

**Desenvolvimento e validação de um método para quantificação de  
citrato de sildenafil em CLAE-UV****Development and validation of a method for quantification of sildenafil  
citrate in UV-HPLC**

DOI:10.34119/bjhrv3n1-021

Recebimento dos originais: 30/11/2019

Aceitação para publicação: 16/01/2020

**Victória Júlya Alves de Albuquerque**

Bacharelado em Farmácia

Instituição: Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-Unita

Endereço: Av. Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru – PE

E-mail: victoria\_albuquerque@hotmail.com

**Albiele Tatiana Guedes Reinaldo**

Bacharelado em Farmácia

Instituição: Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-Unita

Endereço: Av.Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru – PE

E-mail: albieletatianaguedes@gmail.com

**Diego Andrade Silva**

Graduando em Bacharel em Farmácia

Instituição: Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-Unita

Endereço: Av.Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru – PE

E-mail: diegoandradex12@gmail.com

**Saulo Gabriel Ferreira Silva**

Formação acadêmica: Graduando em Bacharel em Farmácia

Instituição: Centro Universitário Tabosa de Almeida- Asces-Unita

Endereço: Av.Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru – PE

E-mail: saulo2009@live.com.pt

**Clayton Anderson de Azevedo Filho**

Doutor em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Endereço: Av.Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru – PE

E-mail: claytonfilho@asces.edu.br

**Ellison Neves de Lima**

Doutor em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Endereço: Av.Portugal, 584, Bairro Universitário- Caruaru – PE

E-mail: ellisonlima@asces.edu.br

**Carlos Eduardo Miranda de Sousa**

Doutor em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Endereço: Loteamento São Vicente Ferrer, 71, Cajá – Vitória de Santo Antão/PE.

E-mail: eduardosousafarma@gmail.br

**RESUMO**

O citrato de sildenafil é um inibidor potente e seletivo da PDE5, presente em vários tecidos, tais como o vascular e o muscular liso. É comercializado por diferentes origens no mercado, que podem não estar em conformidade com as especificações da legislação brasileira. Com isso, é essencial a identificação e quantificação do princípio ativo mencionado no rótulo do produto. Utilizou-se amostras de medicamentos referência, genérico e similar, em forma de comprimido, na dose de 50 mg. O método foi desenvolvido por meio de CLAE acoplado a um detector de espectroscopia UV de comprimento de onda fixo com os seguintes parâmetros: fase estacionária foi a coluna Kinetex C18 de fase reversa 150 x 4,6 mm (5 µm) com fase móvel constituída por acetonitrila e água em modo isocrático com fluxo de 0,8 mL/min e injeção de 20 µL com detecção a 230 nm. O desenvolvimento e validação de método analítico foram realizados conforme os parâmetros segundo a RDC 166/2017. Na linearidade, foi feita uma curva de calibração de 5 pontos, com coeficiente de variação (CV) menores que 1,85, cada um em triplicata, resultando em:  $r = 0,9995$ ,  $y = 159085,8x + (-3102497)$ . A exatidão foi testada com injeções em triplicata, resultando nas seguintes médias: 39,884; 49,940 e 60,123 respectivamente. Na precisão do método realizou-se a injeção da solução de 50 µg/mL em dois dias diferentes, por diferentes analistas, totalizando 18 injeções e resultando em CV abaixo de 1,85. Para o efeito matriz, seguiu-se do mesmo modo da linearidade, obtendo-se:  $r = 0,9924221$  e  $y = 154533,3x + (-3080449)$ . A robustez foi avaliada injetando-se 6 vezes a solução padrão e teste (1 e 2), resultando no CV de 0,84; 1,08; 1,22 na devida ordem. No doseamento dos medicamentos de referência, genérico e similar, o teor resultou de 95,43-100,00; O método desenvolvido através de CLAE revelou-se adequado para a quantificação de Sildenafil em comprimido. Os três produtos analisados, todos obtiveram dados dentro da faixa preconizada pela RDC 166/2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

**Palavras-chave:** Citrato de Sildenafil; validação; CLAE-UV.**ABSTRACT**

Sildenafil citrate is a potent and selective PDE5 inhibitor present in various tissues such as vascular and smooth muscle. It is marketed by different sources in the market, which may not comply with the specifications of Brazilian law. Therefore, the identification and quantification of the active ingredient mentioned on the product label is essential. Samples of generic and similar reference drugs were used in tablet form at a dose of 50 mg. The method was developed by HPLC coupled to a fixed wavelength UV spectroscopy detector with the following parameters: stationary phase was the Kinetex C18 reverse phase 150 x 4.6 mm (5 µm) column with mobile phase consisting of acetonitrile and water in isocratic mode with 0.8 mL / min flow and 20 µL injection with detection at 230 nm. The development and validation of the analytical method were performed according to the

parameters according to RDC 166 / 2017. In linearity, a 5-point calibration curve was made, with coefficient of variation (CV) less than 1.85, each in triplicate. resulting in:  $r = 0.9995$ ,  $y = 159085.8x + (-3102497)$ . Accuracy was tested with triplicate injections, resulting in the following averages: 39.884; 49.940 and 60.123 respectively. In the accuracy of the method, the 50  $\mu\text{g} / \text{mL}$  solution was injected on two different days by different analysts, totaling 18 injections and resulting in a CV below 1.85. For the matrix effect, it was followed in the same way as linearity, giving:  $r = 0.9924221$  and  $y = 154533.3x + (-3080449)$ . Robustness was assessed by injecting 6 times the standard solution and test (1 and 2), resulting in a CV of 0.84; 1.08; 1.22 in due order. In the dosing of reference drugs, generic and similar, the content resulted from 95.43-100.00; The HPLC method was found to be suitable for quantification of Sildenafil in tablet. The three products analyzed, all obtained data within the range recommended by RDC 166/2017 of the National Health Surveillance Agency (ANVISA).

**Keywords:** Sildenafil Citrate; validation; HPLC-UV.

## 1 INTRODUÇÃO

Os inibidores da fosfodiesterase do tipo 5 (IPDE-5) como sildenafil, vardenafil e tadalafila são fármacos usados no tratamento da disfunção erétil, porém sildenafil também é indicado para hipertensão pulmonar. Sildenafil é o insumo farmacêutico ativo do Viagra<sup>®</sup> (Pfizer), cujo medicamento é o mais usado no mundo para o tratamento da disfunção erétil masculina. (BACKES, 2017).

O citrato de sildenafil (CS) ( Figura 1) é um inibidor potente e seletivo da PDE5, presente em vários tecidos tais como o vascular e o muscular liso. Estudos clínicos e experimentais têm demonstrado que o Sildenafil tem eficácia terapêutica em doenças inflamatórias crônicas, tais como disfunção endotelial, colites e doenças neuroinflamatórias (GOMES, 2015).

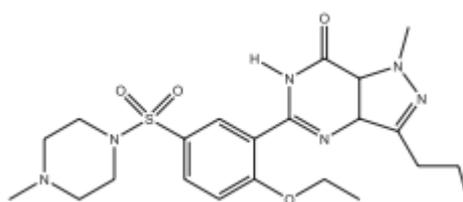


Figura 1. Estruturas químicas da sildenafil

IPDE-5 são enzimas responsáveis pela degradação enzimática das formas biologicamente ativas de guanosina monofosfato cíclico (GMPc) e de adenosina monofosfato cíclico (AMPc) em moléculas GMP e AMP. Dessa forma, no corpo cavernoso, a inibição da PDE5 leva ao aumento de concentração intracelular de GMPc, provocando

maior relaxamento da musculatura vascular lisa, facilitando a ereção peniana. Como a inibição é seletiva e temporária, os inibidores não afetam a ereção em momentos nos quais não se realiza o uso da medicação (RAFAEL, 2010; SARRIS, 2016).

Na avaliação interna da forma farmacêutica, torna-se essencial a identificação e quantificação do princípio ativo mencionado no rótulo do produto. Deve-se escolher método analítico adequado considerando-se as estabilidades física, química e físico-química das substâncias envolvidas, sob pena de se obterem dados errôneos acerca do produto examinado, são encontradas inúmeras referências na literatura sobre o emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) acoplada a diferentes tipos de detectores para determinação quantitativa do citrato de sildenafil. Em confronto com a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida mostra-se vantajosa na execução dos exames periciais solicitados nesses casos por contornar a labilidade térmica do citrato de sildenafil que se decompõe durante a fusão, a 189,4 °C (ORTIZ et al, 2010).

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica físico-química de separação que passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos, baseada no equilíbrio dos componentes de interesse, entre duas fases imiscíveis: fase estacionária e fase móvel. Ambos influenciam nas interações analíticas e no tempo de retenção dos analitos (EDIVAN et al, 2012; COLLINS et al 2006).

Atualmente, não há nenhum método analítico oficial descrito pela Farmacopeia Brasileira ou pelos compêndios internacionais para o controle de qualidade de formulações de CS. Na literatura são reportados vários trabalhos para análise de CS em amostras farmacêuticas por métodos cromatográficos, principalmente, por CLAE (BACKES *et al.* 2007; PETERLE, 2016). A validação analítica é a avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos (BRASIL, 2017). Em geral, deve-se incluir estudos de especificidade, linearidade, exatidão, precisão, sensibilidade, limites de detecção e de quantificação e robustez; além da calibração de equipamentos e de materiais, bem como da qualificação dos analistas.

Essa pesquisa visa ampliar a atenção para esse assunto através da análise de comprimidos do citrato de sildenafil, desenvolvendo um método de análise por cromatografia líquida de alta eficiência para validação dos mesmos, visto que não existe um método na Farmacopeia Brasileira por CLAE e quantificar medicamentos de diferentes fabricantes avaliando assim a qualidade e eficácia dos medicamentos em questão.

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 MATERIAIS

#### 2.1.1 Padrões e Amostras

O padrão do citrato de sildenafil foi obtido da Sigma-Aldrich®. Foram utilizadas para a pesquisa uma amostra do medicamento de referência, genérico e similar: Viagra® (Wyeth®), Citrato de Sildenafil (Medley®) e AHZUL (Legrand®), respectivamente. Todos em forma de comprimido (sólidos), na dose de 50mg.

#### 2.1.2 Reagentes

A acetonitrila grau HPLC (JT BAKER®, Phillipsburg, NJ, US), acetonitrila grau HPLC Merck® (Darmstadt, Alemanha), o metanol grau HPLC Merck® (Darmstadt, Alemanha). Água purificada foi obtida através de um sistema Elga Purelab Ultra da Elga Labwater® (Lane End, Reino Unido).

#### 2.1.3 Equipamentos

Utilizou-se os seguintes equipamentos: balança analítica (OHAUS®), Vortex Mixer (KASVI basic®), CLAE (Shimadzu, Kyoto, Japão), com injetor manual, equipado com duas bombas quaternárias (Shimadzu LC-20AD) ligadas ao desgaseificador (DGU 20A3) com integrador (CBM-20A), detector UV/VIS de comprimento de onda fixo e software LC solution Shimadzu. Na fase estacionária foram avaliadas as colunas: Gemini C18150x 4,6mm, 5u 110A Phenomenex®; Hypersil® ODS C18 100x 4,6mm, 10; C18 Shim-Pack® C18 150x 4,6mm, 10u e Kinetex® C18 150 x 4,6 mm, 5 µm Phenomenex®.

### 2.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES (SQR)

Para preparação da solução de SQR, foi pesado, exatamente, o equivalente a 50 mg de citrato de sildenafil e dissolvido em 100 mL de metanol (0,5 mg/mL) e levado para ultrassom por 10 min. Alíquotas desta solução foram diluídas em metanol para obter concentrações (40, 45, 50, 55 e 60 µg/mL) que foram utilizadas para o desenvolvimento e validação do método.

### 2.3 PROCESSAMENTO DA AMOSTRA

Para preparação das amostras, foi preciso utilizar o método de extração. Triturou-se uma unidade de comprimido em gral e pistilo, contendo 50 mg de citrato de sildenafil

e logo depois, foi diluído em 50 mL de metanol e levado para ultrassom por 10 min. Em seguida retirou-se 10 mL da amostra e centrifugou-se a 3400 rpm durante 10 min, para realizar a separação do princípio ativo dos outros componentes do comprimido. Posterior a centrifugação retirou-se o sobrenadante, o qual foi diluído em fase móvel e injetado.

#### 2.4 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO ANALÍTICO

No desenvolvimento deste método analítico avaliou-se na construção de diversas etapas como a preparação da amostra e sua extração, a escolha de condições cromatográficas, com a natureza e proporção da fase móvel e a quantificação do produto em questão. Parâmetros como a fase móvel, o fluxo, a coluna cromatográfica e o comprimento de onda de detecção foram avaliados experimentalmente e selecionado com critério analítico os que obtiveram as melhores condições.

Foram executadas diversas tentativas, com diversas formas de se trabalhar com fase móvel, como: acetonitrila e água purificada em diferentes proporções se mostraram falhas: (50:50 v/v); (60:40 v/v); (70:30 v/v), todas essas mostraram picos cromatográficos que foram gradualmente melhorando a sua assimetria e possíveis de serem quantificados. Além das tentativas de fase móvel, também foi trabalhada formas com fases estacionárias diferentes, como: Gemini® C18150x 4,6mm, 5u 110A Phenomenex®; Hypersil® ODS C18 100x 4,6mm, 10; C18 Shim-Pack® C18 150x 4,6mm, 10u e Kinetex® C18 150 x 4,6 mm, 5 µm Phenomenex®.

#### 2.5 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Através da metodologia de tentativa-erro, a condição cromatográfica melhor encontrada foi constituída de: Fase estacionária Kinetex® C18 de fase reversa 150 x 4,6 mm (5 µm); Fase móvel de acetonitrila e água purificada (70:30 v/v); Fluxo da fase móvel em 0,8mL/min em modo isocrático; com tempo de análise cromatográfica de 5 minutos e com tempo de retenção aproximado de 2,98 min. A injeção de 20 µL com detecção a 230 nm comprimento de onda.

#### 2.6 VALIDAÇÃO ANALÍTICA

Foram avaliados os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, intervalo, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão, efeito matriz e robustez.

### **2.6.1 Especificidade**

Para avaliar o grau de interferência de espécie como outra substância ativa, excipientes, impurezas, e produtos de degradação, na formulação do CS, foi utilizado a solução padrão 50µg/mL para o método CLAE.

### **2.6.2 Linearidade**

No teste da linearidade foi realizada a determinação quantitativa do analito em formas farmacêuticas, através de curvas analíticas feitas em triplicatas com injeção de cinco concentrações para CLAE, nas concentrações de 40, 45, 50, 55 e 60 µg/mL. As curvas analíticas e os coeficientes de determinação linear foram realizados no Programa Microsoft Excel®.

### **2.6.3 Precisão**

A precisão do método foi realizada por meio da repetibilidade através da análise de seis soluções da mesma concentração de 50 µg/mL, realizando o mesmo procedimento, no mesmo equipamento, mesmo laboratório, porém com dois analistas e dias diferentes. A análise consistiu em seis injeções da solução no sistema, por cada analista e em cada dia. Os dados gerados forneceram a média aritmética, o desvio padrão que representará a precisão; bem como da precisão nos diferentes dias e os diferentes analistas.

### **2.6.4 Exatidão**

A solução padrão foi analisada a partir de três níveis de concentrações diferentes (40, 50 e 60 µg/mL). As amostras foram submetidas à testes para avaliar a exatidão do método analítico e a proximidade dos resultados obtidos pelo método padrão. A análise consistiu em três injeções da solução no sistema, por cada nível de concentração. Os dados gerados forneceram a média aritmética, o desvio padrão e teor, servindo para estimar a exatidão.

### **2.6.5 Robustez**

A robustez foi realizada para testar a estabilidade do método e também foram avaliados solventes para fase móvel de fabricantes diferentes, a partir de cinco replicatas diferentes, da amostra padrão, teste 1(fornecedores de acetoneitrila diferentes) e teste 2

(estabilidade de refrigeração da solução), obtendo-se a média, coeficiente de variação e desvio padrão.

### **2.6.6 Efeito Matriz**

O efeito matriz foi avaliado a partir da construção de uma curva padrão de análise em triplicata de cinco pontos de concentração (40, 45, 50, 55 e 60 µg/mL) da solução SQR e uma solução de amostra da pesquisa, a fim que se comprove que há proporcionalidade de resultado entre as duas.

## **2.7 DOSEAMENTO**

Foi realizado para medir o teor do princípio ativo dos medicamentos de referência, genérico e similar. A análise foi realizada em triplicata, obtendo-se a média, desvio padrão, coeficiente de variação e exatidão.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A fase móvel que apresentou uma melhor condição cromatográfica foi acetonitrila e água purificada, na proporção de 70:30 v/v, a qual obteve-se um pico cromatográfico com melhor resolução, seletividade, simetria e com o tempo de retenção de 2,98 min (Figura 2), fora do volume morto do método em estudo, o qual representa neste fluxo de 0,8 mL/min e fase estacionária selecionada (Kinetex® C18 de fase reversa 150 x 4,6 mm, 5 µm), os primeiros 1,69 min do tempo da análise.

A seletividade para os métodos cromatográficos é avaliada no sentido de garantir que o pico de resposta do analito seja proveniente exclusivamente desse, e não de outros compostos (interferentes) presentes na amostra (VECHIA, *et al.*, 2015). Ela pode ser observada no cromatograma apresentado na Figura 2, proporcionando a elucidação do pico referente à substância analisada, com tempo de retenção de 2,98 min. Desta forma foi possível determinar que o método desenvolvido não apresenta interferência dos constituintes da formulação, caracterizando-se específico para o citrato de sildenafil nas condições testadas.

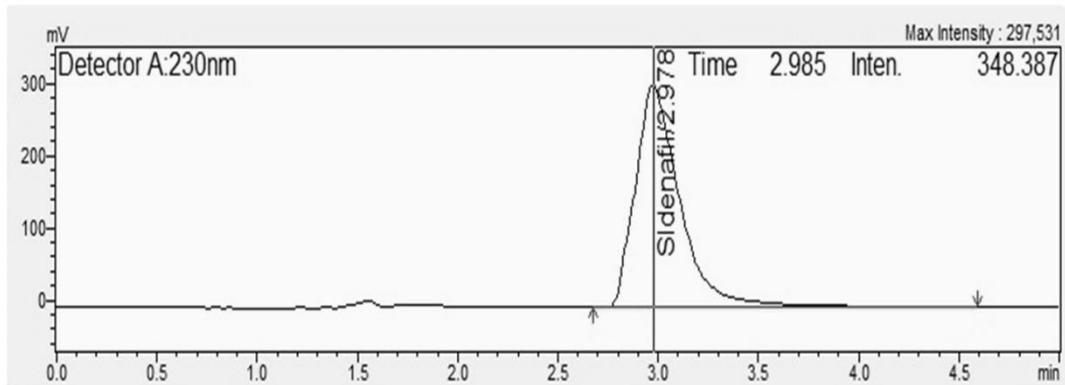


Figura 2. Perfil cromatográfico do citrato de sildenafil na concentração de 50 µg/mL, utilizando fase estacionária C<sub>18</sub>, fase móvel acetonitrila:água (70:30 v/v), fluxo 0,8 mL/min, 27°C a 230 nm.

Através desta análise, foi comprovado que o pico cromatográfico é realmente do CS e não houve ação de outros possíveis interferentes. As amostras e soluções SQR foram avaliadas também nas condições de exposição a ampla meio ácido, básico, oxidação, calor e luz. Os resultados foram seletivos, inclusive sem ausência de interferentes dos produtos de degradação gerados nas condições acima expostas.

A linearidade do método foi comprovada a partir dos dados obtidos através do gráfico da curva da linearidade (Gráfico 1), no qual foram fornecidas as seguintes informações: a equação da reta:  $y = 137597.8x + (-2793474)$ . Onde o eixo Y representa a área do pico no cromatograma obtido e o eixo X a concentração do citrato de sildenafil, obtendo-se o coeficiente de correlação igual a 0,9995, obedecendo o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) no valor de 0,99, certificando a adequabilidade do resultado encontrado.

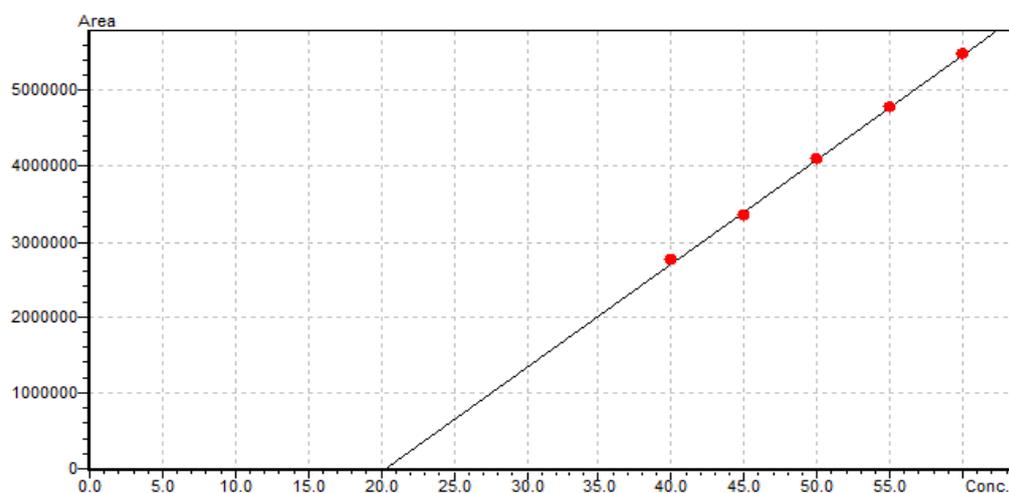


Figura 3. Curva de linearidade (40-60 µg/mL) para o Citrato de Sildenafil a 230 nm.

O efeito matriz foi realizado após a avaliação dos resultados entre a solução da amostra ( $y=159085,8X - 3102497$ ,  $r=0,9992353$ ) e solução SQR, este já apresentado na linearidade, tornando o método aprovado neste quesito. Já que foram avaliados os coeficientes por meio do teste T e ambos os coeficientes apresentaram não sendo estatisticamente diferente de zero, conforme desejado para aprovação. E também a inclinação das restas não são estatisticamente diferentes, para um nível de significância de 5%, pelo teste T para avaliar o efeito matriz.

A precisão do método foi determinada pela precisão intra-dia (repetibilidade) e a precisão inter-dia (intermediária). O coeficiente de variação (CV%) obtido foi, para o analista 1 de 0,84% e 1,85%, e para o analista 2, 1,85% e 0,84% (Tabela 1), desta forma, esses valores se enquadram no que preconiza a resolução RDC 166/17 da ANVISA, na qual aceita limites de variação até 5%. Ou seja, os valores da precisão obtidos para as áreas dos picos cromatográficos e tempo de retenção, encontram-se dentro dos valores satisfatórios. Estes dados mostram que o método desenvolvido apresenta uma ótima precisão, com uma baixa variação entre as análises quando realizadas por analistas diferentes e/ou em dias diferentes. Podemos assim afirmar que a determinação da precisão intermedia encontra-se com valores satisfatórios para a validação de um método de acordo com o trabalho de Ribani *et al.* (2004).

	Dia 1		Dia2	
	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
<b>Média (n=6)</b>	49,99	50,50	49,81	50,332
<b>Desvio padrão</b>	0,41	0,92	0,50	0,86
<b>Coef.de Variação</b>	<b>0,84</b>	<b>1,85</b>	<b>1,2</b>	<b>0,84</b>
<b>Exatidão %</b>	98,99	100,10	99,63	100,66

Tabela 1. Valores obtidos na precisão do método

Nível (%)	Média (n=3)	Desvio padrão	Coef.de Variação	Exatidão
40	39,88	0,42	1,06	<b>0,29</b>
50	49,94	0,42	0,84	<b>0,12</b>
60	60,12	0,99	1,65	<b>0,20</b>

Tabela 2. Valores obtidos na exatidão do método a partir de diferentes concentrações de Citrato de Sildenafil.

De acordo com a execução do teste da exatidão, o qual foi realizado em três concentrações diferentes (40ug, 50ug e 60ug), comprovando que o método é exato, visto que, todos os resultados deste teste obtiveram resultados no intervalo de 0,12-0,29% (Tabela 2). Desta forma, esses valores se enquadram no que preconiza a resolução 166/17, na qual aceita limites de variação até 5%.

No teste da robustez foram avaliados os parâmetros da estabilidade das soluções sobre refrigeração ( $8 \pm 3^{\circ}\text{C}$ , 5 dias) e com fornecedores diferentes de acetonitrila (LiChrosolv® e Merck®). Na qual apresentou uma precisão representada pelo coeficiente de variação menor que 1,22%. E exatidão de 99,00 (padrão); 99,68 (teste 1, estabilidade das soluções); 100,11 (teste 2, fornecedores diferentes).

	Padrão	Teste 1	Teste 2
Média (n=6)	49,49	49,84	50,05
Desvio padrão	0,41	0,53	0,60
Coef.de Variação	<b>0,84</b>	<b>1,07</b>	<b>1,21</b>
Exatidão %	<b>98,99</b>	<b>99,68</b>	<b>100,11</b>

Tabela 3. Valores obtidos na robustez (50µg/mL)

Após a otimização e validação do método analítico, procedeu-se à análise das amostras dos medicamentos em estudo (referência, genérico e similar: Viagra® (Wyeth®), citrato de sildenafil (Medley®) e AHZUL (Legrand®), respectivamente). O doseamento apresentou teor satisfatório do princípio ativo do fármaco nos medicamentos avaliados. Com base nos parâmetros estabelecidos pela ANVISA com um limite de variação de 5% para mais ou para menos do teor do fármaco ou seja de 95-105%, as amostras apresentaram um teor adequado, conforme a Tabela 4.

<b>Amostra</b>	<b>Média (n=3)</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Coef.de Variação</b>	<b>Exatidão</b>
<b>Referência</b>	50,00	0,786	1,57	<b>100,0</b>
<b>Genérico</b>	48,14	0,606	1,26	<b>96,3</b>
<b>Similar</b>	47,72	0,781	1,64	<b>95,4</b>

Tabela 4. Doseamento dos medicamentos de referência, genérico e similares do citrato de sildenafil 50mg

#### **4 CONCLUSÕES**

O método desenvolvido através de CLAE revelou-se adequado para a quantificação de sildenafil em comprimido. Através da validação, os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, efeito matriz e exatidão apresentaram conformidade com as exigências nacionais descritas na RDC 166/2017 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). A nova metodologia consiste numa alternativa simples, rápida, econômica e segura para a indústria de medicamentos, laboratórios de pesquisa e de controle de qualidade, comprovando que é seletivo, exato, sensível e rápido. A respeito dos resultados, dos três produtos analisados, todos obtiveram dados dentro da faixa recomendada.

**REFERÊNCIAS**

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.º 899**, de 29 de maio de 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução n.º166**, de 24 de julho de 2017.

BACKES,R. S.;GUEDES, T. J.; SANTOS, W. T. P. ;SILVA, R. A. B. Determinação rápida e simples de citrato de sildenafila (VIAGRA® e genéricos) empregando eletrodo impresso de carbono em sistemas fia e bia com detecção amperométrica. **Quím. Nova** ,v.40, n.7, 2017.

COLLINS, C.H., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. Fundamentos de cromatografia. Campinas: **Editora da UNICAMP**, 2006.

EDIVAN T.; COLLINS K. E.; JARDIM I. C. S.; COLLINS C. H. Fases Estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Quím. Nova**, v.25, n.4, 2002.

GOMES, F. O. S. **Avaliação dos efeitos do inibidor de fosfodiesterase-5 (Sildenafil) em um modelo de prostatite experimental**. Dissertação (Pós-graduação em Ciências Biológicas)-Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2015.

ORTIZ, R. S.; ANTUNES, M. V.; LINDEN, R.. Determinação de citrato de sildenafila e de tadalafila por cromatografia líquida de ultraeficiência com detecção por arranjo de diodos (CLUE-DAD). **Quím. Nova**, v. 33, n. 2, 2010.

PETERLE, J. P.; BUENO, F. Estudo analítico e comparativo de comprimidos contendo citrato de sildenafila adquiridos no mercado formal e informal. **Infarma**, v. 29, n. 3, 2017.

RAFAEL S. O.; ANTUNES M. V.; LINDEN R. Determinação de citrato de sildenafila e de tadalafila por cromatografia líquida de ultraeficiência com detecção por arranjo de diodos (CLUE-DAD). **Quím. Nova**, v.33, n.2, 2010.

RIBANI M, BOTTOLI C, COLLINS C, JARDIM I, MELO L. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Quim Nova**. 27:5:777-780, 2004.

## *Brazilian Journal of health Review*

SARRIS A. B.; NAKAMURA M. K.; FERNANDES L. G. R. ,STAICHAK R. L.; PUPULIM A. F; SOBREIRO B. P. Fisiopatologia, avaliação e tratamento da disfunção erétil: artigo de revisão/ Pathophysiology, evaluation and treatment of erectile dysfunction: review article. **Rev Med** , v.95, n 1, 2016.

VECHIA, C. A. D.; MORAIS, B.; SCHONELL, A.P., et al; Isolamento químico e validação analítica por cromatografia líquida de alta eficiência de quercitrina em *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.18, n.1, 2016.