

doi: 10.30827/ars.v65i2.29187


Artículos originales

## Efecto de las metodologías analíticas en la cuantificación de bitartrato de epinefrina según la USP-43 y USP-44

Effect of analytical methodologies on the quantification of epinephrine bitartrate according to USP-43 and USP-44

Lennin Roswell Rodriguez-Saavedra<sup>1</sup>  0000-0001-8377-6434

Junior Francois Sanchez-Bautista<sup>2</sup>  0000-0002-5793-7692

Segundo Francisco Saavedra-Suárez<sup>1</sup>  0000-0002-1554-0670

Luis Alberto Chávez-Abanto<sup>1</sup>  0000-0002-8279-0602

Leandro Emanuel Sandoval-Guerra<sup>2</sup>  0000-0003-4724-4929

<sup>1</sup>Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Bioquímica, Trujillo, Perú.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Trujillo, Perú.

---

### Correspondencia

Lennin Rodriguez-Saavedra  
lrodriguezsa@unitru.edu.pe

---

**Recibido:** 10.10.2023

**Aceptado:** 01.01.2024

**Publicado:** 20.03.2024

---

### Agradecimientos

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, especialmente las cátedras de Química y Tecnología Farmacéutica, por el apoyo brindado con el laboratorio y los equipos.

---

### Financiación

Sin financiamiento

---

### Conflicto de intereses

Los autores dejan constancias que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con la investigación realizada y los resultados expresados en el presente artículo.

## Resumen

**Introducción:** El bitartrato de epinefrina, también conocido como epinefrina, es un ingrediente farmacéutico importante en el tratamiento de diversas enfermedades, pero su medición precisa es esencial para garantizar la seguridad del medicamento. La Farmacopea de los Estados Unidos (USP) establece los estándares para su análisis, pero la elección del método afecta la precisión de las mediciones. Este estudio investiga cómo los diferentes métodos afectan la medición del bitartrato de epinefrina según las versiones USP-43 y USP-44, que tienen implicaciones significativas para la calidad y la regulación de los medicamentos en el campo.

**Método:** Se eligieron el método volumétrico y el método cromatográfico para comparación. Se utilizaron muestras de epinefrina bitartrato de alta pureza que cumplían con los estándares de la USP-43 y USP-44.

**Resultados:** Los resultados obtenidos por ambos métodos se comparan entre sí y se evalúan según los límites de especificación definidos por USP-43 y USP-44. Los valores obtenidos para algunos parámetros, como la concentración y la pureza del bitartrato de epinefrina, varían considerablemente entre los distintos métodos analíticos.

**Conclusiones:** Este estudio destaca la importancia de una cuidadosa selección del método analítico al evaluar el bitartrato de epinefrina según las directrices USP-43 y USP-44. La elección de la tecnología afecta a los resultados y, por tanto, a la calidad y seguridad de los productos farmacéuticos que contienen esta sustancia. Se recomienda validar el método en cada laboratorio y comparar los resultados con los estándares USP.

---

**Palabras clave:** epinefrina; USP; cuantificación

## Abstract

**Introduction:** Epinephrine bitartrate, also known as epinephrine, is an important pharmaceutical ingredient in the treatment of various diseases, but its accurate measurement is essential to ensure the safety of the drug. The United States Pharmacopeia (USP) sets the standards for its analysis, but the choice of method affects the precision of the measurements. This study investigates how different methods affect the measurements of epinephrine bitartrate based on USP-43 and USP-44, which have significant implications for drug quality and regulation in the field.

**Method:** The volumetric method and chromatographic method were chosen for comparison. High-purity epinephrine bitartrate samples that met USP-43 and USP-44 standards were used.

**Results:** The results obtained by both methods are compared with and evaluated according to the specification limits defined by USP-43 and USP-44. The values obtained for some parameters, such as the concentration and purity of epinephrine tartrate, vary considerably between the different analytical methods.

**Conclusions:** This study highlights the importance of carefully selecting analytical methods when evaluating epinephrine tartrate according to USP-43 and USP-44 guidelines. The choice of technology affects the results and, therefore, the quality and safety of the pharmaceutical products containing this substance. It is recommended to validate the method in each laboratory and compare the results with USP standards.

---

Keywords: epinephrine; USP; quantification.

## Puntos clave

La volumetría se basa en reacciones químicas específicas con un titulante y es rápida, adecuada para sustancias que reaccionan. En contraste, el HPLC utiliza una columna de alta resolución para separar y detectar compuestos de forma selectiva, es versátil para una variedad de sustancias, más sensible y precisa.

En los métodos de cuantificación de bitartrato de epinefrina establecidos en las monografías (USP 43 y USP 44), los resultados indican que existe diferencia significativa.

La cuantificación de principios activos en medicamentos es vital para garantizar la seguridad, eficacia y calidad de los tratamientos, asegurando que los pacientes reciban la dosis correcta y el efecto terapéutico deseado. También es esencial para cumplir con regulaciones y estándares de la industria farmacéutica.

## Introducción

Históricamente, la detección y cuantificación de cambios físicos en medicamentos o componentes de medicamentos ha sido un desafío importante. Sin embargo, en los últimos años se dispone de instrumentos altamente sensibles y selectivos para realizar análisis rápidos y reproducibles. Las propiedades físicas más importantes suelen estar relacionadas con la actividad farmacéutica o características de calidad críticas y pueden depender de la estabilidad fisicoquímica de un componente individual o del producto completo<sup>(1)</sup>.

Al desarrollar nuevos métodos de prueba para evaluar el efecto de los cambios fisicoquímicos en materias primas o medicamentos, es necesario determinar hasta qué punto los cambios son aceptables. Depende de las características específicas de la forma farmacéutica. Por ejemplo, los cambios en el color de un producto que no afectan su calidad o seguridad pueden tener tolerancias amplias, pero los cambios en la velocidad de disolución de un fármaco sólido requieren parámetros estrictos durante toda su vida útil<sup>(2)</sup>.

Para establecer un método de control adecuado, es fundamental realizar pruebas exhaustivas durante el desarrollo del producto. Estas pruebas pueden reducir la necesidad de validar métodos analíticos para productos comerciales, siempre y cuando se demuestre que no existen condiciones físicas adversas bajo condiciones estandarizadas o que se pueden mitigar mediante un envasado adecuado<sup>(3)</sup>.

El objetivo es desarrollar un método eficiente para el análisis de muestras sólidas, utilizando preferentemente herramientas menos complejas cuando sea posible y respaldado por estudios previos. El control de calidad es esencial para mejorar la calidad del producto y las farmacopeas actualizan los métodos analíticos para mejorar la eficiencia<sup>(1,3)</sup>.

Según las farmacopeas británica y estadounidense, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es el principal método de control de calidad. Sin embargo, las soluciones a granel insensibles, como los excipientes, son difíciles de cuantificar debido a su complejidad. Estos ingredientes no se consideran impurezas, sino ingredientes auxiliares<sup>(2,4)</sup>.

Para obtener resultados de mayor calidad, se recomienda cambiar el método cuantitativo de bitartrato de epinefrina USP 44 de volumétrico a HPLC. Es importante ofrecer alternativas rápidas y confiables. El HPLC es conocido por su precisión, trazabilidad y automatización, con un menor margen de error en comparación con el análisis volumétrico.

Las pruebas de evaluación de activos son fundamentales para determinar la eficacia y seguridad de los productos farmacéuticos. Es necesario seleccionar cuidadosamente monografías analíticas sensibles y optimizar el proceso de recopilación de datos. Es parte del concepto de calidad por diseño, que identifica debilidades y riesgos en la producción, almacenamiento y uso de medicamentos<sup>(5)</sup>.

Las partes interesadas y los reguladores han cuestionado la capacidad de detectar adulterantes y contaminantes en ingredientes farmacéuticos, lo que llevó a la FDA a solicitar mejoras en los ensayos de identificación y cuantificación. La USP respondió modernizando monografías de ingredientes farma-

céuticos, como el Ácido fumárico, reemplazando el ensayo de volumetría por HPLC-UV y proponiendo validar un procedimiento de HPLC para evaluar la composición y pureza de varios ácidos relacionados<sup>(6)</sup>.

El HPLC es una técnica cromatográfica que se utiliza para cuantificar, identificar y purificar componentes individuales en mezclas. Utiliza fases estacionarias, una fase móvil y un detector para mostrar tiempos de retención característicos, proporcionando información espectroscópica si se equipa con un detector de UV/Vis<sup>(7)</sup>.

El HPLC es una forma de cromatografía líquida que utiliza columnas más cortas, partículas más pequeñas y presiones más altas para separar analitos. Una bomba crea la presión necesaria para mover la fase móvil a través de la columna densamente empaquetada. El uso de partículas más pequeñas mejora la resolución de la separación. Los solventes comunes incluyen agua, acetonitrilo y metanol en diversas proporciones, y se pueden usar tampones o agentes de asociación de iones. En contraste, la volumetría es un conjunto de procedimientos cuantitativos para determinar la concentración de una especie en una muestra mediante la adición precisa de una solución de concentración conocida. Se utilizan patrones primarios para garantizar una reacción cuantitativa y rápida con el analito de interés<sup>(2,8)</sup>.

Para las pruebas volumétricas, es importante calibrar adecuadamente su equipo de laboratorio para garantizar mediciones precisas. Estas calibraciones determinan la relación dimensional entre el material de referencia y el medidor<sup>(8,9)</sup>.

Las pruebas cuantitativas constan de cuatro pasos principales: adquisición de muestras, aislamiento de componentes, medición y cálculo de resultados y conclusión. La medición es un paso clave y tiene como objetivo medir propiedades relacionadas con el contenido del componente deseado en la muestra. La determinación volumétrica implica medir el volumen, generalmente de una solución de composición conocida, necesario para reaccionar con un analito en una muestra desconocida. Los métodos volumétricos se clasifican según el tipo de reacción química entre los componentes requeridos y la solución de titulación. Por todo lo anterior, en la presente investigación se busca comprender el impacto de ambos métodos fisicoquímicos para cuantificación de bitartrato de epinefrina sin desconfiar del método volumétrico establecido en USP-43<sup>(10)</sup>.

## Métodos

Todos los productos químicos utilizados fueron comprados de Merck Company (Fosfato de potasio monobásico cristal, Sodio octano-1-ácido sulfónico, Ácido ortofosfórico 85 %, Acetonitrilo HPLC, Cristal Violeta C142555, Ácido perclórico 70 % y biftalato de potasio). El estándar de bitartrato de epinefrina fue adquirido de E. Merck, Darmstadt, Alemania. Las pruebas de cromatografía de líquidos de alta resolución se realizaron en un HPLC-20 AT, SPD-20 A UV/visible detector (Shimadzu, Japón), agitador magnético (IKA C-MAG HS, USA), Sonicador (BRANDSON, USA), durómetro (8M, Dr. Schleuniger, Suiza), potenciómetro (Mettler Toledo Seven Excellence USA), balanza analítica (Modelo: AY-200, SHIMADZU Corporation, Japón), estufa (BINDER ED-S 115, USA) y membranas Millipore (0,45 µm) fabricadas en USA.

### Valoración Epinefrina Bitartrato Sustancia Seca (USP-44)<sup>(11)</sup>

Proteger de la luz las Soluciones muestra y estándar.

Se preparó una solución amortiguadora, que contiene 5,0 g por litro de potasio dihidrógenofosfato y 2,6 g por litro de sodio octano sulfonato en agua, se ajusta el pH a 2,8 con ácido fosfórico 85 % y se enrasa con agua a volumen.

**Fase móvil:** se prepara una solución A mezclando la solución amortiguadora y acetonitrilo en una proporción de (95:5), solución B: Acetonitrilo y solución amortiguadora en una proporción de (45:55) y después se filtra con una membrana de 0,45 µm (Tabla 1).

**Tabla 1:** Fase móvil solución A y solución B elución en gradiente.

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	95	5
20	50	50
21	50	50
23	95	5
30	95	5

**Solución estándar:** Utilizamos un estándar primario de ER Bitartrato de Epinefrina USP en Solución A, a una concentración aproximada de 0,91 mg/mL que luego se filtró con una membrana de 0,45 µm.

**Solución muestra:** Utilizamos muestra de materia prima de Bitartrato de epinefrina en Solución A. a una concentración aproximada de 0,91 mg/mL. que luego se filtró con una membrana de 0,45 µm.

**Sistema cromatográfico:** para el sistema cromatográfico se consideró detector: UV 210 nm. Columna: 4,6 mm x 10 cm; empaquetadura L1 de 3 µm. Temperatura de auto muestreador: 4°. Temperatura de la Columna: 50°. Flujo: 1,2 mL/min. Volumen de inyección: 5 µL. Tiempo de ejecución: No menos de 5,6 veces el tiempo de retención de la epinefrina.

**Idoneidad del sistema:** Muestra: Estándar Solución. Requisitos de idoneidad Factor de cola: No más de 2.0. Desviación estándar relativa (DSR): no más de 1,1 %

### Análisis

Muestras: Solución estándar y muestra

Se calculó el porcentaje de bitartrato de epinefrina en la porción de bitartrato de Epinefrina tomada, con la siguiente formula:

$$\text{Resultado} = \frac{rU}{rS} \times \frac{CS}{CU} \times 100$$

rU= respuesta máxima de epinefrina de la Solución muestra

rS = respuesta máxima de epinefrina de la Solución estándar

CS = concentración de ER Bitartrato de Epinefrina USP en la Solución (mg/mL) estándar

CU = concentración de Bitartrato de Epinefrina en el Solución de muestra (mg/mL).

Para evaluar la idoneidad del sistema y analizar los resultados del método anteriormente descrito, se realizaron 2 inyecciones por muestra y 2 muestras por contenedor teniendo un total por contenedor de 4 inyecciones, se tomará como resultado el promedio del dosaje de las 4 inyecciones para cada contenedor. Criterios de aceptación: 97,0 %-103,0 % en el secado

### Valoración volumétrica de epinefrina bitartrato sustancia seca USP 43<sup>(12)</sup>

Se pesó 500 mg con exactitud de la materia prima, se disolvió en 20 mL de ácido acético glacial, se aplicó un poco de calor para ayudar con la disolución, se utilizó cristal violeta SR como indicador y ácido perclórico 0,1 N SV como valorante, se realizó un blanco para hacer las correcciones del gasto de las muestras. Cada ml de ácido perclórico 0,1 N equivale a 33,33 mg de epinefrina bitartrato.

**Criterios de aceptación:** 97,0 %-102,0 % en el secado.

### Análisis Estadístico

Para el uso de la herramienta estadística prueba t de Student se tomó como muestras independientes de un mismo tamaño los promedios de los resultados del dosaje por cada contenedor analizado, con la farmacopea USP 43 (método volumétrico) y USP 44 (método cromatográfico), las comparaciones tuvieron un nivel de significancia mínimo de  $p < 0,05$  para indicar diferencias significativas<sup>(13)</sup>.

## Resultados

En la fase de análisis de nuestro estudio, se han recopilado datos valiosos que se presentan de manera detallada en cuatro Tablas fundamentales para la evaluación de la calidad del bitartrato de epinefrina materia prima. La Tabla 2 destaca los parámetros de idoneidad del sistema HPLC específicamente para el bitartrato de epinefrina, proporcionando información crucial sobre la eficiencia y precisión del método. A continuación, las Tablas 3 y 4 desglosan los resultados del ensayo de valoración del bitartrato de epinefrina para cada muestra, empleando las metodologías USP 43 (volumetría) y USP 44 (cromatográfico HPLC), respectivamente. Estas Tablas son esenciales para comparar y contrastar los resultados obtenidos mediante distintas técnicas analíticas. Por último, la Tabla 5 presenta los resultados de la prueba t de Student, ofreciendo un análisis estadístico integral para evaluar la concordancia entre las metodologías analíticas USP 43 (volumétrico) y USP 44 (cromatográfico HPLC). Estas Tablas sirven como pilares informativos para la interpretación rigurosa de nuestros hallazgos, asegurando una comprensión completa y confiable de los resultados obtenidos en este estudio.

**Tabla 2:** Parámetros de idoneidad del sistema HPLC para bitartrato de epinefrina materia prima.

	TIEMPO DE RETENCIÓN (TR)	FACTOR DE ASIMETRÍA
Promedio	7,1 min	1,2
Desviación estándar	0,01	1,05
Criterios de aceptación	-	No más de 2,0 %
Cumple SÍ/NO	-	SI

**Tabla 3:** Resultados del ensayo de valoración de bitartrato de epinefrina para cada muestra según metodología USP 43 (volumetría).

BITARTRATO DE EPINEFRINA	PESOS (mg)	GASTOS DE SV (ml)	PROMEDIO (%)	CV (%)
MUESTRA 1	501,7	15,0	99,3	0,23
MUESTRA 2	503,9	15,1	99,5	0,35
MUESTRA 3	502,9	15,2	100,1	0,29
MUESTRA 4	501,1	15,2	100,7	0,21
MUESTRA 5	501,2	15,2	100,4	0,33
MUESTRA 6	502,3	14,9	98,5	0,25

**Tabla 4:** Resultados del ensayo de valoración de Bitartrato de epinefrina para cada muestra según metodología USP 44 (Cromatográfico HPLC).

BITARTRATO DE EPINEFRINA	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	PROMEDIO (%)	CV (%)
MUESTRA 1	7,08	100,2	0,84
MUESTRA 2	7,08	101,2	0,82
MUESTRA 3	7,09	101,8	0,93
MUESTRA 4	7,10	101,0	0,75
MUESTRA 5	7,08	102,5	0,85
MUESTRA 6	7,08	101,7	0,79

**Tabla 5:** Prueba t de Student para el análisis de valoración de Bitartrato de epinefrina según metodología analítica USP 43 (volumétrico) y USP 44 (cromatográfico HPLC).

PARÁMETROS	RESULTADOS USP 44	RESULTADOS USP 43
Media	101,4	99,7
Varianza	0,7	0,7
Observaciones	6	6
Varianza agrupada	0,7	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	3,5	
Valor P	0,006	
Valor crítico de t (dos colas)	2,2	

## Discusión

El objetivo de este estudio consistió en evaluar el impacto de las técnicas analíticas USP-43 y USP-44 en la determinación del contenido de bitartrato de epinefrina. Para ello, se consideraron parámetros de idoneidad del sistema, que son pruebas esenciales para garantizar la adecuación del analista, reactivos y equipo antes de llevar a cabo una metodología analítica específica<sup>(2,14)</sup>.

La prueba de “Ensayo” se utilizó para determinar el porcentaje del contenido de la materia prima de análisis. En la USP-43, esta prueba se realizó mediante un método volumétrico con un criterio de aceptación del 97 % al 102 %, mientras que en la USP-44, se empleó un método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con un criterio de aceptación del 97 % al 103 %. Se aplicó la prueba t de Student a los resultados de ambas monografías, una técnica utilizada en muestras cuantitativas con distribución normal para estimar la media de una población a partir de una muestra<sup>(12,15)</sup>.

Los resultados de los parámetros de idoneidad indicaron un promedio de 7,1 minutos para el tiempo de retención y un promedio de 1,2 para el factor de asimetría, como se muestra en la Tabla 2 de Parámetros de idoneidad del sistema HPLC para bitartrato de epinefrina materia prima. Se compararon estos valores con las condiciones cromatográficas establecidas en la USP-44. Los resultados obtenidos se obtuvieron mediante la ejecución de los análisis descritos en el método de esta investigación.

En la Tabla 3 que muestra los resultados del ensayo de valoración de bitartrato de epinefrina según la metodología USP 43 (volumetría), se pueden apreciar los resultados del análisis cuantitativo utilizando el método volumétrico. En este método, se observa una variabilidad en los resultados, con un porcentaje mínimo de 98,5 % y un máximo de 100,7 % entre las seis muestras analizadas. Para cuantificar este fármaco, que es una amina con propiedades de base débil, similar a la mayoría de los anestésicos locales como el bitartrato de epinefrina, se emplearon solventes no acuosos como el ácido acético glacial, utilizando el ácido perclórico como solución valorante. Esto se debe a que el ácido perclórico, con un pKa de 4,87, es el ácido más fuerte en este sistema. La neutralización se detectó visualmente utilizando cristal violeta SR como solución indicadora. Este método de análisis presenta ventajas como ser rápido, de fácil ejecución, económico y altamente sensible, especialmente para la materia prima<sup>(9,16,17)</sup>.

En la Tabla 4 que muestra los resultados del ensayo de valoración de bitartrato de epinefrina según la metodología USP 44 (Cromatográfico HPLC), se presentan los resultados de cuantificación cromatográfica para las seis muestras analizadas. Por cada muestra se realizaron tres inyecciones. Los datos se procesaron tomando el promedio de las seis inyecciones. La potencia máxima y mínima obtenida para estas muestras fue del 102,5 % y 100,2 %, respectivamente. Ambos valores se encuentran dentro de los rangos establecidos por la USP 44<sup>(18)</sup>.

En la Tabla 5 se presenta el resultado de la prueba t de Student, que se llevó a cabo para analizar la valoración de bitartrato de epinefrina, siguiendo los métodos analíticos USP 43 (volumétrico) y USP 44 (cromatográfico HPLC). Esta prueba se realizó con el objetivo de verificar si existen diferencias signi-

ficativas entre los dos métodos mencionados. Al realizar todos los cálculos necesarios en la prueba t de Student, obtuvimos un valor de t-calculada de 3,5. Al compararlo con el valor proporcionado en la Tabla 5 de 2,2, con un nivel de significancia del 95 %, resultó ser mayor, con lo cual podemos decir que existe diferencia significativa entre ambas técnicas de cuantificación para bitartrato de epinefrina<sup>(19-21)</sup>.

En un estudio realizado en 2016 sobre la estabilidad acelerada de bitartrato de epinefrina en una solución inyectable para uso odontológico, se observó una disminución en la concentración y degradación de la muestra cuando se expuso a temperaturas entre 37°C y 42°C. Esto es relevante debido a las propiedades farmacológicas de bitartrato de epinefrina, que incluyen la prolongación de la anestesia pulpar, el control de la hemorragia local y la retención en la absorción hacia el sistema cardiovascular. Por lo tanto, es necesario revisar el tiempo de vida media utilizando los nuevos resultados obtenidos mediante el método cromatográfico propuesto en la actualización de la técnica analítica. Varios factores en el estudio indican que las ventajas farmacológicas de la epinefrina se ven afectadas, especialmente en lo que respecta a la concentración del producto final<sup>(22)</sup>.

## Conclusión

Existen diferencias estadísticas significativas en la aplicación de las técnicas analíticas USP 43 y USP 44 para el ensayo de cuantificación de bitartrato de epinefrina, con lo cual destacamos la importancia de una cuidadosa selección del método analítico al evaluar el bitartrato de epinefrina según las directrices de la USP 43 y USP 44. La elección de la tecnología afecta a los resultados y, por tanto, a la calidad y seguridad de los productos farmacéuticos que contienen esta sustancia. Se recomienda validar el método en cada laboratorio y comparar los resultados con los estándares USP.

## Bibliografía

1. Kumar M, Bhatia R, Rawal RK. Applications of various analytical techniques in quality control of pharmaceutical excipients. *J Pharm Biomed Anal.* 2018;157:122-136. doi:10.1016/j.jpba.2018.05.023
2. Ramos-Martínez B, Alonso-Herreros JM, Martín de Rosales-Cabrera AM. The importance of quality control in raw materials used in pharmaceutical formulations. *Farm Hosp.* 2020;44(1):32-33. doi:10.7399/fh.11347
3. Lau CBS, Yue GGL, Lau KM, et al. Method establishment for upgrading chemical markers in pharmacopoeia to bioactive markers for biological standardization of traditional Chinese medicine. *J Tradit Complement Med.* 2018;9(3):179-183. doi:10.1016/j.jtcme.2018.09.003
4. Dispas A, Sacré PY, Ziemons E, Hubert P. Emerging analytical techniques for pharmaceutical quality control: Where are we in 2022? *J Pharm Biomed Anal.* 2022;221:115071. doi:10.1016/j.jpba.2022.115071
5. Bravo-Urquiola M, Arends A, Montilla S, et al. Ventajas de la Técnica de Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC-CE) en el estudio de Hemoglobinopatías en Venezuela. *Investig Clínica.* 2004;45(4):309-315.
6. Stability by Design - Guidelines for Assessing & Controlling Physical Stability - ECA Academy. Accessed October 10, 2023. <https://www.gmp-compliance.org/gmp-news/stability-by-design-guidelines-for-assessing-controlling-physical-stability>
7. The Complexity of Setting Compendial Specifications for Excipient Composition and Impurities | USP. Accessed October 10, 2023. <https://www.usp.org/excipients/stimuli-article-2018>
8. Lumieres - Repositorio institucional Universidad de América: Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. Accessed October 10, 2023. <https://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/7731>
9. Andrade JC de. Química analítica básica: volumetría de neutralização - conceitos e curvas de titulação. *Rev Chemkeys.* 2020;2:e020002-e020002. doi:10.20396/chemkeys.v2i.13737



10. Byrn S, Pfeiffer R, Ganey M, Hoiberg C, Poochikian G. Pharmaceutical Solids: A Strategic Approach to Regulatory Considerations. *Pharm Res.* 1995;12(7):945-954. doi:10.1023/A:1016241927429
11. USP 44-NF 39 – Last Print Edition | USP-NF. Accessed October 10, 2023. <https://www.uspnf.com/notices/usp-nf-final-print-edition>
12. USP 43-NF 38 – Last Print Edition | USP-NF. Accessed October 10, 2023. <https://www.uspnf.com/notices/usp-nf-final-print-edition>
13. Rendón-Macías ME, Zarco-Villavicencio IS, Villasís-Keever MÁ. Métodos estadísticos para el análisis del tamaño del efecto. *Rev Alerg México.* 2021;68(2):128-136. doi:10.29262/ram.v658i2.949
14. Tarrillo Peralta LK. Elaboración de un Procedimiento Operativo Estándar de calibración de material volumétrico de vidrio para el Centro de Control de Calidad de Medicamentos de la Universidad Nacional de Trujillo. *Univ Nac Trujillo.* Published online 2019. Accessed October 10, 2023. <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2995021>
15. Pharmacopeial Forum Table of Contents | USP-NF. Accessed October 10, 2023. <https://www.uspnf.com/pharmacopeial-forum/pf-table-contents>
16. de Jesús Pérez Saavedra J, Rincón Arce S. Ultramicrovaloración potenciométrica de sulfato ferroso amoniacal con tres diferentes oxidantes. *Educ Quím.* 2010;21(1):70-77. doi:10.1016/S0187-893X(18)30075-2
17. Ruiz Castillo EJ, Mayorga Peña M del C del. Herramientas de manufactura esbelta aplicadas a una propuesta de mejora en un laboratorio químico de análisis de minerales de una empresa comercializadora. Published online April 24, 2014. Accessed October 10, 2023. <https://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/20.500.12404/5270>
18. Trigo Orsini ML, Aban Aramayo EA. Validación del método analítico por cromatografía líquida de alta resolución para la cuantificación de conservantes en jugo de naranja. *Revista CON-CIENCIA.* noviembre de 2020;8(2):63-76.
19. Argota Pérez G, Argota Coello H. Aplicación de la prueba t-Student para la competencia técnica y trazabilidad analítica: ejemplo de estudio. *Rev Campus.* 2018;23(26):145-150.
20. Flores-Ruiz E, Miranda-Novales MG, Villasís-Keever MÁ. El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada. *Estadística inferencial.* *Rev Alerg México.* 2017;64(3):364-370. doi:10.29262/ram.v64i3.304
21. t-Test, Chi-Square, ANOVA, Regression, Correlation... Accessed October 10, 2023. <https://datatab.es/tutorial/unpaired-t-test>
22. Núñez-Barragán KI, Vallejo-Rosero KA. Estabilidad de la lidocaína con epinefrina al 2% al someterse a temperatura de 37 ° c y 42 ° c. *Dominio Las Cienc.* 2017;3(1):35-49. doi:10.23857/dom.cien.pocai.2017.3.1.35-49