



Validación de método por cromatografía de alta resolución para cuantificar nistatina en ungüento

Validation of High-Performance Chromatography method to quantify Nystatin in ointment

Jenny Rosalyn Huerta León^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-4744-7830>

Luis Kanashiro Chinen² <https://orcid.org/0000-0001-8119-4801>

Deivy Quiroz Delgado² <https://orcid.org/0000-0003-2788-2448>

Jhonnell Williams Samaniego Joaquin¹ <https://orcid.org/0000-0002-0033-7119>

¹Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú.

²Laboratorios Medifarma S.A. Lima, Perú

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: jenny.huerta@uma.edu.pe

RESUMEN

Introducción: La nistatina es un fármaco antifúngico ampliamente utilizado para tratar la candidiasis oral, una infección común en la boca, causada por el hongo *Candida albicans*. En el desarrollo de productos farmacéuticos es fundamental utilizar un método analítico específico que permita la cuantificación precisa del principio activo presente en la formulación.

Objetivo: Validar un método analítico utilizando cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de nistatina en ungüento.

Métodos: Es una investigación aplicada con enfoque cuantitativo. La técnica utilizada para la validación del método analítico es la cromatografía líquida de alta resolución. Se incluye análisis de los parámetros: especificidad, exactitud y precisión. Para analizar los resultados, se emplearon herramientas estadísticas, como el coeficiente de variación y la comparación estadística.



Resultados: Los parámetros de validación evaluados confirmaron su especificidad, para ello no se encontraron interferencias en el análisis. La exactitud del 98,83 % con coeficiente de variación (C.V.) de 0,48 %. La precisión intermedia con C.V. (%) ≤ 2 %. Se determinó que el método propuesto es apto para la cuantificación de nistatina ungüento.

Conclusiones: El método validado para el ingrediente farmacéutico activo nistatina se puede aplicar en el control de calidad debido a su especificidad, precisión y linealidad dentro del rango de concentración estudiado. Al utilizar este nuevo método, se obtienen resultados precisos que no difieren estadísticamente de los obtenidos por el método establecido en la Farmacopea de los EE. UU.

Palabras clave: cromatografía líquida de alta presión; control de calidad; nistatina.

ABSTRACT

Introduction: Nystatin is an antifungal drug widely used to treat oral candidiasis, a common infection in the mouth caused by the fungus *Cándida*. In the development of pharmaceutical products, it is essential to use a specific analytical method that allows the precise quantification of the active ingredient present in the formulation.

Objective: To validate an analytical method using high performance liquid chromatography for the quantification of nystatin in ointment.

Methods: This is an applied research with a quantitative approach. The technique used for the validation of the analytical method is high-performance liquid chromatography. Analysis of the following parameters is included: specificity, accuracy and precision. Statistical tools were used to analyze the results, highlighting data analysis, coefficient of variation and statistical comparison.

Results: The validation parameters evaluated confirmed their specificity, for which no interferences were found in the analysis. The accuracy of 98.83% with C.V. of 0.48%. The intermediate precision with coefficient of variation (C.V.) (%) ≤ 2 %. It is determined that the proposed method is suitable for the quantification of Nystatin ointment.

Conclusions: The validated method for the active pharmaceutical ingredient nystatin can be applied in quality control due to its specificity, precision and linearity within the concentration range studied. By



using this new method, accurate results are obtained that do not differ statistically from those obtained by the established US Pharmacopeia method.

Keywords: high pressure liquid chromatography; quality control; nystatin.

Recibido: 25/10/2023

Aprobado: 23/04/2024

INTRODUCCIÓN

La nistatina es un medicamento antimicótico comúnmente utilizado para el tratamiento de la candidiasis oral. Es eficaz contra *Candida albicans*, el agente causal más común de la candidiasis oral.⁽¹⁾ La nistatina funciona uniéndose a la membrana celular del hongo, causa fugas de contenido intracelular y, en última instancia, conduce a la muerte celular.⁽¹⁾

Estudios han evidenciado que la combinación de nistatina con otros fármacos antimicóticos supera la resistencia en *C. albicans*.⁽²⁾ En particular, la sinergia observada entre nistatina, micafungina y clorhexidina destaca como una estrategia prometedora contra cepas resistentes a azoles. Este enfoque de terapia combinada podría ofrecer soluciones efectivas frente a la creciente resistencia antimicótica.⁽²⁾

Nistatina ungüento es un tratamiento utilizado para tratar la queilitis angular y las lesiones intraorales.⁽³⁾ La queilitis angular es una afección caracterizada por la inflamación y fisuras en las comisuras de los labios, y las lesiones intraorales se refieren a cualquier tipo de lesión o úlcera que se encuentre dentro de la boca.⁽³⁾

En el proceso de desarrollo de un producto farmacéutico, resulta fundamental emplear un método analítico específico, que permita la cuantificación precisa del principio activo presente en la formulación. Para asegurar la confiabilidad de los resultados, es esencial llevar a cabo la validación correspondiente de dicho método. Este proceso implica la evaluación de diversos parámetros, cuya naturaleza varía según la categoría a la que pertenezcan.^(4,5) La validación de un método analítico tiene como objetivo principal asegurar que dicho método sea adecuado y confiable para su aplicación en el análisis cuantitativo del

<http://scielo.sld.cu>

<https://revmedmilitar.sld.cu>



principio activo en la formulación farmacéutica. Para lograr esto, se deben determinar y evaluar parámetros como la linealidad, la precisión, la exactitud, la selectividad y la robustez.⁽⁶⁾ Este proceso es esencial para garantizar la calidad y la seguridad del producto farmacéutico, ya que proporciona evidencia científica de que el método es confiable y preciso en la cuantificación del principio activo. Además, la validación se torna indispensable para cumplir con los requisitos de las agencias reguladoras para respaldar la aprobación y comercialización del producto.^(7,8)

Diversas entidades reguladoras, como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de EE. UU., la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) de Brasil, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) de España, así como las referencias como la Farmacopea de los EE. UU. (USP), la Conferencia Internacional sobre Armonización (ICH) y la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI), requieren y recomiendan la validación como un requisito para cumplir con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).⁽⁷⁾

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) tiene múltiples aplicaciones y, al ser una técnica automatizada, permite realizar de manera rápida y eficiente la separación, cuantificación y detección de muestras mediante la identificación de picos en los cromatogramas. Estos picos pueden optimizarse ajustando diversas variables en el método, como el pH de la fase móvil, la concentración del buffer, el flujo, la temperatura de la columna, la longitud de onda del detector, entre otros.^(9,10,11)

Al contar con un método de análisis rápido y confiable, es posible utilizarlo de manera rutinaria para el control de calidad y la evaluación de la estabilidad de un medicamento.^(12,13,14)

El presente estudio, tiene como objetivo validar un método analítico utilizando cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de nistatina en ungüento. Además, se busca establecer parámetros de validación que garanticen la confiabilidad del método para su uso rutinario en la evaluación de la calidad de los medicamentos.

MÉTODOS

El presente estudio se incluye en el ámbito de la investigación aplicada con enfoque cuantitativo, el tipo de estudio es analítico.⁽¹⁴⁾ El período de estudio abarcó desde junio hasta agosto del año 2022. Todas las



actividades de recolección de datos, análisis y procesamiento se realizaron en el Laboratorio Medifarma S.A., utilizando instalaciones y equipos especializados, disponibles en el laboratorio de investigación y desarrollo.

Como método de recolección, procesamiento y análisis, se utilizó un enfoque sistemático para recopilar datos; se ejecutaron ensayos diseñados para evaluar la especificidad, precisión y exactitud del método de HPLC. Los datos se procesaron con un *software* especializado para calcular los parámetros de interés, como el porcentaje de recuperación y la precisión. Se aplicaron métodos estadísticos para analizar los resultados, incluyendo cálculos de promedios, desviaciones estándar y coeficientes de variación.

La técnica utilizada para la validación del método analítico es la cromatografía líquida de alta resolución. Se incluye el análisis de los siguientes parámetros: especificidad, exactitud y precisión.

Reactivos: Se utilizó acetato de amonio de Merck (Darmstadt, Alemania), acetonitrilo de Merck (Darmstadt, Alemania), Tetrahidrofurano de Merck (Darmstadt, Alemania), Metanol de Merck (Darmstadt, Alemania).

Condiciones cromatográficas: Como fase móvil se utilizó una solución filtrada y desgasificada de acetato de amonio 0,05 M y acetonitrilo en proporción de 675:325. La columna cromatográfica utilizada fue L1 Octadecil silano de 150 mm x 4,6 mm x 3,0 μm , el detector UV a 304 nm, la temperatura del horno a 35 $^{\circ}\text{C}$, el volumen de inyección de 10 μL , la velocidad de flujo de 1,0 mL/minuto, el tiempo de retención del pico principal es de 10,5 minutos aproximadamente y el tiempo de cada corrida es de 20 minutos.

Preparación de la solución diluyente: una mezcla homogénea de acetato de amonio 0,05 M: acetonitrilo (50:50).

Preparación de estándar: Se utilizó una cantidad de estándar de referencia de equivalente a 100 000 UI de nistatina en un matraz volumétrico de 250 mL y se adicionó 20 mL de tetrahidrofurano y 150 mL de metanol, se llevó a ultrasonido por 5 minutos hasta disolver para luego se llevó a volumen con metanol. Se transfirió 2,0 mL a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó a volumen con la solución diluyente a una concentración aproximada de 8,00 UI/mg de nistatina. Se filtró por una membrana de PVDF de 0,45 μm .

Preparación de la muestra: Se pesó alrededor de 1,0 g de muestra de nistatina en unguento, equivalente a 100 000 UI aproximadamente en un matraz volumétrico de 250 mL y se adicionó 20 mL de



tetrahidrofurano, se agitó con magnetos durante 10 minutos, para luego agregar 150 mL de metanol y continuar agitando durante 10 minutos. Una vez enfriado a temperatura ambiente se llevó a volumen con metanol. Se dejó sedimentar por 10 minutos para luego transferir 2,0 mL a un matraz volumétrico de 100 mL y llevó a volumen con solución diluyente a una concentración aproximada de 8,00 UI/mg de nistatina. Se filtró por una membrana de PVDF de 0,45 μm .

Especificidad: Para evaluar las posibles interferencias, se analizó el placebo con el principio activo a una concentración del 100 %, y se determinó el grado de interferencia en relación con el análisis del principio activo, tanto con y sin placebo. Se esperaban resultados dentro del ± 2 % del valor teórico. Para la evaluación de las interferencias del producto de degradación, tanto la muestra de placebo como el ingrediente activo se sometieron a diversas condiciones de estrés, incluida la exposición a la luz ultravioleta (UV) durante 5 días, el calentamiento a 80 ° C durante 24 horas, la hidrólisis ácida a 80 ° C durante 2 horas, la hidrólisis alcalina a 80 ° C durante 2 horas y la oxidación con peróxido de hidrógeno al 30 % durante 2 horas.

Exactitud: En la evaluación de este parámetro se prepararon muestras al 80 %, 100 % y 140 %.

Precisión: Para la repetibilidad, se analizaron 6 muestras independientes. En términos de precisión intermedia, un segundo analista lo evaluó utilizando el mismo método analítico en diferentes equipos cromatográficos.



RESULTADOS

Tabla 1 - Parámetro de la especificidad de posibles interferentes en nistatina ungüento

Especificidad	Muestra		Nistatina				
			Añadido (mg)	Hallado (UI)	Promedio hallado (UI)	% Recuperación	
Determinación de posibles interferentes	Placebo	Pb1	0,00	0,00	0,00	0,00	
		Pb2	0,00	0,00	0,00		
	Principio activo + placebo	M1		20,94	135655,00	135232,50	100,64 %
					134810,00		
		M2		20,29	129138,00	129285,00	
					129432,00		
Fotólisis	Placebo	Pb1		0,00	0,0	0,00	
							0,00
		Pb2		0,00	0,00		
							0,00
	Principio activo	PA 1		20,14	117283,00	117453,00	91,95
					117623,00		
		PA2		20,15	120403,00	120268,50	
					120134,00		
	Principio activo + Placebo	M1		20,47	116997,00	116924,00	89,81
					116851,00		
		M2		20,48	119129,00	119085,50	
					119042,00		
Termólisis	Placebo	Pb1		0,00	0,00	0,00	
							0,00
		Pb2		0,00	0,00		
							0,00
	Principio activo	PA1		20,39	117342,00	117846,50	91,04
					118351,00		
		PA2		20,38	120101,00	120315,50	
					120530,00		
	Principio activo + Placebo	M1		20,09	118919,00	119810,50	92,53
					120702,00		
		M2		20,11	119104,00	118872,00	
					118640,00		

Pb: placebo PA: principio activo M: muestra.



En la tabla 1, la evaluación de la especificidad implicó considerar posibles interferencias originadas en la muestra debido al estrés forzado a través de fotólisis y termólisis.

Tabla 2 - Especificidad de hidrólisis ácida, alcalina y oxidativa

Especificidad	Muestra		Nistatina			
			Añadido (mg)	Hallado (UI)	Promedio hallado (UI)	% Recuperación
Hidrólisis ácida	Placebo	Pb1	0,00	0,00	0,00	0,00
		Pb2	0,00	0,00	0,00	
	Principio activo	PA1	20,64	114967,00	114796,00	86,32
			114625,00			
		PA2	20,66	115197,00	113959,50	
			112722,00			
	Principio activo + placebo	M1	20,29	119642,00	119490,00	91,52%
			119338,00			
		M2	20,33	119053,00	119100,00	
			119147,00			
Hidrólisis alcalina	Placebo	Pb1	0,00	0,00	0,00	0,00
			0,00			
		Pb2	0,00	0,00	0,00	
			0,00			
	Principio activo	PA 1	20,74	125570,00	125318,50	93,72
			125067,00			
		PA2	20,78	124099,00	124372,50	
			124646,00			
	Principio activo + Placebo	M1	20,38	118141,00	117891,00	89,49
			117641,00			
M2		20,40	116413,00	116281,50		
		116150,00				
Oxidación	Placebo	Pb1	0,00	0,00	0,00	0,00
			0,00			
		Pb2	0,00	0,00	0,00	
			0,00			
	Principio activo	PA1	20,25	41338,50	41226,20	31,80
			41113,90			
		PA2	20,28	41493,70	41478,50	
			41463,30			
	Principio activo + Placebo	M1	20,07	83373,60	83264,40	64,65
			83155,20			
M2		20,05	83289,00	83171,80		
		83054,60				

Pb: placebo PA: principio activo M: muestra



En la tabla 2, se presentan los resultados del ensayo de especificidad en cápsulas blandas de selenio sometidas a estrés forzado por hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina y estrés oxidativo.

Tabla 3 - Exactitud (recuperación) de nistatina en ungüento

Concentración	Muestras	Nistatina añadida (mg)	Nistatina hallada (UI)	Promedio Nistatina hallada (UI)	Recuperación %
80 %	M1	16,00	101569,00	101167,00	98,53
			100765,00		
	M2	16,07	101644,00	101868,00	98,78
			102092,00		
	M3	15,71	99756,70	99848,30	99,04
			99939,90		
100 %	M1	20,00	126110,00	125794,50	98,02
			125479,00		
	M2	20,11	128148,00	128156,50	99,31
			128165,00		
	M3	20,09	128122,00	127774,00	99,11
			127426,00		
140 %	M1	28,29	180837,00	180647,00	99,51
			180457,00		
	M2	28,80	182378,00	181986,50	98,47
			181595,00		
	M3	28,89	182799,00	182900,50	98,66
			183002,00		
Promedio:					98,83 %
Desviación Estándar Relativa:					0,47
Coeficiente de Variación (%):					0,48 %

En la tabla 3, se presentan los resultados de la evaluación del parámetro precisión del método. Para ello, se prepararon tres concentraciones dentro de un rango de trabajo predeterminado y se analizaron los porcentajes de recuperación obtenidos. Esto demuestra si el método cumple los criterios para demostrar su exactitud.



Tabla 4 - Precisión: repetibilidad y precisión intermedia entre el analista uno y dos de nistatina ungüento

Muestras	Analista 1			Analista 2			
	Nistatina UI/100g	Promedio Nistatina UI/100 g	%	Nistatina UI/100g	Promedio Nistatina UI/100 g	%	
M1	1203770,00	12049150,00	120,5	12133400,00	12139350,00	121,4	
	12060600,00			12145300,00			
M2	12097100,00	12088550,00	120,9	12098600,00	12065150,00	120,7	
	12080000,00			12031700,00			
M3	11989300,00	11975200,00	119,8	11637700,00	11636750,00	116,4	
	11961100,00			11635800,00			
M4	12011000,00	12017200,00	120,2	11999900,00	11995100,00	120,0	
	12023400,00			11990300,00			
M5	11965500,00	11956100,00	119,6	11796200,00	11805150,00	118,1	
	11946700,00			11814100,00			
M6	12034600,00	12032600,00	120,3	11903400,00	11926050,00	119,3	
	12030600,00			11948700,00			
Promedio:			120,2	Promedio:			119,3
RSD:			0,40	RSD:			1,54
C.V. (%):			0,33	C.V. (%):			1,29
Promedio analista 1 y 2:						119,7 %	
RSD del analista 1 y analista 2:						1,14	
C.V. (%) del analista 1 y analista 2:						0,95 %	

C.V.: coeficiente de variación RSD.: desviación estándar relativa M: muestra.

En la tabla 4, se presentan los resultados del parámetro precisión del método. Esto implicó evaluar la repetibilidad de los resultados del análisis para seis muestras en las mismas condiciones, así como evaluar la precisión intermedia por diferentes analistas calificados utilizando el mismo método.

DISCUSIÓN

El método analítico propuesto ha demostrado ser adecuado y confiable para la cuantificación del principio activo en la formulación farmacéutica. Los resultados indican que el método es lineal, preciso



y exacto dentro de los rangos requeridos por las regulaciones. Además, se ha confirmado su selectividad y robustez frente a diversas condiciones de estrés. Estos hallazgos respaldan la idoneidad del método para garantizar la calidad y seguridad del producto final, cumpliendo con los estándares regulatorios establecidos.^(6,7,8)

La validación del método de análisis es un requisito fundamental establecido por diversas entidades reguladoras y referencias como la FDA, ANVISA, AEMPS, USP, ICH y AEFI. Estos organismos reconocen la importancia de asegurar la precisión y confiabilidad de los métodos analíticos utilizados en la industria farmacéutica para garantizar la calidad y seguridad de los productos. Los resultados presentados en la tabla 4 confirmaron la alta precisión y confiabilidad del método propuesto, lo cual es crucial para su aplicación en diferentes situaciones y por distintos analistas. Esta consistencia en los resultados respalda la validez del método y su utilidad para futuras investigaciones y análisis en el ámbito farmacéutico, en conformidad con los estándares establecidos por USP4.⁽⁷⁾

La determinación de varios parámetros de validación para el método analítico de HPLC representa un paso crucial en el proceso de asegurar su idoneidad y confiabilidad. La especificidad del método se demostró de manera efectiva al identificar y abordar posibles interferencias bajo condiciones de estrés, lo que garantiza la capacidad del método para discriminar y cuantificar con precisión el principio activo en la formulación farmacéutica. La evaluación de la precisión del método, mediante la repetibilidad y la precisión intermedia, arrojó resultados consistentes con un coeficiente de variación (CV) inferior al 2 %. Esta baja variabilidad indica una alta precisión en la capacidad del método para producir resultados reproducibles bajo condiciones similares, tanto dentro de un mismo laboratorio como entre diferentes analistas y momentos de análisis.⁽¹²⁾

Además, la confirmación de la precisión a través del porcentaje de recuperación dentro del rango establecido refuerza la confiabilidad del método en la cuantificación precisa del principio activo. Estos hallazgos respaldan la validez y utilidad del método analítico de HPLC para su aplicación en el análisis cuantitativo de formulaciones farmacéuticas, proporcionando una base sólida para su implementación en la industria y cumpliendo con los estándares de calidad exigidos por las regulaciones pertinentes.^(13,14)

A pesar de los resultados significativos, este estudio presenta algunas limitaciones que deben ser consideradas al interpretar los hallazgos. En primer lugar, aunque se demostró la precisión y especificidad



del método en el análisis de la formulación farmacéutica específica estudiada, la generalización de estos resultados a otras formulaciones o matrices puede ser limitada y requeriría validación adicional. Otra limitación importante es que, aunque se validó el método de HPLC en términos de especificidad y precisión, podría ser útil comparar su desempeño con otros métodos analíticos para evaluar su superioridad relativa o identificar posibles áreas de mejora.

El método validado para el ingrediente farmacéutico activo nistatina se puede aplicar en el control de calidad debido a su especificidad, precisión y linealidad dentro del rango de concentración estudiado. Al utilizar este nuevo método, se obtienen resultados precisos que no difieren estadísticamente de los obtenidos por el método establecido en la USP.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Quindós G, Gil-Alonso S, Marcos-Arias C, Sevillano E, Mateo E, Jauregizar N, et al. Herramientas terapéuticas para la candidiasis oral: fármacos antifúngicos actuales y nuevos. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2019;24(2):72-80. DOI: 10.4317/medoral.22978
2. Gómez-Tangarife V, Gómez-Restrepo A, Robledo J, & Hernández-Sarmiento J. Resistencia a medicamentos en mycobacterium tuberculosis: contribución de mecanismos constitutivos y adquiridos. *Revista de Salud Pública*. 2018 [acceso: 04/08/2022];20(4):491-497. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/rsap.v20n4.50575>
3. López L, Leon L, Ramírez D, Rascón J, Díaz L. Papel de los tejidos orales durante la infección por sars-cov-2. *Revista De La Asociación Dental Mexicana*. 2021 [acceso: 04/05/2022];78(3):167-75. Disponible en: <https://doi.org/10.35366/100075>
4. The United States Pharmacopeia Convention. *Farmacopea de los Estados Unidos de América*. USP 38 NF 33. Rockville: The United States Pharmacopeia Convention; 2015.
5. The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human use. (ICH). *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)*. Ginebra: ICH; 2005.



6. Vessman J, Stefan RI, van Staden JF, Danzer K, Lindner W, Burns DT, et al. (IUPAC Recommendations 2001). Pure Appl Chem. 2001 [acceso: 01/05/2023];73(8):1381-6. Disponible en: <https://publications.iupac.org/pac/pdf/2001/pdf/7308x1381.pdf>
7. Cahuina-Lope P, Carracedo S, Romaní F. La regulación de los ensayos clínicos para la covid-19 en el Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2021 [acceso: 10/11/2022]; 38(1):171-7. Disponible en: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.381.6627>
8. Romeu B, Vazquez J. La interrelación entre innovación, agencias reguladoras de medicamentos y emergencias sanitarias: ¿necesitamos estar preparados para la próxima pandemia?. Revista Internacional De Cooperación y Desarrollo. 2022 [acceso: 20/01/2023];9(1):7-14. Disponible en: <https://doi.org/10.21500/23825014.5967>
9. Giraldo J, Benítez R, Sarria-Villa R, Arango P, Franco J. Determinación y comparación cualitativa de cannabinoides presentes en productos naturales comerciales del departamento del cauca-colombia. Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas. 2019 [acceso: 02/09/2022];48(3):789-910. Disponible en: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n3.84992>
10. Samaniego J, Huerta J, Inocente M, Obregón J, López M. Validación de un método por cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de senósidos en tabletas de chocolate. Revista de la Sociedad Química Del Perú. 2021 [acceso: 22/09/2020];87(2):180-91. Disponible en: <https://doi.org/10.37761/rsqp.v87i2.338>
11. Huerta J, Quiroz D, Kanashiro L, Samaniego J. Determinación de selenio en capsulas de gelatina blanda por la metodología de cromatografía líquida de alta resolución. Revista de la Sociedad Química Del Perú. 2022 [acceso: 12/09/2023];88(2):117-28. Disponible en: <https://doi.org/10.37761/rsqp.v88i2.384>
12. Bor M, Guilarte A, Guzmán L, Macías K, Mendoza M. Validación de un método por RP-HPLC para la determinación de Tiocolchicósido en tabletas. Afinidad. 2018 [acceso: 10/08/2023]; 75(581):32-38. Disponible en: <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/335960/426752>
13. Rodríguez-Menéndez AE, Liendo-Liendo ER. Estudio transversal de las principales dimensiones de la mano en estudiantes de la Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica de la



Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann - Tacna. Ciencia & Desarrollo. 2019; 15: 31-33. DOI: 10.33326/26176033.2013.15.313

14. Palacios R, Zenteno M, Fuentes J, Carpio J, Salas J, López K, et al. Desarrollo y validación de un método analítico para la determinación de n-3-metoxibencil-linoleamida en homogenizado de cerebro de ratas sprague dawley por cromatografía líquida de alta resolución. Veritas. 2020 [acceso: 11/08/2023];21(1):89. Disponible en: <https://doi.org/10.35286/veritas.v21i1.264>

Conflictos de interés

Los autores declaran que no poseen conflictos de interés en el trabajo que se presenta.

Contribuciones de los autores

Conceptualización: *Deivy Quiroz Delgado, Luis Kanashiro Chinen, Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Curación de datos: *Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Análisis Formal: *Luis Kanashiro Chinen, Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Investigación: *Deivy Quiroz Delgado, Luis Kanashiro Chinen, Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Metodología: *Jenny Huerta León.*

Administración del proyecto: *Jenny Huerta León.*

Recursos materiales: *Deivy Quiroz Delgado, Luis Kanashiro Chinen.*

Supervisión: *Luis Kanashiro Chinen.*

Validación: *Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Visualización: *Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Redacción-borrador original: *Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*

Redacción-revisión y edición: *Jenny Huerta León, Jhonnell Samaniego Joaquin.*