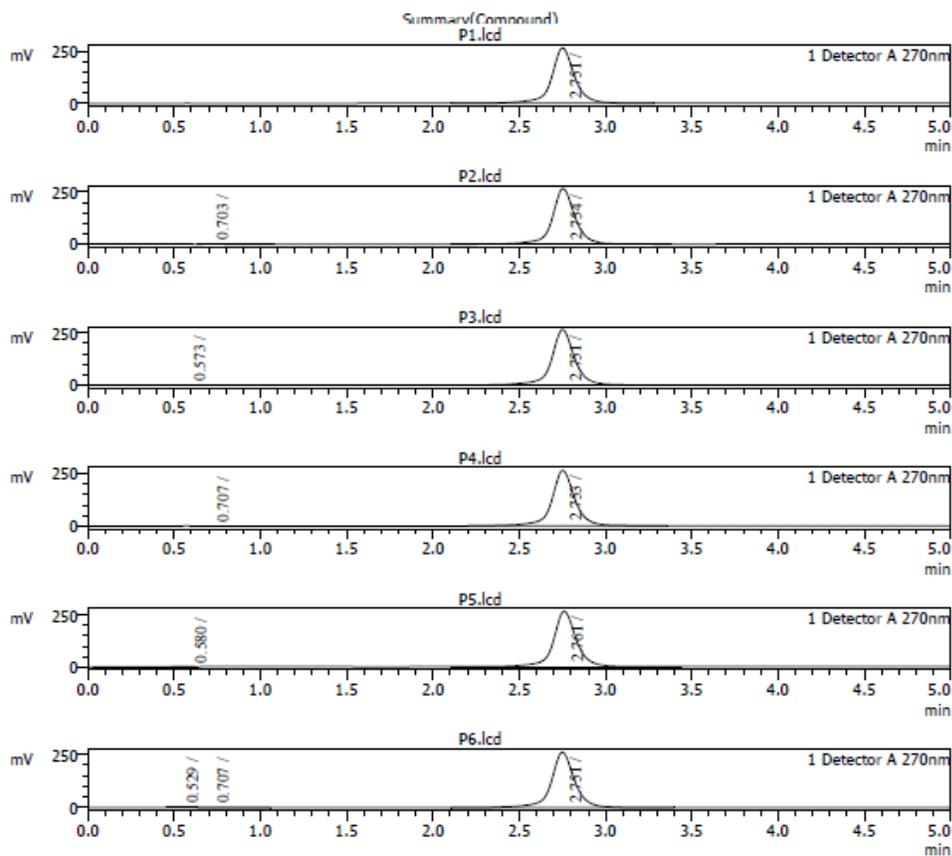
Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
1.821	--	11545.27	12.66
1.827	--	12449.91	11.72
1.821	--	11252.62	13.03
1.821	--	11680.81	12.57
1.823	--	11732.16	12.49
0.154	0.000	4.354	4.410
1.827	--	12449.91	13.03
1.821	--	11252.62	11.72
0.003	--	510.78	0.55

ID#2 Compound Name: Dexketonorfeno

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
S1 - 01.lcd	S1 Tramadol HI	S1 - 01	2.664	2520972	288152	100.000	2792
S1 - 02.lcd	S1 Tramadol HI	S1 - 02	2.666	2521876	288603	100.018	2799
S2 - 01.lcd	S2 Tramadol HI	S2 - 01	2.663	2477259	293619	98.825	2950
S2 - 02.lcd	S2 Tramadol HI	S2 - 02	2.665	2476796	294438	99.103	2963
Average			2.664	2499226	291203	99.486	2876
%RSD			0.044	1.026	1.128	0.617	3.238
Maximum			2.666	2521876	294438	100.018	2963
Minimum			2.663	2476796	288152	98.825	2792
Standard Deviation			0.001	25636	3285	0.614	93

Figura N°15. Cromatograma de la muestra para el parámetro de selectividad

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD REPORTE DE ANALISIS



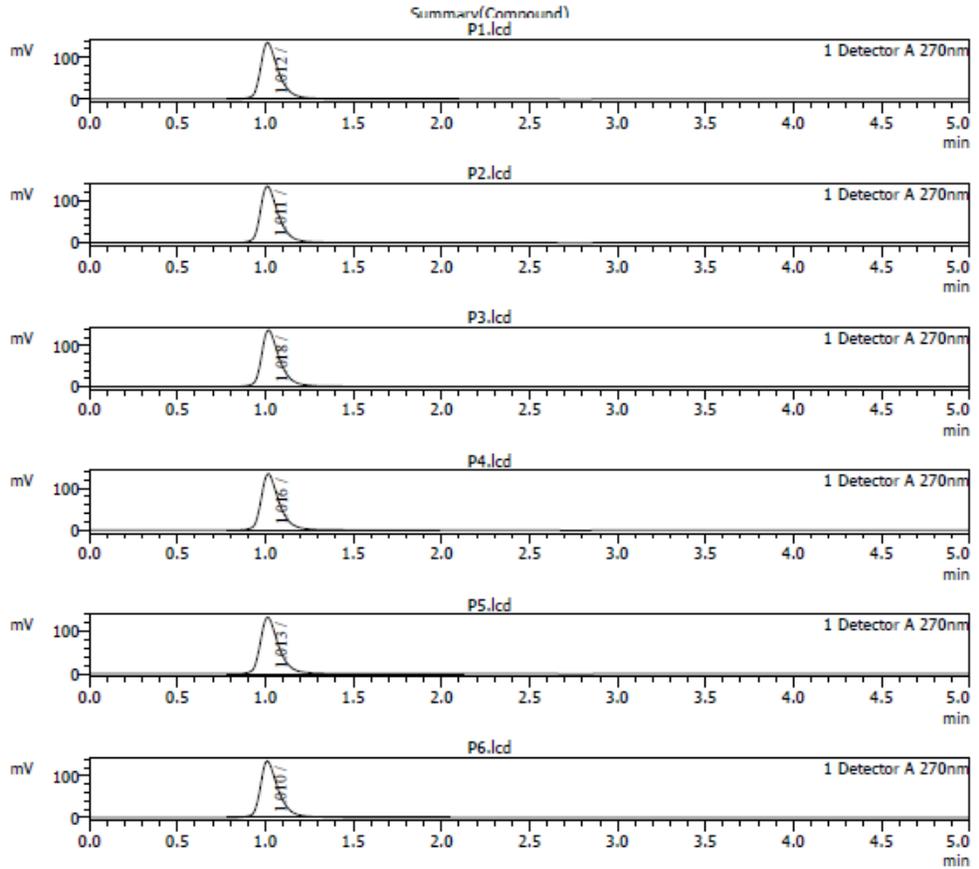
<< Detector A >>
 ID#1 Compound Name: Dexketoprofeno

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
P1.lcd	Precision 1	P1	2.751	2464376	264394	99.325	2500
P2.lcd	Precision 2	P2	2.754	2470924	265582	99.589	2496
P3.lcd	Precision 3	P3	2.751	2471079	264087	99.595	2488
P4.lcd	Precision 4	P4	2.753	2465319	264508	99.363	2498
P5.lcd	Precision 5	P5	2.761	2491895	268122	100.435	2521
P6.lcd	Precision 6	P6	2.751	2473811	261172	99.706	2406
Average			2.754	2472901	264644	99.669	2485
%RSD			0.141	0.404	0.852	0.404	1.623
Maximum			2.761	2491895	268122	100.435	2521
Minimum			2.751	2464376	261172	99.325	2406
Standard Deviation			0.004	9990	2255	0.403	40

Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
0.982	-	3244.60	81.49
0.999	6.725	4175.52	63.60
0.982	13.538	4668.85	56.56
0.989	6.347	5964.65	44.35
1.011	13.026	4167.55	27.84

Figura N°16. Cromatograma de prueba de Precisión del sistema para Dexketoprofeno

**DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS**



<< Detector A >>
 ID#1 Compound Name: Tramadol HCl

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
P1.lcd	Precision 1	P1	1.012	978423	134819	99.922	529
P2.lcd	Precision 2	P2	1.011	979707	133467	100.053	510
P3.lcd	Precision 3	P3	1.018	988766	137587	100.978	541
P4.lcd	Precision 4	P4	1.016	979745	135052	100.057	528
P5.lcd	Precision 5	P5	1.013	979848	132816	100.068	505
P6.lcd	Precision 6	P6	1.010	976431	135507	99.719	535
Average			1.013	980487	134874	100.133	534
%RSD			0.286	0.435	1.241	0.435	2.703
Maximum			1.018	988766	137587	100.978	541
Minimum			1.010	976431	132816	99.719	505
Standard Deviation			0.003	4262	1674	0.435	14

Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
1.502	--	1868.23	72.16
1.484	--	1862.00	71.68
1.506	--	1861.70	73.90
1.459	--	1913.09	70.59
1.442	--	1584.11	83.84

Figura N°17. Cromatograma de prueba de Precisión del sistema para Tramadol

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
REPORTE DE ANALISIS

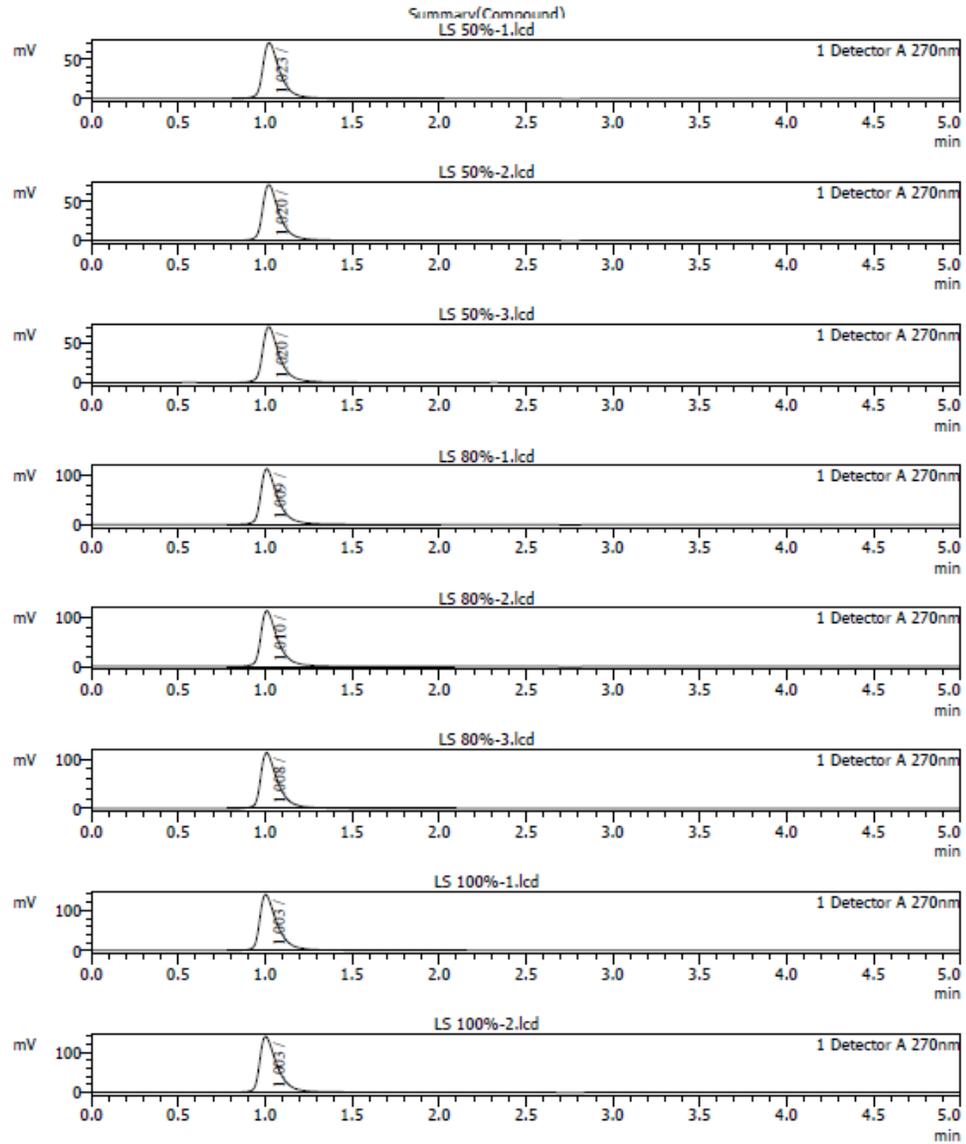


Figura N°18. Cromatograma para la prueba de linealidad del sistema para Tramadol

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
REPORTE DE ANALISIS

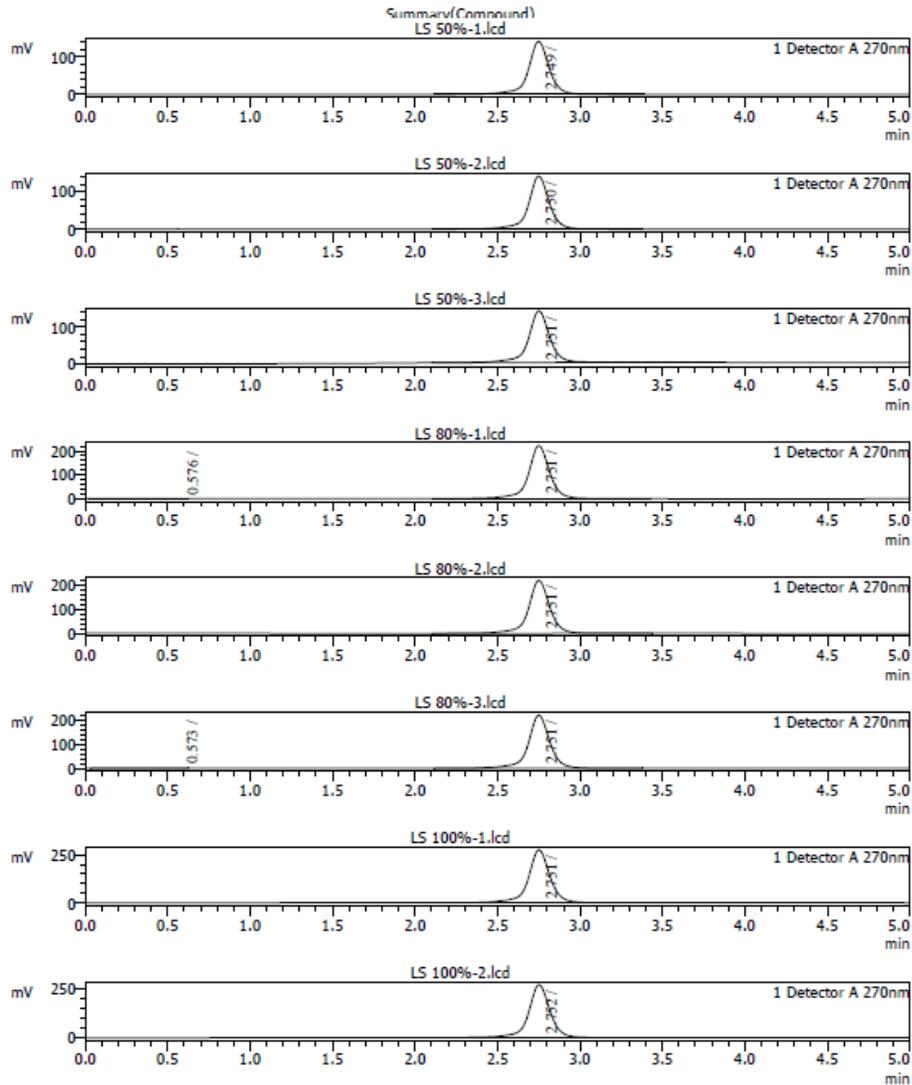
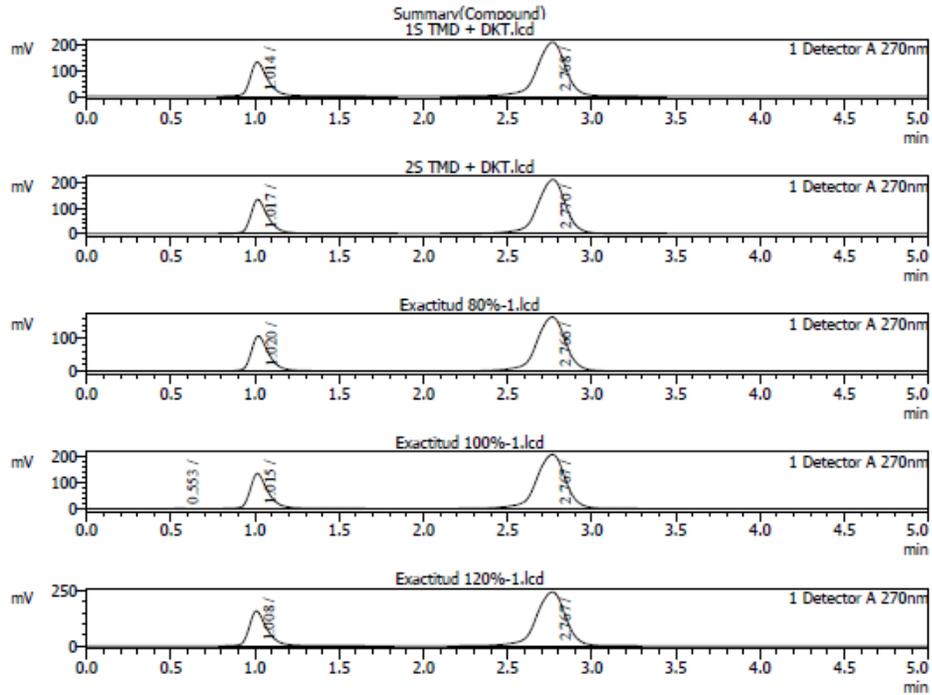


Figura N°19. Cromatograma para la prueba de linealidad del sistema para Dexketoprofeno

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS



<< Detector A >>

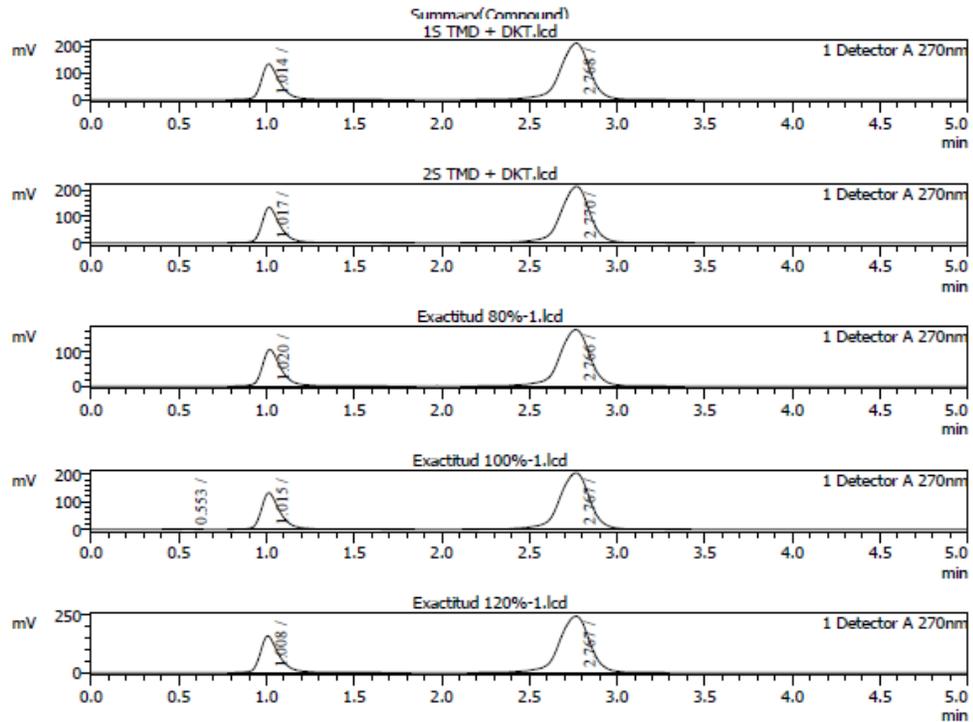
ID#1 Compound Name: Dexketoprofeno

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
15 TMD + DKT.lcd	15 Tramadol.H	15 Tramadol.H	2.768	2479180	210407	100.000	1373
25 TMD + DKT.lcd	25 Tramadol.H	25 Tramadol.H	2.770	2485130	212962	100.121	1395
Exactitud 80%-1.lcd	Exactitud 80%	Exactitud 80%	2.766	1976199	163972	79.615	1284
Exactitud 100%-1.lcd	Exactitud 100%	Exactitud 100%	2.767	2472020	204781	99.590	1284
Exactitud 120%-1.lcd	Exactitud 120%	Exactitud 120%	2.767	2989568	245955	120.441	1284
Average			2.768	2480421	207615	99.954	1322
%RSD			0.051	14.446	14.082	14.442	4.475
Maximum			2.770	2989568	245955	120.441	1395
Minimum			2.766	1976199	163972	79.615	1284
Standard Deviation			0.001	358317	29257	14.436	59

Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
0.887	7.341	9917.03	21.22
0.896	7.398	10080.61	21.13
0.901	7.150	7502.24	21.86
0.896	7.164	7337.25	27.91
0.900	7.138	7220.28	34.06
0.896	7.238	8411.48	25.23
0.623	1.684	17.282	22.553
0.901	7.398	10080.61	34.06
0.887	7.138	7220.28	21.13
0.006	0.122	1453.64	5.69

Figura N°20. Cromatograma para prueba de exactitud para Dexketoprofeno

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS



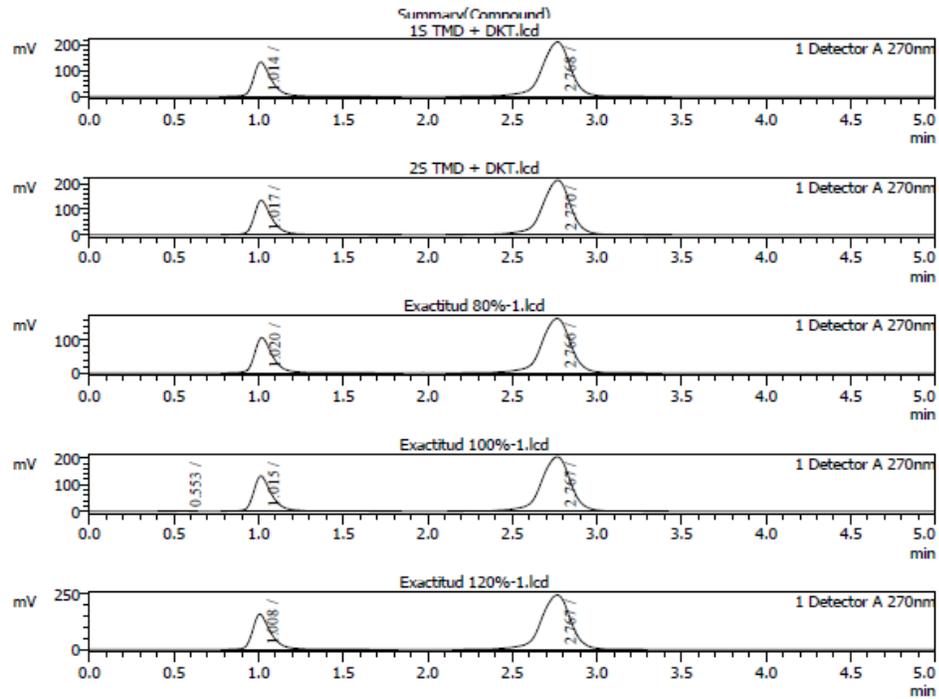
<< Detector A >>
 ID#1 Compound Name: Tramadol HCl

Title	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
1S TMD + DKT.lcd	1S Tramadol H	1S Tramadol H	1.014	975722	133039	100.000	513
2S TMD + DKT.lcd	2S Tramadol H	2S Tramadol H	1.017	977294	134654	100.080	527
Exactitud 80%-1.lcd	Exactitud 80%	Exactitud 80%	1.020	784033	106159	80.289	507
Exactitud 100%-1.lcd	Exactitud 100%	Exactitud 100%	1.015	976458	132760	99.995	508
Exactitud 120%-1.lcd	Exactitud 120%	Exactitud 120%	1.008	1178400	159889	120.675	499
Average			1.015	978381	133300	100.208	511
%RSD			0.425	14.254	14.263	14.251	2.008
Maximum			1.020	1178400	159889	120.675	527
Minimum			1.008	784033	106159	80.289	499
Standard Deviation			0.004	139455	19012	14.281	10

Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
1.419	--	6270.49	21.22
1.432	--	6373.88	21.13
1.407	--	4857.12	21.86
1.420	2.907	4756.76	27.91
1.454	--	4693.72	34.06
1.427	2.907	5390.40	25.23
1.253	0.000	15.832	22.553
1.454	2.907	6373.88	34.06
1.407	2.907	4693.72	21.13
0.018	--	853.38	5.69

Figura N°21. Cromatograma para prueba de exactitud para Tramadol

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
 REPORTE DE ANALISIS



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: Tramadol HCl

Table	Sample Name	Sample ID	Ret. Time	Area	Height	Conc.	Theoretical
15 TMD + DKT.lcd	15 Tramadol HCl	15 Tramadol HCl	1.014	975722	133039	100.000	513
25 TMD + DKT.lcd	25 Tramadol HCl	25 Tramadol HCl	1.017	977294	134654	100.080	527
Exactitud 80%-1.lcd	Exactitud 80%	Exactitud 80%	1.020	784033	106159	80.289	507
Exactitud 100%-1.lcd	Exactitud 100%	Exactitud 100%	1.015	976458	132760	99.995	508
Exactitud 120%-1.lcd	Exactitud 120%	Exactitud 120%	1.008	1178400	159889	120.675	499
Average			1.015	978381	133300	100.208	511
%RSD			0.425	14.254	14.263	14.251	2.008
Maximum			1.020	1178400	159889	120.675	527
Minimum			1.008	784033	106159	80.289	499
Standard Deviation			0.004	139455	19012	14.281	10

Tailing Factor	Resolution(USP2)	S/N	Noise
1.419	--	6270.49	21.22
1.432	--	6373.88	21.13
1.407	--	4857.12	21.86
1.420	2.907	4756.76	27.91
1.454	--	4693.72	34.06
1.427	2.907	5390.40	25.23
1.253	0.000	15.832	22.553
1.454	2.907	6373.88	34.06
1.407	2.907	4693.72	21.13
0.018	--	853.38	5.69

Figura N°22. Cromatograma de prueba de precisión de analista 1

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD
REPORTE DE ANALISIS

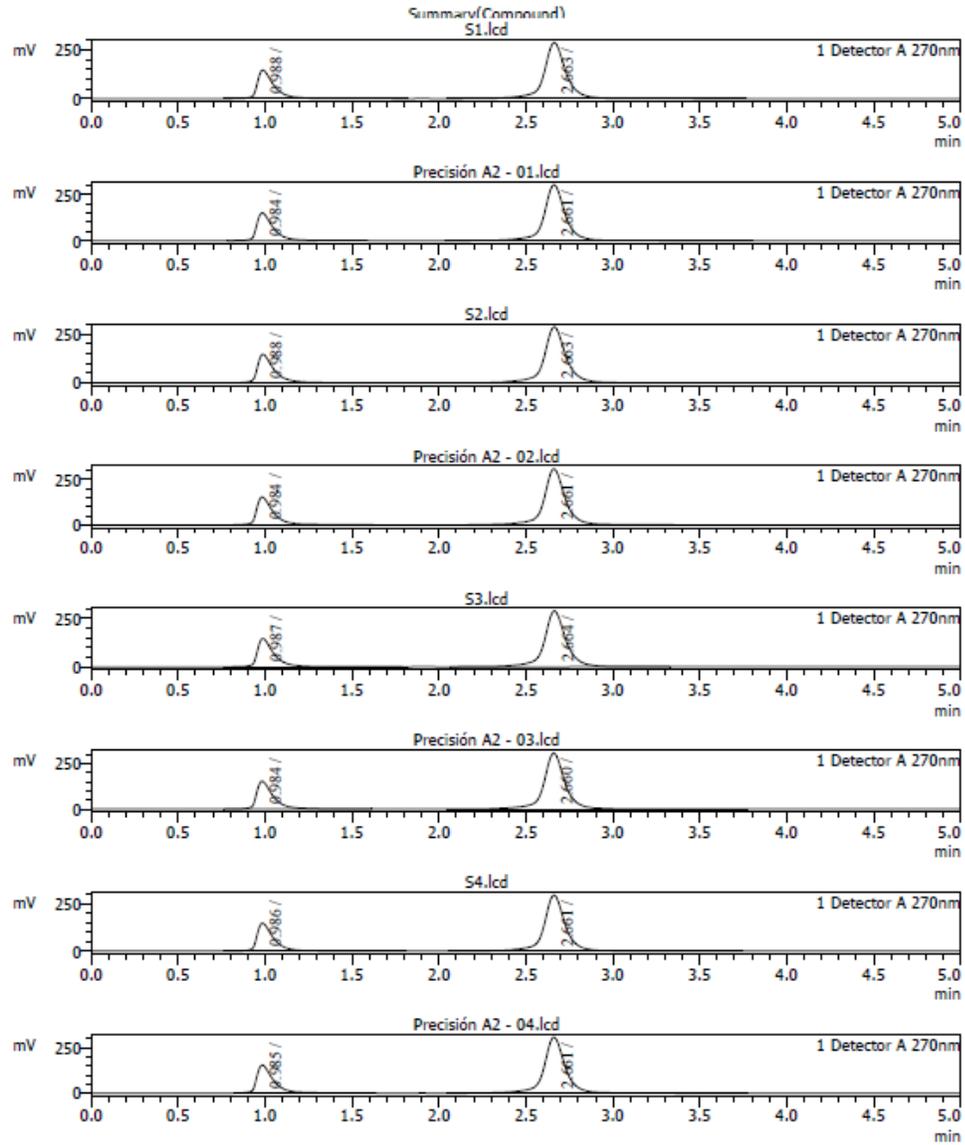


Figura N°23. Cromatograma de prueba de precisión de analista 2

ANEXO N°7
CERTIFICADOS DE ANALISIS DE MATERIA PRIMA

Certificado de análisis de Tramadol HCl



SUPRIYA LIFESCIENCE LTD.
Creating true values that bind global health

Certificate of analysis

Product	: Tramadol hydrochloride USP	License No.	: KD-129
Batch No.	: SLL/TDM/0417004	Date of Manufacturing	: April -2017
Batch Qty.	: 1001.0 kg	Date of re-test/Expiry	: March -2022
A. R. No.	: SLL/QC/FP/17/0317	Date of Release	: 29/04/2017

S.No.	Test	Specifications	Results
1.	Description	White crystalline powder.	A white crystalline powder.
2.	Solubility	Freely soluble in water and in methanol, very slightly soluble in acetone.	Conforms
3.	Identification:		
	A. IR Absorption	The infra red absorption spectrum should be concordant with the reference spectrum of Tramadol hydrochloride.	Positive
	B. Reaction of chloride	White precipitate formed.	Positive
4.	Assay by HPLC (on anhydrous basis) (% w/w)	98.0 – 102.0	99.74
5.	Inorganic Impurities		
	i. Residue on ignition (% w/w)	Not more than 0.1	0.05
	iii. Content of chloride (% w/w)	11.6 - 12.1	11.66
6.	Organic Impurities		
	Procedure 1 by TLC: Limit of Tramadol related compound B (%)	Any secondary spot from the sample solution corresponding to tramadol related compound B should be not more intense than a corresponding spot from std solution.(NMT 0.2)	Positive

QA/011/F03-02 / Effective date 05/08/2015

Page 1 of 2

Corporate Office : 207/208, Udyog Bhavan, Sonawala Road, Goregaon (East), Mumbai 400 063. Maharashtra, India.
Tel : +91 22 40332727 / 66942507 | Fax : +91 22 26860011
CIN: U51900MH2008PLC180452

Factory : A-5/2, Lote Parshuram Industrial Area, M.I.D.C., Tal.- Khed, Dist.- Ratnagiri, Pin: 415 722, Maharashtra, India.
Tel: +91 2356 272299 | Fax : +91 2356 272178

GOVT. RECOGNISED EXPORT HOUSE



Certificate of analysis

Product	: Tramadol hydrochloride USP	License No.	: KD-129
Batch No.	: SLL/TDM/0417004	Date of Manufacturing	: April -2017
Batch Qty.	: 1001.0 kg	Date of re-test/Expiry	: March -2022
A. R. No.	: SLL/QC/FP/17/0317	Date of Release	: 29/04/2017

S.No.	Test	Specifications	Results
	Procedure 2 by HPLC (%)		
	i. Tramadol related compound A	Not more than 0.2	BDL
	ii. Individual impurity	Not more than 0.10	0.06
	iii. Total impurities	Not more than 0.4	0.17
7.	Water determination (% w/w)	Not more than 0.5	0.19
8.	Acidity (ml)	Not more than 0.4ml of 0.01N Sodium Hydroxide required.	0.3
9.	Additional Test:		
	Residual Solvents by GC-HS (ppm)		
	i. Cyclohexane	Not more than 3880	BDL
	ii. Isopropyl Alcohol	Not more than 5000	392
	iii. Toluene	Not more than 890	8
	iv. Tetra hydro furan	Not more than 720	BDL

Remarks: The product is complies with respect to above mentioned test as per USP 38 specifications.

Storage: Preserve in tight containers, and store at controlled room temperature.

 Compiled by QC QC Chemist (S.D.Ambre)	 Checked by QC QC Executive (D.D.Jadhav)	 Approved by QC QC Asst. Manager (S.K. Agre)
--	--	--

QA/011/F03-02 / Effective date 05/08/2015



Corporate Office : 207/208, Udyog Bhavan, Sonawala Road, Goregaon (East), Mumbai 400 063. Maharashtra, India.
Tel : +91 22 40332727 / 66942507 | Fax : +91 22 26860011
CIN: U51900MH2008PLC180452

Factory : A-5/2, Lote Parshuram Industrial Area, M.I.D.C., Tal.- Khed, Dist.- Ratnagiri, Pin: 415 722, Maharashtra, India.
Tel: +91 2356 272299 | Fax : +91 2356 272178

GOVT. RECOGNISED EXPORT HOUSE

Certificado de análisis del Dexketoprofeno Trometamol

Certificate of Analysis

Huangshi Shixing Pharmaceutical Co., Ltd.

Address: No.73 East Jinshan Road, Huangjinshan Development Zone Huangshi, Hubei, P.R. China.

Fax: +86 714 3184000

The product name		Dexketoprofen Trometamol	
Batch No.	C05-201903004	Inspection Basis	In-house
Producing Date	Mar. 22, 2019	Retest Date	Mar. 21, 2021
Packing	25kg/drum	Amount	215.06kg
The items and results of Inspection			
Items	Specification	Test results	
Appearance	A white crystalline powder with pungent odor.	Conforms	
Solubility	Freely soluble in water and in methanol, insoluble in ethyl ether.	Conforms	
Specific optical rotation	+56.0° ~ +60.0°	+57.7°	
Identification			
-Chemical identification (1)	Positive reaction	Conforms	
-Chemical identification (2)	Positive reaction	Conforms	
-IR absorption	Corresponds to RS.	Conforms	
-UV absorption	425 ~ 451	431	
pH	5.5 ~ 7.0	6.3	
Related substances (HPLC)			
-Any individual impurity	≤ 0.10%	0.024%	
-Total impurities	≤ 1.0%	0.092%	
Octylglucamine	≤ 0.1%	<0.1%	
Levoketoprofen	≤ 2.0%	1.0%	
Loss on drying	≤ 0.5%	0.06%	
Residue on ignition	≤ 0.1%	0.04%	
Heavy metals	≤ 10 ppm	Conforms	
Assay (titration, on dried substance)	98.5%~101.0%	99.4%	
Additional test:			
Residual solvent (GC)			
-Ethanol	≤ 5000 ppm	N.D.	
-Ethyl acetate	≤ 5000 ppm	250 ppm	
Conclusion		Analysis according to In-house standard, Conforms.	
Reported by	 2019.04.11	Reviewed by	 2019.04.11
		Approved by	 2019.04.11

