

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Validación de metodología analítica para la cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por Geisel Patricia Cerón Vargas para optar al grado académico de Licenciada en Química

Guatemala,

2025

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades




Validación de metodología analítica para la cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Trabajo de graduación en modalidad de tesis presentado por
Geisel Patricia Cerón Vargas para optar al grado académico de
Licenciada en Química

Guatemala,

2025

Vo. Bo. :

(f) 
Msc. Ingrid Yurrita Pocasangre
Asesor

Tribunal Examinador:

(f) 
Msc. Ingrid Yurrita Pocasangre
Asesor

(f) 
Msc. Isis Aracely López Cifuentes

(f) 
MA. Irma Patricia Orellana Catalán
Directora
Departamento de Química

Fecha de aprobación: Guatemala, 5 de junio de 2025

PREFACIO

Deseo agradecer a todas las personas que me apoyaron durante el proceso de la realización de esta tesis, así como a quienes me acompañaron durante mi etapa universitaria. Su apoyo, tanto académico como personal, ha sido clave para llegar hasta aquí.

A mi pareja, Rodrigo Soley, por su apoyo incondicional, comprensión y compañía. Su paciencia y ánimo fue fundamental para seguir adelante en los momentos difíciles.

A mis padres, Carlos Cerón y Brenda Vargas, por su apoyo, confianza e inculcarme valores como el amor por el estudio. Gracias por estar siempre presentes sin importar la distancia.

A mi asesora, Ingrid Yurrita, por compartir su conocimiento y guiarme a lo largo de este proceso.

A mi jefa, Aura Osorio, por su apoyo constante y permitirme equilibrar mis responsabilidades laborales y estudiantiles.

Finalmente agradezco a todas las personas quienes de forma directa o indirecta contribuyeron con reflexiones durante este proceso.

ÍNDICE

RESUMEN.....	vii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
A. General.....	2
B. Específicos	2
III. JUSTIFICACIÓN	3
IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS.....	5
A. Pregunta de investigación	5
B. Hipótesis.....	5
V. MARCO TEÓRICO.....	6
A. Principios básicos de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).....	6
1. Componentes del sistema.....	6
2. Parámetros operativos:.....	7
B. Disolución	7
C. Validación	8
1. Exactitud	8
2. Precisión	8
3. Especificidad.....	8
4. Robustez	8
D. Dexketoprofeno trometamol	9
1. Propiedades farmacocinéticas.....	9
2. Indicaciones terapéuticas	9
E. Tramadol HCl.....	9
1. Propiedades farmacocinéticas.....	9
F. Normativas de validación de métodos analíticos:	10

1.	ICH (International conference on Harmonization)	10
2.	FDA (Food and Drug administration).....	10
3.	USP (United States Pharmacopeia)	10
4.	RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano)	10
5.	Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI)	11
VI.	METODOLOGÍA	12
A.	Condiciones cromatográficas	12
B.	Preparación de Soluciones	12
C.	Método de análisis para valoración.....	13
D.	Aptitud del sistema valoración.....	14
E.	Especificidad Valoración	14
F.	Linealidad del sistema valoración.....	17
G.	Linealidad del método valoración:.....	18
H.	Exactitud	19
I.	Precisión.....	19
J.	Repetibilidad	19
K.	Precisión intermedia Valoración.....	20
L.	Robustez.....	20
M.	Método de análisis de disolución	21
N.	Aptitud del sistema.....	22
O.	Especificidad	22
P.	Linealidad del sistema.....	25
Q.	Linealidad del método:.....	26
R.	Precisión.....	27
S.	Repetibilidad	27
T.	Precisión intermedia.....	28
VII.	RESULTADOS.....	29

VIII.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	39
IX.	CONCLUSIONES	43
X.	RECOMENDACIONES	44
XI.	BIBLIOGRAFÍA.....	45
XII.	ANEXOS.	47

RESUMEN

En esta tesis se llevó a cabo la validación de un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para los análisis de cuantificación y disolución simultánea de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos. Ambos compuestos cumplen un factor clave en el tratamiento de dolor moderado a severo por lo cual contar con un método de análisis válido, confiable y preciso el cual permita su análisis simultáneo es fundamental para el control de calidad de dicho medicamento.

La validación se llevó a cabo evaluando los lineamientos establecidos por las normativas USP <1225,1226>, el reglamento técnico centroamericano (RTCA) y la guía ICHQ2(R1), los cuales fueron realizados en un equipo de cromatografía líquida de alta resolución HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm). Los parámetros evaluados fueron adecuabilidad del sistema, linealidad del método, linealidad del sistema, especificidad, intervalo de concentración, exactitud y precisión (repetibilidad y precisión intermedia). Además, se evaluó la robustez del método a cambios ligeros en la temperatura, flujo y longitud de onda.

Los principales resultados fueron el cumplimiento de todos los parámetros tanto para el análisis de cuantificación como para el análisis de disolución de ambos principios activos, finalmente el análisis de robustez mostró que el método es robusto para cambios en el flujo, sin embargo, no lo es en cuanto a cambios de temperatura y longitud de onda. Se concluyó que el método propuesto es válido para los análisis de cuantificación y disolución simultánea de dexketoprofeno y tramadol HCl y es robusto a variaciones ligeras en el flujo.

El método validado demostró ser eficaz para su aplicación en laboratorios de control de calidad ya que permite realizar análisis de cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl simultáneamente. La implementación de este método facilita los monitoreos rutinarios de comprimidos con dichos compuestos activos lo cual tiene un impacto beneficioso para la industria farmacéutica al optimizar recursos, reduciendo tiempo de análisis y gasto de reactivos en comparación con la realización de métodos individuales para cada compuesto

I. INTRODUCCIÓN

La validación de métodos analíticos es un proceso fundamental para la industria farmacéutica ya que con este se garantiza la confiabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos el análisis de control de calidad de los medicamentos. Este proceso es crucial para cumplir con las regulaciones internacionales y asegurar que los productos farmacéuticos son seguros, eficaces y que mantienen el estándar de calidad requerido por las autoridades regulatorias pertinentes. Este requerimiento no es solo una exigencia legal, sino también es una herramienta fundamental para que los laboratorios de control de calidad de medicamentos se aseguren que los productos cumplen con las expectativas medicinales y sanitarias de los consumidores.

En esta tesis se validó un método de análisis basado en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la cuantificación y disolución simultánea de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos. El método fue validado siguiendo los requerimientos establecidos por la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), específicamente en los Capítulos 1225 y 1226, los cuales establecen los criterios de aceptación para la validación métodos de cuantificación y disolución respectivamente. Estas normativas exigen la evaluación de parámetros como especificidad, linealidad, precisión, exactitud, robustez y aptitud del sistema, entre otros. De igual manera, se siguieron los lineamientos establecidos por la normativa del Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA), que establece los requisitos técnicos para los medicamentos en la región, y la guía ICH Q2(R1), la cual homogeniza los criterios de validación a nivel internacional.

El dexketoprofeno y el tramadol HCl son utilizados comúnmente para el alivio del dolor moderado a severo. La combinación de ambos medicamentos en un comprimido es beneficioso para su aplicación debido al alivio rápido proporcionado por el dexketoprofeno y la prolongación del efecto sedante aportado por el tramadol HCl. La validación de este método analítico permitirá demostrar la capacidad de este para separar y cuantificar de manera precisa ambos analitos, además se incluirá la prueba de disolución la cual es crítica para asegurar la biodisponibilidad del medicamento una vez consumido, asegurando de esta manera que los principios activos se liberen adecuadamente en el organismo.

II. OBJETIVOS

A. General

Validar un método analítico para la cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl, en comprimidos recubiertos, utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

B. Específicos

1. Validar el método analítico empleado con la finalidad de verificar el cumplimiento de las regulaciones internacionales (ICH, USP, RTCA) evaluando precisión, exactitud, linealidad y repetibilidad.
2. Determinar la robustez del método desarrollado ante la variación de longitud de onda, temperatura y flujo en el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).
3. Validar la especificidad del método para cuantificar los analitos dexketoprofeno y tramadol HCl ante la presencia de posibles interferentes como excipientes añadidos en las tabletas.

III. JUSTIFICACIÓN

La validación de los métodos analíticos es sumamente relevante para la industria farmacéutica demostrando así que los procedimientos utilizados son confiables y válidos. Según las buenas prácticas de laboratorio (BPM) establecidas por la OMS, este es un paso primordial para demostrar que los procedimientos utilizados son aptos para el análisis del fármaco (OMS, 2010).

La combinación de los analgésicos dexketoprofeno y tramadol HCl ha demostrado tener un impacto positivo para el tratamiento de dolor moderado a intenso gracias a la acción rápida de alivio de dolor proporcionada por el Dexketoprofeno y a la larga duración del efecto proporcionada por el Tramadol. Siendo así un medicamento efectivo para tratar las dolencias de enfermedades crónicas (Moore et al., 2016).

La necesidad en Guatemala de este tipo de medicamentos analgésicos es elevada. Estudios realizados en 2017 en una comunidad rural de Guatemala demuestran que al menos un 9.2 % de las personas sufren de dolores crónicos frecuentemente en las rodillas, cabeza y espalda (García et al, 2017). También se han recibido constantes denuncias de la falta de cuidados paliativos para pacientes con cáncer, VIH/Sida, etc (Human Rights Watch, 2017).

El comprimido recubierto analizado por el método propuesto cumple un factor fundamental para el ámbito de la medicina ya que al combinar dexketoprofeno y tramadol HCl proporciona un alivio eficaz, rápido y prolongado para pacientes con dolores graves y crónicos. Dada la importancia terapéutica de este medicamento, la validación de un método de análisis eficaz es de suma importancia para garantizar la calidad, seguridad y el correcto funcionamiento del fármaco. A través de esta validación se busca asegurar que el método de análisis sea preciso, reproducible y adecuado para la cuantificación de los principios activos del comprimido, cumpliendo las regulaciones y normativas de entidades regulatorias como la ICH, RTCA, AEFI, FDA y USP

Para validar un método analítico en conformidad con normativas vigentes, como la FDA, se debe abarcar no solo la cuantificación de los principios activos del comprimido, sino también un parámetro como la prueba de disolución, ya que esta es un aspecto clave para comprobar la validez del método analítico. La prueba de disolución de un comprimido es un factor determinante en la biodisponibilidad del medicamento, ya que influye directamente en la absorción de dicho fármaco en nuestro organismo, al validar el método de disolución se garantiza que el comprimido recubierto liberará los principios activos correctamente en el tiempo esperado, asegurando así la acción

terapéutica deseada. Este análisis también asegura que no habrá variaciones en la calidad y eficacia del producto siguiendo conformidades establecidas por entidades de salud y farmacopeas (FDA, 1997; Farmacopea de los Estados Unidos de América, 2024).

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN E HIPÓTESIS

A. Pregunta de investigación

¿Cómo validar un método analítico para la cuantificación y disolución simultánea de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos según los criterios de validación de la RTCA por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)?

B. Hipótesis

El método analítico propuesto por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la cuantificación y disolución simultánea de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos cumple con los parámetros establecidos de validación de la RTCA

V. MARCO TEÓRICO

A. Principios básicos de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), por sus siglas en inglés es una técnica de análisis la cual permite separar, identificar y cuantificar los componentes de una mezcla. El principio de esta técnica se basa en la diferencia de velocidades de migración de los componentes al ser arrastrados por una fase móvil a lo largo de una columna la cual contiene una fase estacionaria. Los componentes emergen de forma en la que el componente que interaccione menos con la fase estacionaria emerge primero y que mayor afinidad tenga por dicha fase emerge al último. Una consideración importante para seleccionar las fases es que los analitos deben ser ligeramente solubles en la fase móvil para poder ser arrastrados por esta y tener interacción con la fase estacionaria contenida en la columna para así poder ser retenidos y separados en diferentes tiempos (Martínez, 2015).

1. Componentes del sistema

- a. Bomba: la bomba del sistema permite extraer la fase móvil de su contenedor e impulsarla a lo largo de la columna a una presión alta y con un flujo constante permitiendo así que los analitos salgan en tiempos determinados.
- b. Sistema de inyección: el sistema de inyección es un dispositivo calibrado el cual permite dosificar exactamente el volumen de muestra que se desea inyectar a la columna. Este dispositivo cuenta con una jeringa calibrada usualmente de 100 microlitros el cual inyecta la muestra rápidamente en el flujo producido por la fase móvil para su posterior separación en la columna.
- c. Columna: la columna es un tubo usualmente fabricado de acero inoxidable, en esta se produce la separación de las muestras gracias a que en las paredes interiores de esta se encuentra la fase estacionaria, esta fase usualmente está hecha de sílice modificada, dependiendo de la composición de la muestra la fase estacionaria podría estar compuesta por otros materiales.
- d. Detector: el detector se encuentra generalmente al final de la columna en la cual un haz de luz atraviesa perpendicularmente una celda la cual contiene la fase móvil con

- los eluyentes, dicho haz de luz rebota con una variación de energía e incide el fotodetector el cual mide esta variación de energía para cuantificar los componentes.
- e. Registrador: el registrador recibe la información proveniente del detector e interpreta los datos recibidos en forma de cromatogramas.
- (Morán y Rivera, 2022).

2. Parámetros operativos

En la cromatografía líquida de alta resolución se le conoce como parámetros operativos a aspectos fundamentales para lograr la correcta separación de la muestra y lograr la repetibilidad del análisis. Algunos de estos parámetros son: velocidad de flujo, temperatura de los componentes, volumen de inyección, longitud de onda de detección (González, 2024).

B. Disolución

La absorción de un fármaco de dosificación sólida posteriormente a ser administrado vía oral depende de la disolución del fármaco en condiciones fisiológicas, la liberación del principio activo y la permeabilidad por el sistema gastrointestinal. Debido a la importancia de los primeros dos aspectos, hacer un ensayo de disolución in vitro es relevante para la predicción de rendimiento in vivo (FDA, 1997).

Se suelen utilizar análisis de disolución para formas de dosificación sólidas como lo son los comprimidos y cápsulas. Las pruebas de disolución in vitro sirven para:

- Evaluar la calidad del producto por lotes
 - Guiar el desarrollo de nuevas formulaciones
 - Asegurar la calidad y rendimiento del producto después de, reformulaciones, cambios en el proceso de fabricación como lo son, cambios en el sitio de fabricación y cambios en la escala de fabricación.
- (FDA, 1997).

C. Validación

Una validación es establecer de forma documentada que un método analítico produce resultados confiables, precisos y exactos y son aptos para el uso indicado. Para validar un método se tienen que cumplir con ciertos parámetros. Los más comunes son:

1. Exactitud

Esta hace referencia a la concordancia entre el valor aceptado convencionalmente o de referencia y el valor encontrado mediante el análisis

2. Precisión

Esta expresa el grado de dispersión entre una serie de mediciones obtenidas a partir de varias muestras provenientes de una muestra homogénea, la precisión considera la precisión intermedia, repetibilidad y reproducibilidad. La precisión comúnmente se expresa en términos de varianza, desviación estándar o coeficiente de variación.

- a. Repetibilidad: expresa la precisión en las mismas condiciones de funcionamiento durante un breve intervalo de tiempo.
- b. Precisión intermedia: expresa variaciones dentro del laboratorio como lo son, diferentes días, analistas o equipos.
- c. Reproducibilidad: expresa la precisión en diferentes laboratorios

3. Especificidad

Esto hace referencia a la capacidad del método de analizar de forma inequívoca los analitos en presencia de otros componentes como lo pueden ser impurezas, degradantes etc.

4. Robustez

Es la medida de la capacidad de un método analítico para no verse afectado por variaciones pequeñas, pero deliberadas en los parámetros del método indicando así la confiabilidad del método en su parametrización habitual.

(International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, 1995).

D. Dexketoprofeno trometamol

El de ketoprofeno trometamol es la sal de trometamina del ácido S-(+)-2-(3-benzoilfenil) propiónico. El dexketoprofeno es un fármaco antiinflamatorio, analgésico y antipirético perteneciente a la familia de los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos.

1. Propiedades farmacocinéticas

- a. Absorción: tras la ingesta del medicamento por vía oral se completa la absorción de este en un rango de 15 a 60 minutos, generalmente rondando en los 30 minutos
- b. Distribución: los valores de vida media del medicamento en el organismo son de 0.35-1.65 horas presentando una alta unión a proteínas plasmáticas lo cual indica una alta distribución en los tejidos

2. Indicaciones terapéuticas

El dexketoprofeno está indicado para tratar dolores sintomáticos que pueden rondar desde moderado hasta intenso, dependiendo del padecimiento se puede recetar 25mg cada 12 horas o 25mg antes de cada comida.

(Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2023a)

E. Tramadol HCl

El tramadol hidrocloreto es un analgésico opioide sintético el cual activa los receptores μ -opioides e inhibe la recaptación de serotonina y norepinefrina lo cual contribuye a su efecto analgésico.

1. Propiedades farmacocinéticas

- a. Absorción: tras la ingesta del medicamento por vía oral alcanza su absorción máxima aproximadamente 2-3 horas posterior a la ingesta
- b. Distribución: los valores de vida media del medicamento en el organismo son de 5.4 -9.6 horas presentando una alta unión a proteínas plasmáticas lo cual indica una alta distribución en los tejidos

(Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2023b)

F. Normativas de validación de métodos analíticos:

Para asegurar la calidad y funcionamiento de los métodos analíticos, diversas organizaciones han establecido criterios que se deben cumplir. Estas guías facilitan la comparabilidad de resultados a nivel global, promoviendo confianza en los datos obtenidos.

1. ICH (International conference on Harmonization)

Es una iniciativa que reúne autoridades regulatorias y a la industria farmacéutica con el fin de discutir aspectos técnicos y científicos acerca del desarrollo y registro de nuevos productos. Esta iniciativa desarrolló una guía llamada Q2(R1) la cual proporciona información detallada sobre características a considerar durante la validación de métodos analíticos, como la precisión, exactitud, especificidad, etc (European Medicines Agency, 2006).

2. FDA (Food and Drug administration)

La FDA es una agencia gubernamental responsable de proteger la seguridad en los Estados Unidos asegurando la eficacia y seguridad en los medicamentos, productos biológicos y dispositivos médicos (U.S. Food and Drug Administration, 2015).

3. USP (United States Pharmacopeia)

Esta es una organización independiente sin fines de lucro. Establece estándares de calidad para medicamentos, alimentos y suplementos. Estos estándares son reconocidos y utilizados globalmente. En su capítulo general <1225,1226> proporcionan los parámetros que se deben evaluar durante la validación de un método, entre estos parámetros se encuentran precisión, exactitud, especificidad, robustez, etc (United States Pharmacopeia, 2024)

4. RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano)

Este reglamento fue aprobado por el consejo de ministros de integración económica mediante la resolución 188-2006. Este reglamento establece los requisitos y procedimientos a cumplir para la validación de métodos en el área centroamericana. El reglamento RTCA 11.03.39:09 aplica para métodos analíticos de control de calidad en el área fisicoquímica y microbiológica asegurando que dichos métodos de análisis de medicamentos cumplan con los estándares requeridos (Secretaría de Integración Económica Centroamericana, 2006).

5. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI)

Es una entidad sin fines de lucro la cual agrupa a profesionales del sector farmacéutico con la finalidad de fomentar la formación continua y el desarrollo técnico en áreas de control de calidad y asuntos regulatorios. Esta asociación promueve el cumplimiento de normas nacionales como internacionales posicionándose, así como un referente de las buenas prácticas de laboratorio y validaciones de metodologías (AEFI, 2024).

VI. METODOLOGÍA

Para la obtención del método analítico de cuantificación se siguió el procedimiento descrito por Morán J. y Rivera W. (2022) en su estudio llamado “Validación de un método analítico para la cuantificación de dexketoprofeno y tramadol HCl en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficiencia”. Así mismo el procedimiento de validación fue llevado a cabo conforme a los lineamientos establecidos en la guía de validación de métodos analíticos publicada por la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI, 2001). Además, el método de disolución fue desarrollado por el laboratorio Vizcaino S.A. mediante pruebas de estabilidad.

A. Condiciones cromatográficas

- Columna: C-18 250 x 4.6 mm, 5 μ m (L1)
- Fase Móvil: solución A/ ácido acético/ acetonitrilo pH 3.0 \pm 0.1 (59:1:40)
- Solvente de inyección: fase móvil
- Gradiente: isocrático
- Detección: UV 270 nm
- Temperatura: 40 °C
- Flujo: 2.00 mL/minuto
- Tiempo de corrida: 14 minutos
- Volumen de inyección: 20 μ L
- Aptitud del sistema: desviación estándar relativa \leq 2 % para 6 inyecciones consecutivas de la solución estándar
(Morán y Rivera, 2022)

B. Preparación de Soluciones

- Solución A: en un litro de agua HPLC adicionar 5mL de ácido perclórico y 4 mL de amoniaco en solución al, ajustar el pH a 3.0 \pm 0.1 con ácido fosfórico (Morán Rodríguez & Rivera Quintanilla, 2022).

- Fase móvil y solvente de inyección: mezclar 590mL de solución A, 1mL de ácido acético glacial y 400 mL de acetonitrilo ajustar a pH 3.0 ± 0.1 con ácido fosfórico, filtrar a través de una membrana de PVDF de 0.45 μm . Sonicar por 10 minutos (Morán Rodríguez & Rivera Quintanilla, 2022).
- Medio de disolución: pesar 114 g de fosfato de sodio tribásico dodecahidratado $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ para 6 litros de agua purificada, ajustar el pH a 7.50 ± 0.02 (elaboración propia).

C. Método de análisis para valoración

- Preparación del estándar
 - Pesar con exactitud 37 mg de dexketoprofeno trometamol, estándar secundario (equivalente a 25 mg de dexketoprofeno base), en un balón volumétrico de 25 mL,
 - Agregar aproximadamente 10 mL de solvente de inyección, para disolver, colocar en ultrasonido por 5 minutos, esperar a que alcance temperatura ambiente y llevar a volumen con solvente de inyección, mezclar.
 - Pesar con exactitud 30 mg de tramadol HCl, estándar secundario en un balón volumétrico de 100mL,
 - Agregar aproximadamente 25mL de solvente de inyección, para disolver, colocar en el ultrasonido por 5 minutos
 - Transferir una alícuota de 10mL del estándar de dexketoprofeno trometamol y llevar a volumen con solvente de inyección.
 - Filtrar a través de filtro de cartucho de 0.45 μm de nailon. Esta solución tiene una concentración aproximada de 0.1 mg/mL de dexketoprofeno y 0.3 mg/mL de tramadol HCl.
 - Inyectar seis veces la solución estándar, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes los picos principales.
(elaboración propia)

- Preparación de la muestra
 - Pesar no menos de 20 comprimidos, determinar el peso promedio y pulverizar finamente.
 - Pesar exactamente el equivalente a 10 mg de dexketoprofeno y transferirlo a un balón de 100mL.
 - Añadir 40mL de solvente de inyección y sonicar por 10 minutos para disolver, llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
 - Filtrar a través de filtro de cartucho de 0.45 μ m de nailon. Esta solución tiene una concentración aproximada de 0.1 mg/mL de dexketoprofeno base y 0.3 mg/mL de tramadol HCl.
 - Inyectar tres veces la solución muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes al pico principal.
(elaboración propia)

D. Aptitud del sistema valoración

- Inyectar sucesivamente seis veces la solución estándar de referencia
- Criterios de aceptación:
 - Coeficiente de variación del tiempo de retención: ≤ 2.0
 - Coeficiente de variación de las áreas de los picos: ≤ 2.0(AEFI, 2001)

E. Especificidad Valoración

- Preparación de la solución placebo madre:
 - Pesar con exactitud 437 mg de placebo en un balón volumétrico de 50mL,
 - Agregar solvente de inyección y mezclar, someter a ultrasonido por 5 minutos. Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
(elaboración propia)

- Preparación de solución estándar madre:
 - Pesar con exactitud 37 mg de dexketoprofeno trometamol estándar secundario (equivalente a 50.00 mg de dexketoprofeno base) y 75 mg de tramadol HCl estándar secundario en un balón volumétrico de 50mL, agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido durante 5 minutos.
 - Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar (elaboración propia)

- Preparación de solución muestra madre
 - Pesar no menos de 20 comprimidos, determinar el peso promedio y pulverizar finamente.
 - Pesar exactamente el equivalente al peso promedio de un comprimido en un balón volumétrico de 50mL
 - Agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido por 5 minutos, llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
 - (elaboración propia)

- Identificar 6 balones de 25mL para la muestra, 6 para el placebo y 6 balones de 25mL para el estándar. Proceder con lo siguiente:

Cuadro 1. Procedimiento especificidad valoración

Identificación de balón	Volumen de solución madre (mL)	Reactivo degradante	Volumen degradante
STD 1	5	Ninguno	0
STD 2	5	HCl 0.1 N	5
STD 3	5	NaOH 0.1 N	5
STD 4	5	Bisulfito de sodio 3 %	5
STD 5	5	Peróxido de hidrógeno 3 %	5
STD 6	5	Agua	5
MX 1	5	Ninguno	0
MX 2	5	HCl 0.1 N	5
MX 3	5	NaOH 0.1 N	5

MX 4	5	Bisulfito de sodio 3 %	5
MX 5	5	Peróxido de hidrógeno 3 %	5
MX 6	5	Agua	5
PB 1	5	Ninguno	0
PB 2	5	HCl 0.1 N	5
PB 3	5	NaOH 0.1 N	5
PB 4	5	Bisulfito de sodio 3 %	5
PB 5	5	Peróxido de hidrógeno 3 %	5
PB 6	5	Agua	5

El Cuadro 1 indica las alícuotas que se deben agregar a cada balón para realizar la prueba de especificidad del análisis de cuantificación (AEFI, 2001).

- Colocar los balones numerados del 2 al 6 en un baño de María con agua a 60 °C por 30 minutos.
- Después de este tiempo sacarlos, enfriarlos y ajustar el pH a 7.0 en los balones 2 y 3 antes de aforarlos.
- Aforar los balones con solvente de inyección. Filtrar a través de filtro de nailon de 0.45 µm.
- Realizar una inyección de cada balón preparado.
- Se verificará la capacidad del método para diferenciar entre el analito y los compuestos de degradación del principio activo, obtenidos por degradación ácida, alcalina, oxidación, reducción y termólisis.
(AEFI, 2001)

F. Linealidad del sistema valoración

- Preparación solución estándar madre
 - Pesar con exactitud 74 mg de dexketoprofeno trometamol estándar secundario (equivalente a 50.00 mg de dexketoprofeno base) y 150 mg de tramadol HCl estándar secundario en un balón volumétrico de 100mL
 - Agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
(elaboración propia)
- Identificar balones volumétricos de 25mL y transferir las alícuotas descritas a continuación:

Cuadro 2. Procedimiento linealidad del sistema valoración

No. balón	Solución estándar madre (mL)	Concentración final dexketoprofeno (mg/mL)	Concentración final tramadol HCl (mg/mL)	Nivel de concentración
1	3	0.060	0.180	60 %
2	4	0.080	0.240	80 %
3	5	0.100	0.300	100 %
4	6	0.120	0.360	120 %
5	7	0.140	0.420	140 %

El Cuadro 2 indica las alícuotas que se deben agregar a cada balón para realizar la prueba de linealidad del sistema del análisis de cuantificación (elaboración propia).

- Aforar con solvente de inyección. Filtrar a través de filtro de cartucho PVDF de 0.45 μm . Inyectar en el cromatógrafo por triplicado cada una de las soluciones anteriores (AEFI, 2001).
- Criterios de aceptación
 - Coeficiente de correlación r mayor o igual a 0.99.
 - Coeficiente de determinación r^2 mayor o igual a 0.98.

- Intervalo de confianza para la pendiente debe de incluir la unidad.
(AEFI, 2001)

G. Linealidad del método valoración:

- Preparación solución placebo madre:
 - Pesar 437 mg de placebo y transferirlo a un balón volumétrico de 50mL, disolver y llevar a volumen con solvente de inyección.
(elaboración propia)
- Preparación solución placebo estándar
 - Pesar con exactitud 74 mg de dexketoprofeno trometamol estándar secundario (equivalente a 50.00 mg de dexketoprofeno base) y 150 mg de tramadol HCl estándar secundario en un balón volumétrico de 100mL
 - Agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
(elaboración propia)
- Identificar balones volumétricos de 25mL y transferir las alícuotas descritas a continuación:

Cuadro 3. Procedimiento linealidad del método valoración

No. balón	Solución estándar madre (mL)	Solución placebo madre (mL)	Concentración final dexketoprofeno (mg/mL)	Concentración final tramadol HCl (mg/mL)	Nivel de concentración
1	3	5	0.060	0.180	60 %
2	4	5	0.080	0.240	80 %
3	5	5	0.100	0.300	100 %
4	6	5	0.120	0.360	120 %
5	7	5	0.140	0.420	140 %

El Cuadro 3 indica las alícuotas que se deben agregar a cada balón para realizar la prueba de linealidad del método del análisis de cuantificación (elaboración propia).

- Aforar con solvente de inyección. Filtrar a través de filtro de cartucho PVDF de 0.45 μm . Inyectar en el cromatógrafo por triplicado cada una de las soluciones anteriores (AEFI, 2001)

- Criterios de aceptación
 - Coeficiente de correlación r mayor o igual a 0.99.
 - Coeficiente de determinación r^2 mayor o igual a 0.98.
 - Intervalo de confianza para la pendiente debe de incluir la unidad.(AEFI, 2001)

H. Exactitud

- Se registran los resultados obtenidos de la linealidad del método, en base al porcentaje de recuperación, se calculan los siguientes parámetros estadísticos.
 - Intervalo de confianza (IC) 95 – 105 %
 - Coeficiente de variación del porcentaje de recobro $\leq 6 \%$
 - Desviación estándar(AEFI, 2001)

I. Precisión

- Se determinará la precisión del método, mediante la repetibilidad y precisión intermedia. (AEFI, 2001)

J. Repetibilidad

- Realizar 6 determinaciones de muestras de un mismo lote y preparar de manera independiente según el procedimiento de valoración previamente establecido.

- Inyectar por triplicado cada una de las muestras preparadas.

- Calcular el coeficiente de variación del porcentaje de recuperación este debe ser $\leq 6\%$ (AEFI, 2001)

K. Precisión intermedia Valoración

- Con analista distinto realizar 6 determinaciones de muestras de un mismo lote y preparar de manera independiente según el procedimiento de valoración previamente establecido.
- Inyectar por triplicado cada una de las muestras preparadas.
- Calcular el coeficiente de variación del porcentaje de recuperación este debe ser $\leq 6\%$ (AEFI, 2001)

L. Robustez

- Preparar una muestra y un estándar de acuerdo con la metodología de valoración previamente establecida (elaboración propia).
- Inyectar 5 veces por cada una de las variaciones cromatográficas indicadas en el siguiente Cuadro:

Cuadro 4. Procedimiento robustez

Parámetro	Límite inferior (-)	Condición normal	Límite superior (+)	Cambio
Flujo de la fase móvil	1.8 mL/min	2.0 mL/min	2.2 mL/min	± 0.2 mL/min
Longitud de onda	267 nm	270 nm	273 nm	± 3.0 nm
Temperatura	37 °C	40 °C	43 °C	± 3.0 °C

El Cuadro 4 indica las condiciones cromatográficas que variaran durante la prueba de robustez (elaboración propia).

- Calcular el porcentaje de recuperación y realizar un análisis de varianza con las siguientes condiciones:

- Si el valor p es menor que α ($p < 0.05$), se rechaza la hipótesis nula, lo que indica que hay diferencias significativas entre al menos uno de los grupos, el método no es robusto para el cambio.
- Si el valor p es mayor que α ($p \geq 0.05$), no se rechaza la hipótesis nula, lo que sugiere que no hay evidencia suficiente para afirmar que hay diferencias significativas, el método es robusto para el cambio.
(elaboración propia)

M. Método de análisis de disolución

- Condiciones de la disolución
 - Aparato: 2 (paletas)
 - Rpm: 100 rpm
 - Tiempo: 45 minutos
 - Temperatura: $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$
 - Medio: Buffer de fosfatos pH 7.5 ± 0.02
 - Volumen del medio: 900mL
(elaboración propia)
- Preparación del estándar
 - Pesar con exactitud 41 mg de dexketoprofeno trometamol, estándar secundario (equivalente a 27.7 mg de dexketoprofeno base), en un balón volumétrico de 100mL.
 - Agregar aproximadamente 20mL de solvente de inyección, para disolver, colocar en ultrasonido por 5 minutos, esperar a que alcance temperatura ambiente y llevar a volumen con solvente de inyección, mezclar.
 - Pesar con exactitud 41.7 mg de tramadol HCl, estándar secundario en un balón volumétrico de 50mL
 - agregar aproximadamente 20mL de solvente de inyección, para disolver, colocar en el ultrasonido por 5 minutos. Esperar a que alcance temperatura ambiente y llevar a volumen con solvente de inyección, mezclar.

- Transferir una alícuota de 5mL del estándar de dexketoprofeno trometamol y una alícuota de 5mL del estándar de tramadol HCl a un balón volumétrico de 50mL, llevar a volumen con medio de disolución.
 - Filtrar a través de filtro de cartucho de 0.45 μm de nailon. Esta solución tiene una concentración aproximada de 0.0277 mg/mL de dexketoprofeno y 0.0834 mg/mL de tramadol HCl.
 - Inyectar seis veces la solución estándar, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes al pico principal.
(elaboración propia)
- Preparación de la muestra
 - Colocar un comprimido en cada uno de los seis vasos del disolutor, conteniendo 900mL de medio de disolución previamente equilibrado a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
 - Después de transcurrido el tiempo de disolución, filtrar a través de filtro de cartucho de 0.45 μm de nylon una porción de cada vaso.
 - Inyectar dos veces cada solución, registrar los cromatogramas y medir las respuestas correspondientes al pico principal.
(elaboración propia)

N. Aptitud del sistema

- Inyectando sucesivamente seis veces la solución estándar de referencia
- Criterios de aceptación:
 - Coeficiente de variación del tiempo de retención: ≤ 2.0
 - Coeficiente de variación de las áreas de los picos: ≤ 2.0
(AEFI, 2001)

O. Especificidad

- Preparación de la solución placebo madre:

- Pesar con exactitud 484.2 mg de placebo de comprimido recubierto en un balón volumétrico de 100 mL.
 - Agregar medio de disolución y mezclar, someter a ultrasonido por 5 minutos.
 - Llevar a volumen con medio de disolución y mezclar.
(elaboración propia)
- Preparación de solución estándar madre:
 - Pesar con exactitud 41 mg de dexketoprofeno trometamol estándar secundario (equivalente a 27.7 mg de dexketoprofeno base) y 83.4 mg de tramadol HCl estándar secundario en un balón volumétrico de 100mL, agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido durante 5 minutos.
 - Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar
 - Tomar una alícuota de 25mL a un balón volumétrico de 50mL llevar a volumen con medio de disolución y mezclar.
(elaboración propia)
- Preparación de solución muestra madre:
 - Pesar no menos de 20 comprimidos, determinar el peso promedio y pulverizar finamente.
 - Pesar exactamente el equivalente a 27.7mg de naproxeno en un balón volumétrico de 100mL
 - Agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido por 5 minutos, llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
(elaboración propia)
- Identificar 6 balones de 25mL para la muestra, 6 para el placebo y 6 balones de 25mL para el estándar. Proceder con lo siguiente:

Cuadro 5. Procedimiento especificidad disolución

Identificación de balón	Volumen de solución madre (mL)	Reactivo degradante	Volumen degradante
STD 1	5	Ninguno	0
STD 2	5	HCl 0.1N	5

STD 3	5	NaOH 0.1N	5
STD 4	5	Bisulfito de sodio 3%	5
STD 5	5	Peróxido de hidrógeno 3%	5
STD 6	5	Agua	5
MX 1	5	Ninguno	0
MX 2	5	HCl 0.1N	5
MX 3	5	NaOH 0.1N	5
MX 4	5	Bisulfito de sodio 3%	5
MX 5	5	Peróxido de hidrógeno 3%	5
MX 6	5	Agua	5
PB 1	5	Ninguno	0
PB 2	5	HCl 0.1N	5
PB 3	5	NaOH 0.1N	5
PB 4	5	Bisulfito de sodio 3%	5
PB 5	5	Peróxido de hidrógeno 3%	5
PB 6	5	Agua	5

El Cuadro 5 indica las alícuotas que se deben agregar a cada balón para realizar la prueba de especificidad del análisis de disolución (AEFI, 2001).

- Colocar los balones numerados del 2 al 6 en un baño de María con agua a 60 °C por 30 minutos.
- Después de este tiempo sacarlos, enfriarlos y ajustar el pH a 7.0 en los balones 2 y 3 antes de aforarlos.
- Aforar los balones con medio de disolución. Filtrar a través de filtro de nailon de 0.45 µm.
- Realizar una inyección de cada balón preparado.

- Se verificará la capacidad del método para diferenciar entre el analito y los compuestos de degradación del principio activo, obtenidos por degradación ácida, alcalina, oxidación, reducción y termólisis.
(AEFI, 2001)

P. Linealidad del sistema

- Solución estándar madre:
 - Pesar con exactitud 41 mg de dexketoprofeno trometamol estándar secundario (equivalente a 27.70 mg de dexketoprofeno base) y 83.4 mg de tramadol HCl estándar secundario en un balón volumétrico de 100 mL,
 - Agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
(elaboración propia)
- Identificar balones volumétricos de 50 mL y transferir las alícuotas descritas a continuación:

Cuadro 6. Procedimiento linealidad del sistema disolución

No. balón	Solución madre (mL)	Concentración final dexketoprofeno (mg/mL)	Concentración final tramadol HCl (mg/mL)	Nivel de concentración
1	3	0.017	0.050	60 %
2	4	0.022	0.066	80 %
3	5	0.028	0.083	100 %
4	6	0.034	0.100	120 %
5	7	0.039	0.116	140 %

El Cuadro 6 indica las alícuotas que se deben agregar a cada balón para realizar la prueba de linealidad del sistema del análisis de disolución (elaboración propia).

- Aforar con medio de disolución. Filtrar a través de filtro de cartucho PVDF de 0.45 µm. Inyectar en el cromatógrafo por triplicado cada una de las soluciones anteriores.
(AEFI, 2001)

- Criterios de aceptación
 - Coeficiente de correlación r mayor o igual a 0.99.
 - Coeficiente de determinación r^2 mayor o igual a 0.98.
 - Intervalo de confianza para la pendiente debe de incluir la unidad.
 (AEFI, 2001)

Q. Linealidad del método:

- Solución placebo madre:
 - Pesar 484.2 mg de placebo y transferirlo a un balón volumétrico de 50 mL, disolver y llevar a volumen con solvente de inyección.
 (elaboración propia)

- Solución estándar madre
 - Pesar con exactitud 41 mg de dexketoprofeno trometamol estándar secundario (equivalente a 27.70 mg de dexketoprofeno base) y 83.4 mg de tramadol HCl estándar secundario en un balón volumétrico de 100 mL,
 - Agregar solvente de inyección y someter a ultrasonido durante 5 minutos. Llevar a volumen con solvente de inyección y mezclar.
 (elaboración propia)

- Identificar balones volumétricos de 50 mL y transferir las alícuotas descritas a continuación:

Cuadro 7. Procedimiento linealidad del método disolución

No. balón	Solución estándar madre (mL)	Solución placebo Madre (mL)	Concentración final dexketoprofeno (mg/mL)	Concentración final tramadol HCl (mg/mL)	Nivel de concentración
1	3	5	0.017	0.050	60 %
2	4	5	0.022	0.066	80 %
3	5	5	0.028	0.083	100 %
4	6	5	0.034	0.100	120 %

5	7	5	0.039	0.116	140 %
---	---	---	-------	-------	-------

El Cuadro 7 indica las alícuotas que se deben agregar a cada balón para realizar la prueba de linealidad del método del análisis de disolución (elaboración propia).

- Aforar con medio de disolución. Filtrar a través de filtro de cartucho PVDF de 0.45 μm . Inyectar en el cromatógrafo por triplicado cada una de las soluciones anteriores (AEFI, 2001).
- Criterios de aceptación
 - Coeficiente de correlación r mayor o igual a 0.99.
 - Coeficiente de determinación r² mayor o igual a 0.98.
 - Intervalo de confianza para la pendiente debe de incluir la unidad.
(AEFI, 2001)

R. Precisión

- Se determinará la precisión del método, mediante la repetibilidad y precisión intermedia (AEFI, 2001).

S. Repetibilidad

- Realizar 6 determinaciones de muestras de un mismo lote y preparar de manera independiente según el procedimiento de disolución previamente establecido.
- Inyectar por triplicado cada una de las muestras preparadas.
- Calcular el coeficiente de variación del porcentaje de recuperación este debe ser $\leq 6 \%$ (AEFI, 2001)

T. Precisión intermedia

- Con analista distinto realizar 6 determinaciones de muestras de un mismo lote y preparar de manera independiente según el procedimiento de disolución previamente establecido.
- Inyectar por triplicado cada una de las muestras preparadas.
- Calcular el coeficiente de variación del porcentaje de recuperación este debe ser $\leq 6\%$ (AEFI, 2001)

VII. RESULTADOS

El Cuadro 8 presenta un resumen de los resultados de la prueba de aptitud del sistema para los análisis de disolución y cuantificación del dexketoprofeno y tramadol HCl llevado a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm). Los resultados obtenidos indican que ambas pruebas están en cumplimiento.

Cuadro 8. Resultados aptitud del sistema

Compuesto	Prueba	Criterio	Resultado (%)	Dictamen
Dexketoprofeno	Valoración	Coefficiente de variación del tiempo de retención: ≤ 2.0	0.05 %	Cumple
		Coefficiente de variación del área de los picos ≤ 2.0	0.06 %	Cumple
Dexketoprofeno	Disolución	Coefficiente de variación del tiempo de retención: ≤ 2.0	0.02 %	Cumple
		Coefficiente de variación del área de los picos ≤ 2.0	0.09 %	Cumple
Tramadol HCl	Valoración	Coefficiente de variación del tiempo de retención: ≤ 2.0	0.00 %	Cumple
		Coefficiente de variación del área de los picos ≤ 2.0	0.05 %	Cumple

Tramadol HCl	Disolución	Coefficiente de variación del tiempo de retención: ≤ 2.0	0.00 %	Cumple
		Coefficiente de variación del área de los picos ≤ 2.0	0.15 %	Cumple

El Cuadro 9 presenta un resumen de los resultados de la cuantificación del dexketoprofeno llevado a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm), en este cuadro se presentan tanto los criterios de aceptación a cumplir como los resultados reales y el veredicto. Todos los resultados obtenidos están en cumplimiento.

Cuadro 9. Resultados validación valoración dexketoprofeno

Prueba	Especificación	Resultado	Dictamen
Especificidad	No se encontraron interferentes en el tiempo de retención del principio activo	No hay superposición de picos	Cumple
Linealidad del sistema	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	1.0000	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el 0	Límite superior: $100488256 \frac{m^2mL}{mg}$	Cumple

		Límite inferior: 99602513 $\frac{m^2mL}{mg}$	
Linealidad del método	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	0.9999	Cumple
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	0.9999	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente debe incluir la unidad	Límite superior: 1.015 Límite inferior: 1.001	Cumple
Intervalo	El intervalo de concentración del principio activo se encuentra entre 60 % a 140 %	La concentración del activo se encuentra dentro del intervalo de trabajo de un análisis rutinario	Cumple
Exactitud	El intervalo de confianza se encuentra entre 95 % a 105 %	Límite superior: 102.37 % Límite inferior: 101.54 %	Cumple
	El coeficiente de variación del porcentaje de recobro es menor o igual a 6 %	0.63 %	Cumple
Repetibilidad	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	1.10 %	Cumple

Precisión intermedia	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	0.81 %	Cumple
Precisión	Se cumple con los criterios de Repetibilidad y precisión intermedia	Cumplen los criterios de repetibilidad y precisión intermedia	Cumple

El Cuadro 10 presenta un resumen de los resultados de la cuantificación del tramadol HCl llevado a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm), en este cuadro se presentan tanto los criterios de aceptación a cumplir como los resultados reales y el veredicto. Todos los resultados obtenidos están en cumplimiento.

Cuadro 10. Resultados validación valoración tramadol HCl

Prueba	Especificación	Resultado	Dictamen
Especificidad	No se encontraron interferentes en el tiempo de retención del principio activo	No hay superposición de picos	Cumple
Linealidad del sistema	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	1.0000	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el 0	Límite superior: $14342203 \frac{m^2 mL}{mg}$ Límite inferior: $14237057 \frac{m^2 mL}{mg}$	Cumple

Linealidad del método	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	0.9999	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente debe incluir la unidad	Límite superior: 1.005 Límite inferior:0.991	Cumple
Intervalo	El intervalo de concentración del principio activo se encuentra entre 60 % a 140 %	La concentración del activo se encuentra dentro del intervalo de trabajo de un análisis rutinario	Cumple
Exactitud	El intervalo de confianza se encuentra entre 95 % a 105 %	Límite superior: 101.72 % Límite inferior: 100.78 %	Cumple
	El coeficiente de variación del porcentaje de recobro es menor o igual a 6 %	0.72 %	Cumple
Repetibilidad	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	0.61 %	Cumple
Precisión intermedia	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	0.82 %	Cumple

Precisión	Se cumple con los criterios de Repetibilidad y precisión intermedia	Cumplen los criterios de repetibilidad y precisión intermedia	Cumple
-----------	---	---	--------

El Cuadro 11 presenta un resumen de los resultados de la disolución del dexketoprofeno llevado a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm), en este cuadro se presentan tanto los criterios de aceptación a cumplir como los resultados reales y el veredicto. Todos los resultados obtenidos están en cumplimiento.

Cuadro 11. Resultados validación disolución dexketoprofeno

Prueba	Especificación	Resultado	Dictamen
Especificidad	No se encontraron interferentes en el tiempo de retención del principio activo	No hay superposición de picos	Cumple
Linealidad del sistema	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	1.0000	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el 0	Límite superior: $204044430 \frac{m^2mL}{mg}$ Límite inferior: $202232616 \frac{m^2mL}{mg}$	Cumple
Linealidad del método	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple

	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	1.0000	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente debe incluir la unidad	Límite superior: 1.009 Límite inferior: 1.001	Cumple
Intervalo	El intervalo de concentración del principio activo se encuentra entre 60 % a 140 %	La concentración del activo se encuentra dentro del intervalo de trabajo de un análisis rutinario	Cumple
Exactitud	El intervalo de confianza se encuentra entre 95 % a 105 %	Límite superior: 100.73 % Límite inferior: 100.46 %	Cumple
	El coeficiente de variación del porcentaje de recobro es menor o igual a 6 %	0.21 %	Cumple
Repetibilidad	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	1.78 %	Cumple
Precisión intermedia	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	1.74 %	Cumple
Precisión	Se cumple con los criterios de	Cumplen los criterios de repetibilidad y precisión intermedia	Cumple

	Repetibilidad y precisión intermedia		
--	--------------------------------------	--	--

El Cuadro 12 presenta un resumen de los resultados de la disolución del tramadol HCl llevado a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm), en este cuadro se presentan tanto los criterios de aceptación a cumplir como los resultados reales y el veredicto. Todos los resultados obtenidos están en cumplimiento.

Cuadro 12. Resultados validación disolución tramadol

Prueba	Especificación	Resultado	Dictamen
Especificidad	No se encontraron interferentes en el tiempo de retención del principio activo	No hay superposición de picos	Cumple
Linealidad del sistema	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98	1.0000	Cumple
	El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el 0	Límite superior: $28331206 \frac{m^2mL}{mg}$ Límite inferior: $28167626 \frac{m^2mL}{mg}$	Cumple
Linealidad del método	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99	1.0000	Cumple
	Coefficiente de determinación de la	1.0000	Cumple

	recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98		
	El intervalo de confianza para la pendiente debe incluir la unidad	Límite superior: 1.005 Límite inferior: 0.998	Cumple
Intervalo	El intervalo de concentración del principio activo se encuentra entre 60 % a 140 %	La concentración del activo se encuentra dentro del intervalo de trabajo de un análisis rutinario	Cumple
Exactitud	El intervalo de confianza se encuentra entre 95 % a 105 %	Límite superior: 100.64 % Límite inferior: 100.35 %	Cumple
	El coeficiente de variación del porcentaje de recobro es menor o igual a 6 %	0.23 %	Cumple
Repetibilidad	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	3.43 %	Cumple
Precisión intermedia	Coefficiente de variación menor o igual a 6 %	3.39 %	Cumple
Precisión	Se cumple con los criterios de Repetibilidad y precisión intermedia	Cumplen los criterios de repetibilidad y precisión intermedia	Cumple

El Cuadro 13 presenta un resumen de los resultados de la prueba de robustez llevado a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm), este cuadro presenta la especificación de cumplimiento, así como los resultados y el dictamen final. El único resultado en cumplimiento es para la variación de flujo.

Cuadro 13. Resultados robustez.

Prueba	Especificación	Resultado tramadol HCl	Resultado dexketoprofeno	Dictamen
Temperatura	Si el valor p es mayor que α ($P \geq 0.05$), no hay diferencia significativa, el método es robusto.	0.0010	$9.23e^{-11}$	No cumple
Longitud de onda	Si el valor p es mayor que α ($P \geq 0.05$), no hay diferencia significativa, el método es robusto.	$2.10e^{-6}$	$1.08e^{-7}$	No cumple
Flujo	Si el valor p es mayor que α ($P \geq 0.05$), no hay diferencia significativa, el método es robusto.	0.3630	0.1571	Cumple

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En esta investigación se llevó a cabo la validación de un método analítico para el análisis de cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos. Con la finalidad de validar el método, se evaluaron parámetros como especificidad, linealidad del método, linealidad del sistema, intervalo, exactitud y precisión. Adicionalmente se realizaron pruebas de robustez para determinar si el método es resistente a ligeras variaciones en el sistema cromatográfico (ICH, 2005; USP, 2008a, 2008b).

El Cuadro 8 muestra los resultados de la aptitud del sistema. Este es un parámetro clave ya que verifica que el sistema funciona correctamente antes y durante el análisis. Los reglamentos para validación de método analíticos de la USP <1225> e ICH Q2(R1) sugieren que el coeficiente de variación del tiempo de retención y el área del pico del pico de interés de por lo menos 6 inyecciones debe de ser menor o igual que 2 %. Los resultados obtenidos para el RSD del tiempo de retención el área del pico respectivamente fue, para el análisis de valoración, 0.05 % y 0.06 % para el dexketoprofeno y 0.00 % y 0.05 % para el tramadol HCl. Para el análisis de disolución, 0.02 % y 0.09 % para el dexketoprofeno y 0.00 % y 0.15 % para el tramadol. Se puede notar el cumplimiento de dicho criterio tanto para el análisis de valoración como el de disolución en ambos principios activos por lo cual se comprueba que el sistema cromatográfico propuesto es apto para el análisis deseado (ICH, 2005; USP, 2008a).

Los Anexos 3-5 muestran los cromatogramas de las pruebas de especificidad. Esta prueba se realizó con el fin de demostrar que el método es capaz de distinguir el pico de los analitos incluso en presencia de interferentes y productos de degradación (ICH, 2005). Se realizaron degradaciones forzadas por hidrólisis ácida y básica, oxidación, reducción y termólisis, y se compararon contra una muestra control, la cual no tenía ningún tratamiento, se puede observar que los cromatogramas de pruebas de degradación de la muestra y el estándar de referencia no presentan ninguna señal que interfiera directamente a los picos de interés tanto en la cuantificación como en la disolución lo cual cumple con el criterio de aceptación de los reglamentos para validación de método analíticos de la USP <1225> e ICH Q2(R1) confirmando que el método propuesto es específico. Los cromatogramas del placebo no muestran ninguna señal proveniente de los picos de dexketoprofeno y tramadol HCl. Esto comprueba que los excipientes utilizados para la generación del comprimido no son detectados por el método y no presentan ninguna interferencia. (ICH, 2005; USP, 2008a).

Para evaluar la linealidad del sistema se inyectó por triplicado el estándar de referencia en cinco diferentes concentraciones (60 %, 80 %, 100 %, 120 % y 140 %). En los Anexos 10-13 en las páginas 38-40 se puede observar la regresión lineal de área contra concentración. Como resultado se obtuvieron coeficientes de correlación R de 1.0000 tanto para la valoración del dexketoprofeno como la del tramadol HCl, así como sus respectivas disoluciones. También se obtuvieron coeficientes de determinación R² de 1.0000 tanto para la valoración del dexketoprofeno como la del tramadol HCl y la disolución de ambos principios activos. Estos resultados indican que hay una detección de área proporcional a la concentración por parte del sistema teniéndose una relación lineal. Fueron calculados intervalos de confianza al 95 % para la pendiente los resultados fueron (100488256-99602513) $\frac{m^2mL}{mg}$ para la valoración del dexketoprofeno, (14342203- 14237057) $\frac{m^2mL}{mg}$ para la valoración del tramadol HCl, (204044430- 202232616) $\frac{m^2mL}{mg}$ para la disolución del dexketoprofeno y (28331206- 28167626) $\frac{m^2mL}{mg}$ para la disolución del tramadol HCl, se puede notar que intervalos de confianza no contiene el cero lo que indica que el sistema siempre responde de forma correcta a la concentración de los analitos, cumpliendo así con los criterios de aceptación (ICH, 2005; USP, 2008a).

En el Anexo 6 se puede encontrar la regresión lineal para evaluar la linealidad del método, en esta grafica de comparó la concentración teórica contra lo recuperado tras realizar el análisis. Como resultado se obtuvieron coeficientes de correlación R de 0.9999 para la valoración del dexketoprofeno y de 1.0000 para la valoración del tramadol HCl, así como para las disoluciones de ambos analitos. También se obtuvieron coeficientes de determinación R² de 0.9999 tanto para la valoración del dexketoprofeno como la del tramadol HCl y coeficientes de 1.000 para la disolución de estos. Se puede notar que estos resultados cumplen con los criterios de validación de los reglamentos para validación de método analíticos de la USP <1225> e ICH Q2(R1). Se calculó el intervalo de confianza al 95 % para la pendiente. Los intervalos resultantes fueron (1.015- 1.001) para la valoración del dexketoprofeno, (1.005- 0.991) para la valoración del tramadol HCl, (1.009-1.001) para la disolución del dexketoprofeno y (1.005- 0.998) para la disolución del tramadol HCl, nótese que estos valores no poseen dimensionales debido a que se está comparando concentración recuperada (mg/mL) contra concentración teórica (mg/mL) por lo que los resultados obtenidos en el intervalo de confianza denotan únicamente índices de proporcionalidad entre estos dos parámetros. Estos límites contienen la unidad lo cual denota una relación muy alta entre la concentración teórica y su respuesta, cumpliendo así con los criterios de aceptación y confirmando que el método es lineal (ICH, 2005; USP, 2008a).

El intervalo de concentración de un método analítico es un rango dentro del cual se demuestra que los resultados obtenidos son confiables, La ICH Q2(R1) establece que el intervalo debe contemplar una variación de por lo menos $\pm 20\%$ de la concentración objetivo (ICH, 2005). El intervalo que se validó en el método propuesto contempla un rango de 60-140 % de la concentración de trabajo de los principios activos, este rango se eligió con la finalidad de que el método pueda ser aplicado en análisis rutinarios como lo son análisis de estabilidad y uniformidad de contenido. Por otra parte, la exactitud del método también fue evaluada en este mismo rango. La ICH Q2(R1) y la USP <1225> establece que el porcentaje de recuperación debe estar entre un 90 % a un 110 % y el coeficiente de variación debe ser menor al 6 %. Los resultados para el porcentaje de recuperación fueron, IC (102.37- 101.54 %) y RSD 0.63 % para la valoración del dexketoprofeno, IC (101,72- 100.78 %) y RSD 0.72 % para la valoración del tramadol HCl, IC (100.73- 100.43 %) y RSD 0.21 % para la disolución del dexketoprofeno y IC (100.64- 100.35 %) y RSD 0.23 % para la disolución del tramadol HCl. Estos resultados cumplen con los criterios de aceptación por lo cual se puede asegurar que el método es exacto en el intervalo de concentración establecido de 60 %-140 % (USP, 2008a; ICH, 2005).

La precisión se evaluó en términos de repetibilidad y precisión intermedia. La repetibilidad fue evaluada preparando 6 muestras diferentes del mismo lote e inyectándolo en el equipo por triplicado. Los reglamentos de validación de metodologías analíticas para medicamentos de la ICH Q2(R1) y la USP <1225> establecen que la desviación estándar de el porcentaje de recuperación debe ser menor al 6 % (ICH, 2005; USP, 2008a). Los resultados fueron, 1.10 % para la valoración del dexketoprofeno, 0.61 % para la valoración del tramadol HCl, 1.78 % para la disolución del dexketoprofeno y 3.43 % para la disolución del tramadol HCl, lo cual cumple con el criterio de aceptación por lo cual se comprueba que el método analítico propuesto es confiable y produce resultados consistentes. Por otro lado, la precisión intermedia se evaluó con dos diferentes analistas cada uno preparando 6 muestras diferentes las cuales fueron inyectadas por triplicado. Los reglamentos de validación de metodologías analíticas para medicamentos de la ICH Q2(R1) y la USP <1225> establecen que la desviación estándar de el porcentaje de recuperación debe ser menor al 6 % (ICH, 2005; USP, 2008a). Los resultados fueron, 0.81 % para la valoración del dexketoprofeno, 0.82 % para la valoración del tramadol HCl, 1.74 % para la disolución del dexketoprofeno y 3.39 % para la disolución del tramadol HCl, lo cual al estar dentro del criterio de aceptación demuestra que los resultados producidos por el método propuesto no varían a pesar de sufrir ligeras variaciones en el ambiente de análisis. Ya que se demostró que el método es replicable y cumple con los criterios de precisión intermedia se comprueba que el método propuesto es preciso y confiable para el análisis de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos.

Finalmente, se evaluó la robustez del método. La ICH Q2(R1) y USP <1226> establecen que esta es una parte crucial de la validación de un método analítico ya que este debe ser robusto ante pequeñas variaciones en el sistema, sin embargo, no establecen parámetros de aceptación. Para evaluar este aspecto se realizaron cambios en la temperatura, flujo y longitud de onda, se realizaron 5 inyecciones de cada condición (baja, normal y alta). El análisis de los resultados se llevó a cabo por medio de un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con una confianza del 95 %. Siendo el criterio de aceptación si la probabilidad es mayor que 0.05 se demuestra que no hay diferencias significativas entre los resultados producidos por el cambio de condiciones y se demuestra el método es robusto ante esa variación. Los resultados se pueden observar en el Cuadro 13 en la página 27, siendo los resultados de flujo los únicos que cumplieron con el criterio demostrando que el método es robusto ante pequeñas variaciones en su flujo, pero es afectado significativamente si las variaciones son producidas en la temperatura y la longitud de onda por lo cual se recomienda mantener bajo supervisión estos últimos dos parámetros para asegurar resultados confiables (USP, 2008b).

El resumen de los resultados se puede encontrar en los Cuadros 8-13 páginas 21-27, en dichas Cuadros se pueden observar tanto el criterio de aceptación como el resultado y el dictamen de cada uno, todos los criterios están en cumplimiento por lo que se demuestra que el método propuesto para los análisis de cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl en tabletas recubiertas es válido y produce resultados confiables.

IX. CONCLUSIONES

- Se cumplió con el objetivo de validar el método analítico propuesto mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la cuantificación y disolución de dexketoprofeno y tramadol HCl en comprimidos recubiertos. El método desarrollado cumple con los requerimientos establecidos por las principales guías y reglamentos de validación de métodos analíticos como lo son el reglamento técnico centroamericano (RTCA), la guía ICH Q2(R1) y la Farmacopea de los Estados Unidos (USP). Confirmando así que el método es adecuado y produce resultados confiables para el análisis de cuantificación y disolución simultánea de ambos compuestos activos presentes en la tableta recubierta.
- Se lograron validar los parámetros de aptitud del sistema, especificidad, linealidad del sistema, linealidad del método, intervalo, exactitud y precisión, siendo esta última validada en términos de repetibilidad y precisión intermedia, utilizando los criterios establecidos por la ICH Q2(R1) y la USP.
- Se cumplió con el objetivo de validar que el método analítico propuesto es específico para los análisis de cuantificación y disolución simultánea del dexketoprofeno y tramadol HCl, ya que los tiempos de retención no se vieron afectados ante la presencia de interferentes, así mismo los picos no presentaron deformaciones en su estructura como ensanchamientos o alargamientos lo que confirma la especificidad del método.
- Fue posible comprobar la robustez del método ante pequeñas variaciones en el flujo. Sin embargo, se identificó que hay diferencias significativas en los resultados cuando se modificaron parámetros críticos como la temperatura y la longitud de onda, afectando la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos. Por lo tanto, para garantizar la confiabilidad de los resultados es necesario mantener estos parámetros constantes.

X. RECOMENDACIONES

Al utilizar el método propuesto y validado en este trabajo, se recomienda controlar rigurosamente la temperatura y la longitud de onda ya que la variación de estos dos parámetros afecta significativamente el resultado obtenido. Así mismo, se recomienda realizar revalidaciones del método periódicamente especialmente cuando se introducen cambios en el sistema cromatográfico o en la formulación del comprimido. Por último, para futuras investigaciones, se recomienda optimizar el método propuesto con la finalidad de obtener mejores resultados en la robustez, una mejora podría ser la implementación de una columna cromatográfica de mayor tolerancia a dichas variaciones.

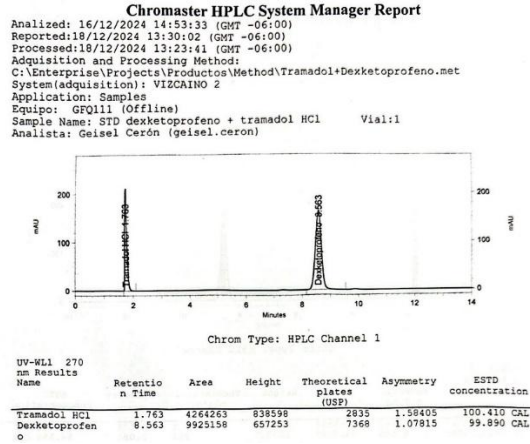
XI. BIBLIOGRAFÍA

- AEFI. (2024). *Conócenos*. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria.
<https://aefi.org/conocenos> AEFI
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2023a). *Ficha técnica Dexketoprofeno Cinfa 12,5 mg: comprimidos recubiertos con película EFG* (Nº Registro: 77.840).
https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/77840/FT_77840.html
- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2023b). *Ficha técnica Tramadol Cinfa 50 mg: cápsulas duras EFG* (Nº Registro: 63.440).
https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/63440/FT_63440.html
- Asociación Española de Farmacéuticos en la Industria. (2001). *Validación de métodos analíticos*.
Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria.
- European Medicines Agency. (2006). *Q2(R1) Validation of analytical procedures: Text and methodology* (CPMP/ICH/381/95). https://www.ema.europa.eu/.../first-version_en.pdf
- Farmacopea de los Estados Unidos de América. (2024). *Capítulo general (1092) Procedimiento de disolución: Desarrollo y validación*. USP-NF.
https://doi.usp.org/USPNF/USPNF_M643_05_02.html
- García, C., et al. (2017). *Prevalencia de dolor crónico en una población rural en Guatemala*. *Ciencia Tecnología y Salud*, 4(2), 268. (ISSN: 2409-3459)
- González, M. (2024). *Estudio situacional del uso de medicamentos en el área comercial de Guatemala* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala].
<https://www.biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1614.pdf>
- Human Rights Watch. (2017). “Castigar al paciente”: *Garantizar el acceso al tratamiento del dolor en Guatemala*. <https://www.hrw.org/es/report/2017/05/17/castigar-al-paciente/garantizar-el-acceso-al-tratamiento-del-dolor-en-guatemala> Human Rights Watch
- ICH. (2005). *ICH Harmonised Tripartite Guideline: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)*. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.

- International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. (1995). *Validation of analytical procedures: Text and methodology (ICH Guideline Q2(R1))*. European Medicines Agency.
https://www.ema.europa.eu/.../text-methodology-step-5-first-version_en.pdf
- Martínez, V. (2015). *Estudio de robustez durante la validación de un método de disolución de tabletas conteniendo Tramadol* [Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. Repositorio UNAM. <https://ru.dgb.unam.mx/.../TES01000725076/3/0725076.pdf>
- Moore, R., et al. (2016). *Dexketoprofen/tramadol 25 mg/75 mg: ensayo aleatorizado doble ciego en dolor agudo moderado a severo después de histerectomía abdominal*. *BMC Anesthesiology*, 16(1), 9. <https://doi.org/10.1186/s12871-016-0174-5>
- Moran, J. y Rivera, W. (2022). *Validación de un método analítico para la cuantificación de Dexketoprofeno y Tramadol HCl en tabletas recubiertas por cromatografía líquida de alta eficiencia* [Tesis de licenciatura, Universidad de El Salvador].
- Organización Mundial de la Salud. (2010). *Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos* (Anexo 1, Serie de Informes Técnicos de la OMS, No. 957). https://extranet.who.int/.../TRS957_annex1_SPANISH.pdf
- Secretaría de Integración Económica Centroamericana. (2006). *Resolución 188-2006 del COMIECO*. <https://www.sieca.int/producto/resolucion-188-2006-comieco/>
- U.S. Food and Drug Administration. (2015). *Analytical procedures and methods validation for drugs and biologics (Guía para la industria)*.
<https://www.fda.gov/files/drugs/.../Analytical-Procedures-and-Methods-Validation-for-Drugs-and-Biologics.pdf>
- United States Pharmacopeia. (2008a). <1225> *Validation of Compendial Procedures*. En *USP 32-NF 27*. The United States Pharmacopeial Convention.
- United States Pharmacopeia. (2008b). <1226> *Verification of Compendial Procedures*. En *USP 32-NF 27*. The United States Pharmacopeial Convention.
- United States Pharmacopeia. (2024). <1225> *Validation of compendial procedures*. *United States Pharmacopeia–National Formulary*. https://doi.org/10.31003/USPNF_M99945_04_01

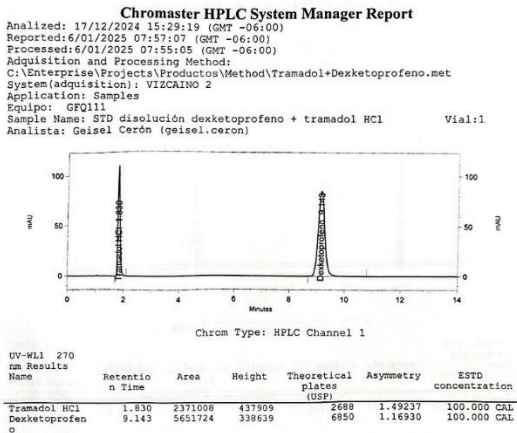
XII. ANEXOS.

Anexo 1. Estándar aptitud del sistema valoración



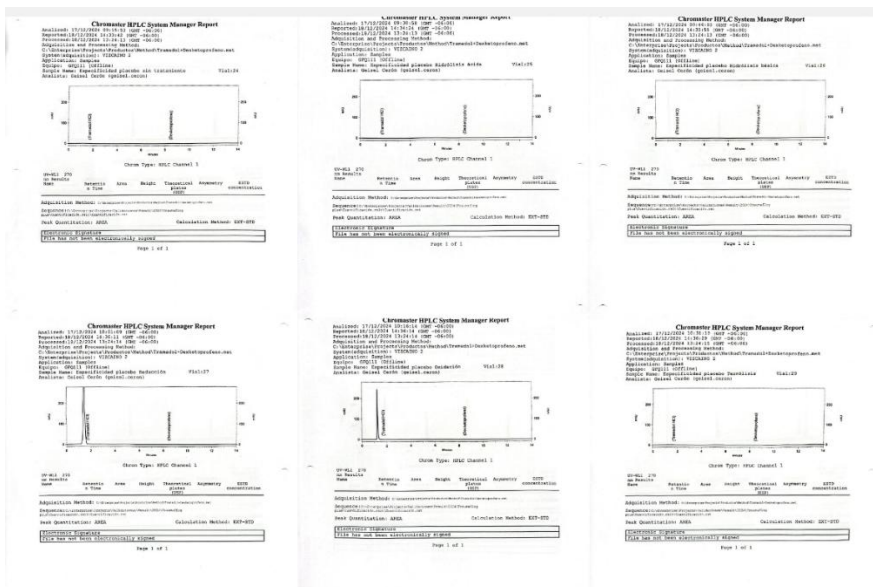
El Anexo 1 presenta el cromatograma obtenido en la prueba de aptitud del equipo en el análisis de cuantificación. El análisis se llevó a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 2. Estándar aptitud del sistema disolución



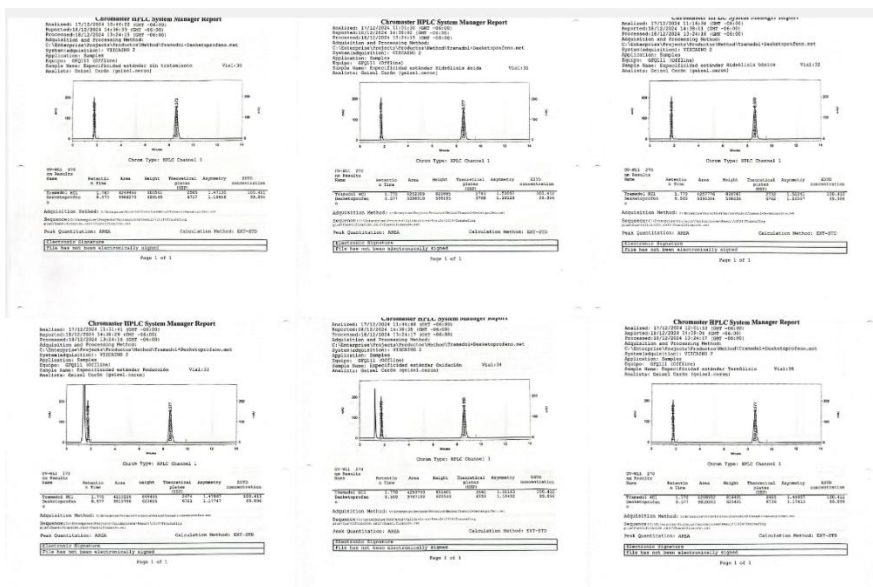
El Anexo 2 presenta el cromatograma obtenido en la prueba de aptitud del sistema en el análisis de disolución. El análisis se llevó a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 3. Especificidad placebo cuantificación



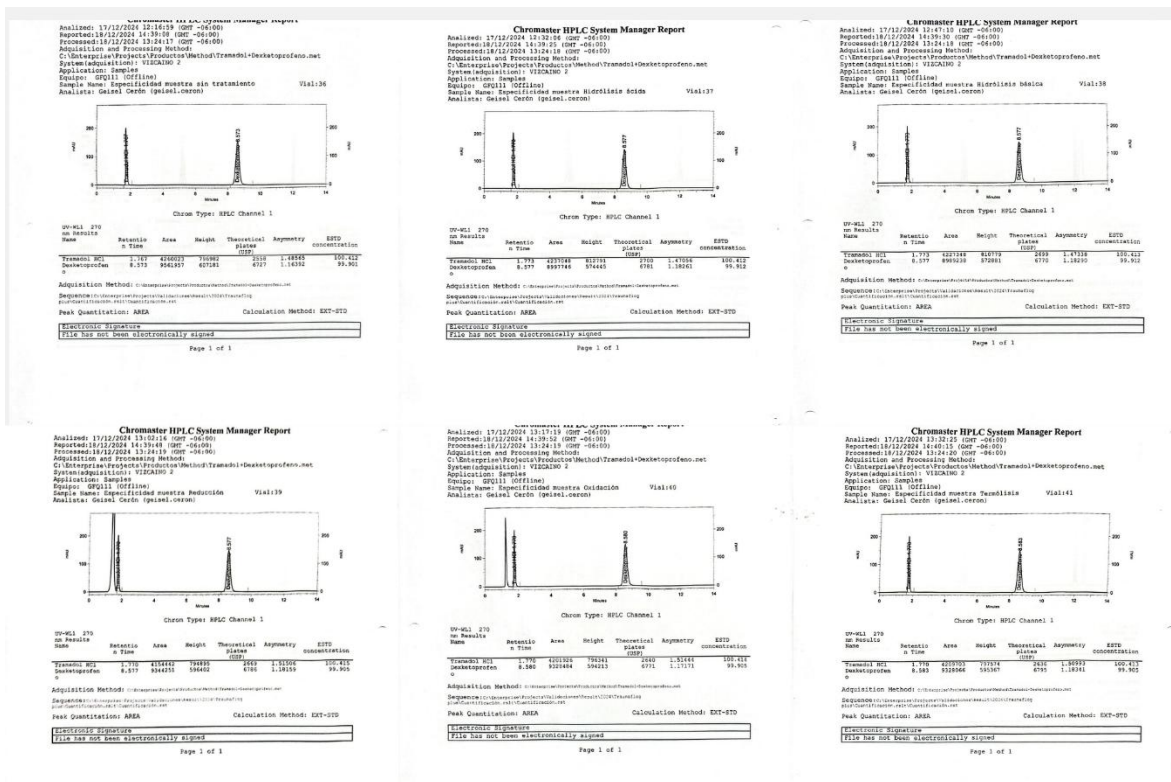
El Anexo 3 presenta los cromatogramas obtenidos en la prueba de especificidad del placebo en la prueba de cuantificación. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 4. Especificidad estándar cuantificación



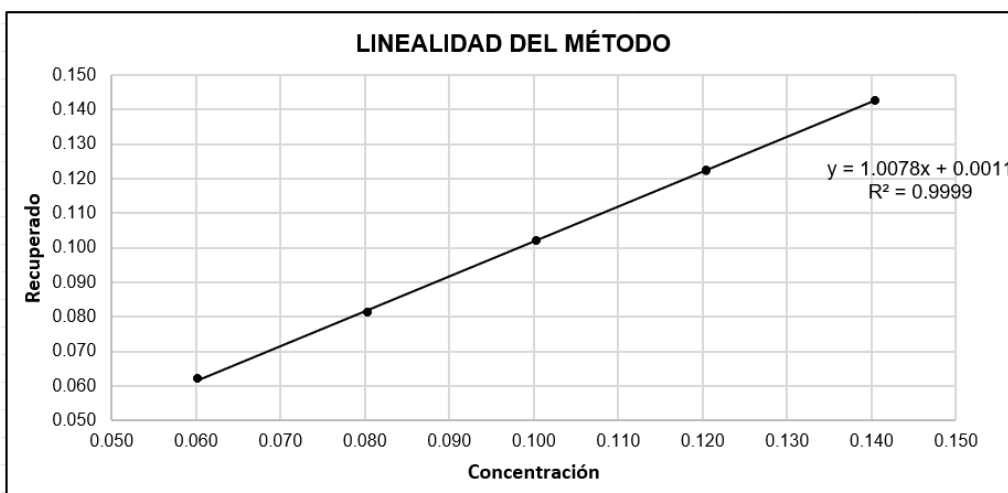
El Anexo 4 presenta los cromatogramas obtenidos en la prueba de especificidad del estándar en la prueba de cuantificación. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 5. Especificidad muestra cuantificación



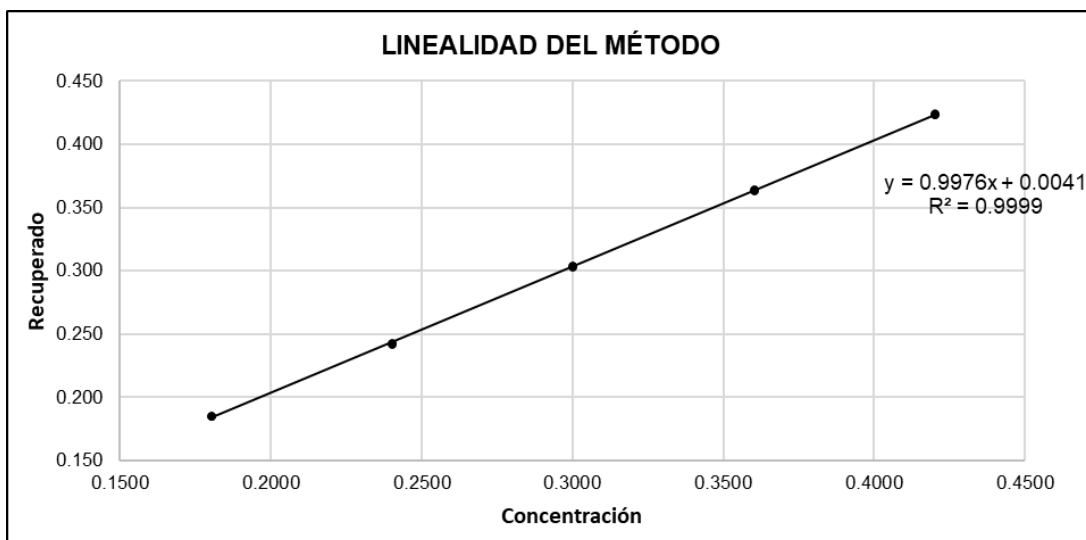
El Anexo 5 presenta los cromatogramas obtenidos en la prueba de especificidad de la muestra en la prueba de cuantificación. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 6. Regresión lineal linealidad del método cuantificación dexketoprofeno.



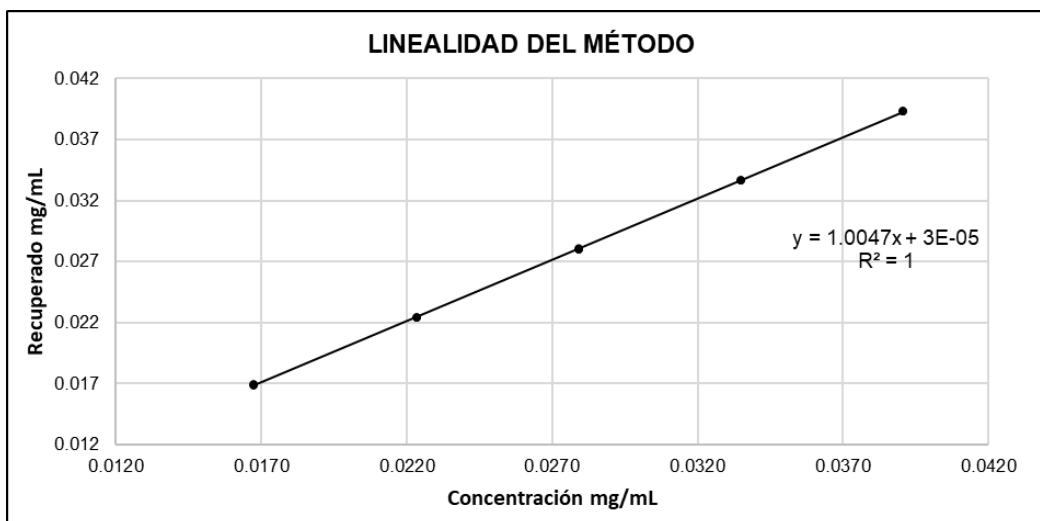
El Anexo 6 presenta la regresión lineal de la linealidad del método de la cuantificación del dexketoprofeno donde tanto el eje Y como el eje X están medidos en mg/mL. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 7. Regresión lineal linealidad del método cuantificación Tramadol HCl.



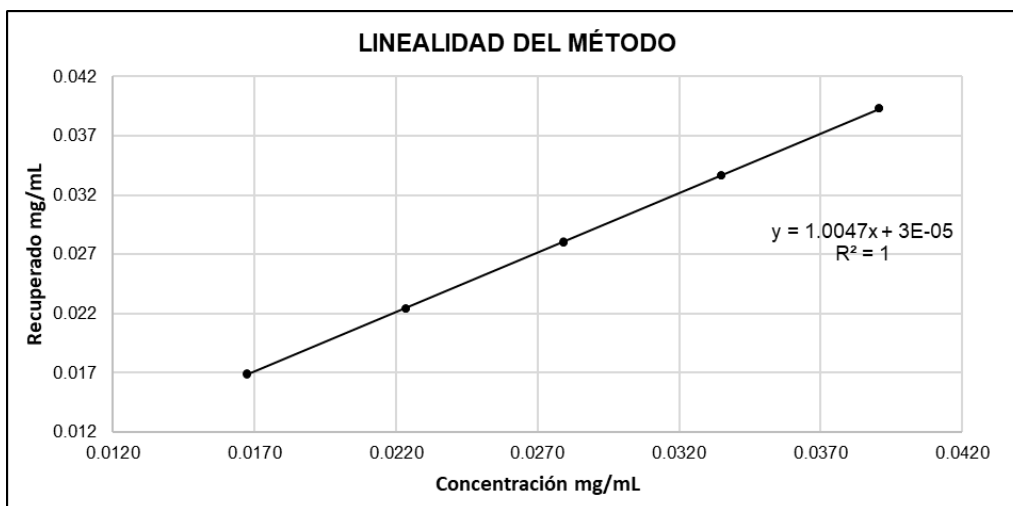
El Anexo 7 presenta la regresión lineal de la linealidad del método de la cuantificación del tramadol HCl donde tanto el eje Y como el eje X están medidos en mg/mL. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 8. Regresión lineal linealidad del método disolución dexketoprofeno.



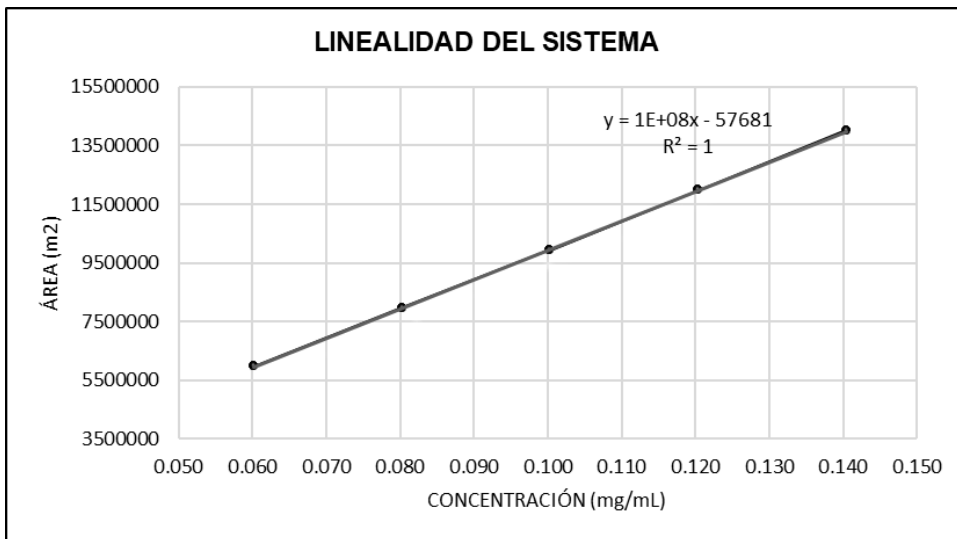
El Anexo 8 presenta la regresión lineal de la linealidad del método de la disolución del dexketoprofeno donde tanto el eje Y como el eje X están medidos en mg/mL. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 9. Regresión lineal linealidad del método disolución tramadol HCl.



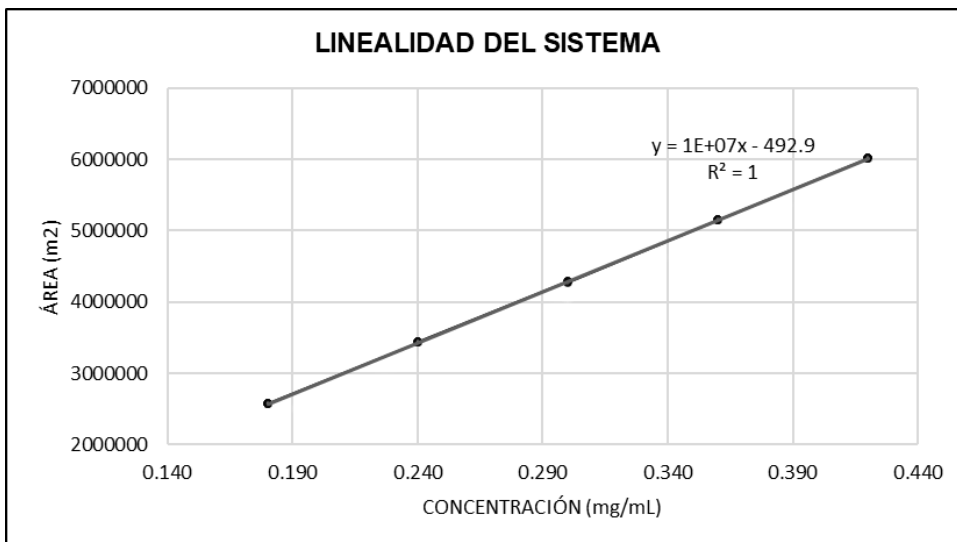
El Anexo 9 presenta la regresión lineal de la linealidad del método de la disolución del tramadol HCl donde tanto el eje Y como el eje X están medidos en mg/mL. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 10. Regresión lineal linealidad del sistema cuantificación dexketoprofeno.



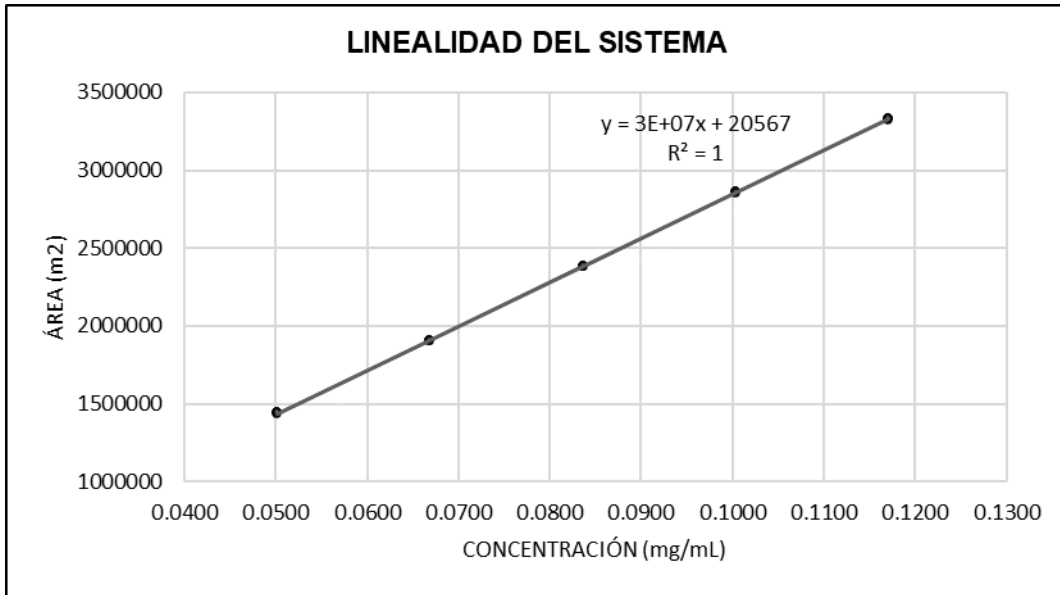
El Anexo 10 presenta la regresión lineal de la linealidad del sistema de la cuantificación de dexketoprofeno. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 11. Regresión lineal linealidad del sistema cuantificación tramadol HCl.



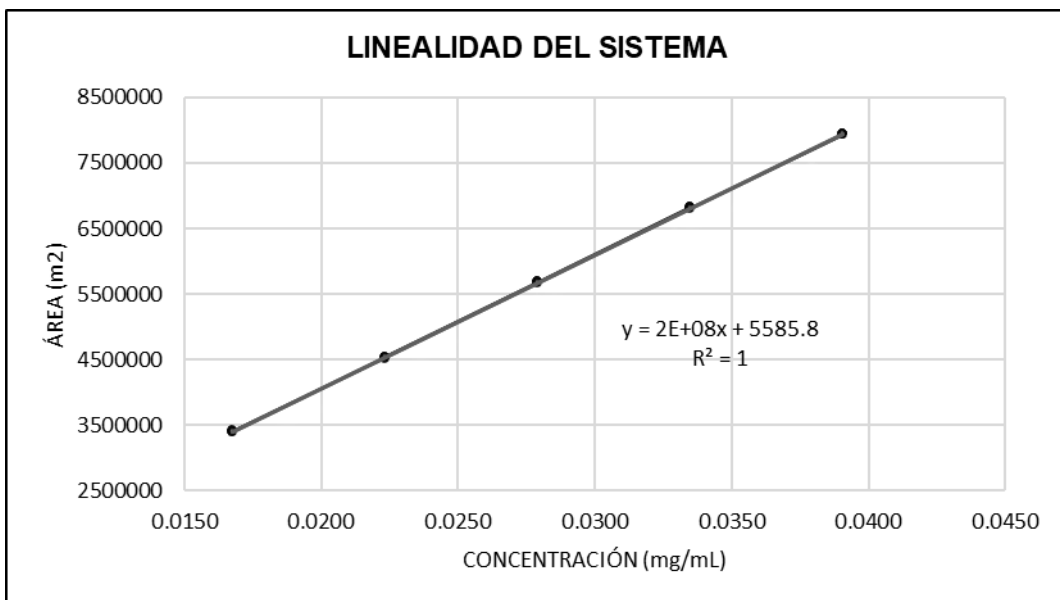
El Anexo 10 presenta la regresión lineal de la linealidad del sistema de la cuantificación de tramadol HCl. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 12. Regresión lineal linealidad del sistema disolución dexketoprofeno.



El Anexo 12 presenta la regresión lineal de la linealidad del sistema de la disolución de dexketoprofeno. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 13. Regresión lineal linealidad del sistema disolución tramadol HCl.



El Anexo 12 presenta la regresión lineal de la linealidad del sistema de la disolución de tramadol HCl. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 14. Parámetros de validación

Cuadro 14. Parámetros de aceptación

Prueba	Parámetro
Especificidad	No se deben encontrar interferentes que afecten el tiempo de retención del principio activo
Linealidad del sistema	Coefficiente de correlación r de la regresión lineal mayor o igual a 0.99
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98
	El intervalo de confianza para la pendiente no debe incluir el 0
Linealidad del método	Coefficiente de correlación r mayor o igual a 0.99
	Coefficiente de determinación de la recta de regresión de la curva de calibración es mayor a 0.98
	El intervalo de confianza para la pendiente debe incluir la unidad
Intervalo	El intervalo de concentración del principio activo se encuentra entre 60% a 140%
Exactitud	El intervalo de confianza se encuentra entre 95% a 105%
	El coeficiente de variación del porcentaje de recobro es menor o igual a 6%
Repetibilidad	Coefficiente de variación menor o igual a 6%
Precisión intermedia	Coefficiente de variación menor o igual a 6%
Precisión	Se cumple con los criterios de Repetibilidad y precisión intermedia

Los parámetros de aceptación utilizados fueron establecidos con base en las guías ICH Q2(R1), USP <1225> <1226> y recomendaciones prácticas comúnmente aceptadas en laboratorios de control de calidad, así como en documentación técnica de validación de métodos analíticos propuesta el RTCA.

Anexo 15. Estadísticos aptitud del sistema

	Dexketoprofeno cuantificación		Tramadol Cuantificación		Dexketoprofeno Disolución		Tramadol Disolución	
	Tiempo de retención (min)	Área (m ²)	Tiempo de retención (min)	Área (m ²)	Tiempo de retención (min)	Área (m ²)	Tiempo de retención (min)	Área (m ²)
Media	8.557166667	9923362.5	1.763	4263618.67	9.1415	5661849	1.83	2377652.17
Desviación Estándar	0.004490731	5620.77001	0	1991.58175	0.0016432	5259.55143	0	3518.02714
Coefficiente de Variación	0.052479183	0.056641789	0	0.04671107	0.0179748	0.09289459	0	0.14796223

El Anexo 15 presenta un resumen de los estadísticos obtenidos en la aptitud del sistema de todos los análisis realizados. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 16. Estadísticos linealidad del sistema

	Dexketoprofeno cuantificación	Tramadol Cuantificación	Dexketoprofeno Disolución	Tramadol Disolución
Pendiente (m ² *mL/mg)	100045384.3	14289629.96	203138522.6	28249416
Ordenada (m ²)	-57680.76667	-492.9	5585.766667	20567.1
Coefficiente de correlación (r)	0.999980143	0.999986284	0.999979847	0.99999151
Coefficiente de determinación (r ²)	0.999960286	0.999972568	0.999959695	0.99998301
I.C. Limite Superior (m ² *mL/mg)	14342202.6	100488255.8	204044429.7	28331205.8
I. C. Limite Inferior (m ² *mL/mg)	14237057.33	99602512.85	202232615.6	28167626.3

El Anexo 16 presenta un resumen de los estadísticos obtenidos en la linealidad del sistema de todos los análisis realizados. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 17. Estadísticos linealidad del método

	Dexketoprofeno cuantificación	Tramadol Cuantificación	Dexketoprofeno Disolución	Tramadol Disolución
Pendiente	1.00782858	0.997554738	1.004694962	1.00132315
Ordenada (mg/mL)	0.001060779	0.004054926	2.9533E-05	0.00027046
Coefficiente de correlación (r)	0.999948582	0.999950146	0.999984828	0.9999889
Coefficiente de determinación (r ²)	0.999897168	0.999900295	0.999969656	0.9999778
I.C. Limite Superior	1.015007768	1.004551841	1.008582546	1.0046373
I. C. Limite Inferior	1.000649392	0.990557634	1.000807378	0.99800901

El Anexo 18 presenta un resumen de los estadísticos obtenidos en la linealidad del método de todos los análisis realizados. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 19. Estadísticos Exactitud

	Dexketoprofeno cuantificación	Tramadol Cuantificación	Dexketoprofeno Disolución	Tramadol Disolución
Media (%)	101.9561157	101.2503288	100.5962857	100.494986
Desviación Estándar (%)	0.640325178	0.725175951	0.20731287	0.23109088
Coefficiente de Variación	0.628039989	0.716220836	0.206084021	0.22995265
I.C. Limite Superior (%)	102.3710259	101.7202196	100.7306178	100.644725
I. C. Limite Inferior (%)	101.5412054	100.780438	100.4619536	100.345246

El Anexo 19 presenta un resumen de los estadísticos obtenidos en la exactitud de todos los análisis realizados. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm).

Anexo 20. Estadísticos repetibilidad

	% Dexketoprofeno cuantificación	% Tramadol Cuantificación	% Dexketoprofeno Disolución	% Tramadol Disolución
Media	98.41284579	100.6286447	100.9056218	101.444412
Desviación Estándar	1.080837551	0.610868393	1.791377846	3.4836717
Coefficiente de Variación	1.09826877	0.607052191	1.775300339	3.43406958
Incertidumbre	0.441250083	0.249385977	0.731326943	1.42220302

El Anexo 20 presenta un resumen de los estadísticos obtenidos en la repetibilidad de todos los análisis realizados. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 21. Estadísticos precisión intermedia

	Dexketoprofeno cuantificación	Tramadol Cuantificación	Dexketoprofeno Disolución	Tramadol Disolución
Media (%)	98.62880012	100.4210038	100.3947988	102.230998
Desviación (%) Estándar	0.798206513	0.819712546	1.750457482	3.4674173
Coefficiente de Variación	0.809303684	0.816275993	1.743573873	3.39174748

El Anexo 21 presenta un resumen de los estadísticos obtenidos en la precisión de todos los análisis realizados. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 22. ANOVA robustez temperatura

ANÁLISIS DE VARIANZA Tramadol HCl

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.218048068	2	0.109024034	12.82119062	0.001049603	3.885293835
Dentro de los grupos	0.102041101	12	0.008503425			
Total	0.320089169	14				

ANÁLISIS DE VARIANZA Dexketoprofeno

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	3.909841783	2	1.954920891	276.2627527	9.23E-11	3.885293835
Dentro de los grupos	0.084915721	12	0.00707631			
Total	3.994757503	14				

El Anexo 22 presenta los análisis de varianza para la robustez de temperatura de ambos principios activos. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 23. ANOVA robustez longitud de onda

ANÁLISIS DE VARIANZA tramadol HCl

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.709194485	2	0.854597243	47.01623583	2.10114E-06	3.885293835
Dentro de los grupos	0.218119693	12	0.018176641			
Total	1.927314178	14				

ANÁLISIS DE VARIANZA dexketoprofeno

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2.381082388	2	1.190541194	80.89684028	1.08E-07	3.885293835
Dentro de los grupos	0.176601389	12	0.014716782			
Total	2.557683777	14				

El Anexo 23 presenta los análisis de varianza para la robustez de la longitud de onda de ambos principios activos. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 24. ANOVA robustez flujo

ANÁLISIS DE VARIANZA tramadol HCl

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.023697911	2	0.011848956	1.103989838	0.362989041	3.885293835
Dentro de los grupos	0.128794181	12	0.010732848			
Total	0.152492092	14				

ANÁLISIS DE VARIANZA dexketoprofeno

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0.042905028	2	0.021452514	2.167733957	0.1571441	3.885293835
Dentro de los grupos	0.118755425	12	0.009896285			
Total	0.161660453	14				

El Anexo 24 presenta los análisis de varianza para la robustez del flujo de ambos principios activos. Los análisis se llevaron a cabo con el equipo HPLC VWR HITACHI Chromaster con detector UV de D₂ (rango de 190 nm a 600 nm)

Anexo 25. Cálculo media del tiempo de retención de adaptabilidad cuantificación tramadol

En este cálculo se presenta la forma en la cual fue calculada la media de los tiempos de retención obtenidos por el equipo en la prueba de aptitud del sistema de la cuantificación del tramadol HCl. Este procedimiento se replicó para la obtención de todas las medias.

La fórmula utilizada fue:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Donde:

\bar{x} = media

x_i = cada uno de los valores individuales del conjunto de datos

n = numero total de valores

Σ = sumatoria de todos los valores

Al sustituir los valores reales en la formula se obtiene:

$$\bar{x} = \frac{1.763 + 1.763 + 1.763 + 1.763 + 1.763 + 1.763}{6} = 1.763 \text{ minutos}$$

Anexo 26. Cálculo desviación estándar tiempo de retención adaptabilidad cuantificación tramadol.

En este cálculo se presenta la forma en la cual fue calculada la desviación estándar de los tiempos de retención obtenidos por el equipo en la prueba de aptitud del sistema de la cuantificación del tramadol HCl. Este procedimiento se replicó para la obtención de todas las desviaciones estándar

La fórmula utilizada fue:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Donde:

s = desviación estándar muestral

\bar{x} = media

x_i = cada uno de los valores individuales del conjunto de datos

n = numero total de valores

Σ = sumatoria de todos los valores

Al sustituir los valores reales en la formula se obtiene:

$$s = \sqrt{\frac{1}{6-1} * 0} = 0 \text{ minutos}$$

Anexo 27. Cálculo coeficiente de variación tiempo de retención adaptabilidad cuantificación tramadol.

En este cálculo se presenta la forma en la cual fue calculado el coeficiente de variación de los tiempos de retención obtenidos por el equipo en la prueba de aptitud del sistema de la cuantificación del tramadol HCl. Este procedimiento se replicó para la obtención de todas las desviaciones estándar

La fórmula utilizada fue:

$$CV(\%) = \left(\frac{S}{\bar{x}}\right) * 100$$

Donde:

$CV(\%)$ = es el coeficiente de variación en porcentaje

s = desviación estándar muestral

\bar{x} = media

$$CV(\%) = \left(\frac{0}{1.76}\right) * 100 = 0 \%$$

Anexo 28. Cálculo del intervalo de confianza para la pendiente de la linealidad del método para el tramadol HCl

En este cálculo se presenta la forma en la cual fue calculado el intervalo de confianza para la pendiente de la linealidad del método de la cuantificación de tramadol HCl. Este procedimiento se replicó para la obtención de todos los intervalos de confianza de la pendiente.

La formula utilizada para el calculo de el intervalo de confianza fue:

$$IC = b \pm t_{(n-2, \frac{\alpha}{2})} * S_b$$

Donde:

IC = intervalo de confianza

b = pendiente de la recta de regresión

$t_{(n-2, \frac{\alpha}{2})}$

= Valór crítico de t de student con 13 grados de libertad y 95% de confianza

n = numero de puntos

S_b = error estándar de la pendiente

La fórmula utilizada para el cálculo de el error estándar de la pendiente fue:

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

Donde:

S_b = error estándar de la pendiente

b_0 = intercepto de la recta de regresión

b_1 = pendiente de la recta de regresión

Al sustituir los valores reales en la fórmula de error estándar de la pendiente se obtiene:

$$S_b = \sqrt{\frac{\frac{1.490 - 0.998 * 1.475 - 0.004 * 4.553}{15 - 2}}{1.460 - \frac{20.28}{15}}} = 0.0028$$

Al sustituir los valores reales y el resultado del error estándar de la pendiente en la fórmula de el intervalo de confianza para la pendiente se obtiene:

$$IC = 0.998 \pm 2.53 * 0.0028 = (0.991, 1.005)$$

Anexo 26. Cálculo del intervalo de confianza para la media poblacional de la exactitud para la cuantificación de tramadol HCl

En este cálculo se presenta la forma en la cual fue calculado el intervalo de confianza de la media de la exactitud para la cuantificación de tramadol HCl. Este procedimiento se replicó para la obtención de todos los intervalos de confianza de la media.

La fórmula utilizada para el cálculo de el intervalo de confianza fue:

$$IC = \bar{x} \pm t_{\alpha/2} * \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Donde:

\bar{x} = media muestral

$t_{\alpha/2}$

= valor crítico de t de Student para 95% de confianza con 14 grados de libertad

s = desviación estándar muestral

$n = \text{tamaño del la muestra}$

Al sustituir los valores reales en la fórmula de cálculo de intervalo de confianza para la media obtenemos:

$$IC = 101.25 \pm 2.5096 * \frac{0.73}{\sqrt{15}} = (100.78, 101.72) \%$$

Anexo 29. Cálculo de la incertidumbre del porcentaje de recuperación en la cuantificación de tramadol HCl

En este cálculo se presenta la forma en la cual fue obtenida la incertidumbre del porcentaje de recuperación en la cuantificación de tramadol HCl. Este cálculo se replicó para la obtención de todas las incertidumbres

$$u = \frac{\sum(u_s)^2}{n * (n - 1)}$$

Donde:

$u = \text{incertidumbre combinada}$

$u_s = \text{incertidumbre de la desviación estándar}$

$n = \text{tamaño del la muestra}$

Al sustituir los valores reales en la fórmula de cálculo de incertidumbre obtenemos:

$$u = \frac{1.8658}{6 * (6 - 1)} = 0.25 \%$$