

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO PARA ESTUDIOS DE ESTABILIDAD
DEL CROMOLÍN SÓDICO 4% GOTAS NASALES**

**CHROMATOGRAPHIC METHOD VALIDATION FOR STABILITY STUDIES OF CROMOLÍN SÓDICO
4% NASAL DROP**

Gisela Ramírez Torres ^{a,*}(0000-0002-8510-5295)
Mirna Fernández Cervera ^b (0000-0001-6537-3367)
Lilliam Besada Moreno ^a (0000-0001-5656-7071)
Carlos Rafael Romeu Carballo ^a (0000-0001-7598-9069)
Yanelys Leal Torres ^a (0000-0002-2607-1750)
Thais Valdés Parra ^a (0000-0001-8115-2943)

^a Grupo de Nuevas tecnologías y Citostáticos. Unidad de Desarrollo e Investigación (UDI). Empresa
Laboratorios AICA. Playa, La Habana, Cuba.

^b Instituto de Farmacia y Alimento de la Universidad de la Habana. La Lisa, La Habana, Cuba.

*giselar@aica.cu

Recibido: 2 de febrero de 2023;

Aceptado: 05 de julio de 2023;

RESUMEN

El Cromolín Sódico 4% gotas nasales es un antiinflamatorio bronquial e inhibidor de los mastocitos en el tratamiento de la rinitis alérgica. En el presente estudio se validó un método por cromatografía líquida de alta resolución para evaluar el comportamiento analítico y la estabilidad del Cromolín Sódico 4 % gotas nasales. El método se basó en la separación del principio activo a través una columna cromatográfica Apollo-C8; 5 µm; 150 mm x 4,6 mm; con detección ultravioleta a 326 nm, para lo cual se preparó la fase móvil A y B; consistentes en fase móvil A: disolución de hidrógeno sulfato de tetrabutylamonio (10 g/L), acetonitrilo (95:5) y fase móvil B: disolución de hidrógeno sulfato de tetrabutylamonio (10 g/L), acetonitrilo, metanol (50: 25:25); con una velocidad de flujo de 1,5 mL/min. La curva de calibración se realizó en el intervalo de concentración de 1,25 a 1,87 10⁻⁴ mol/L, (del 80% hasta el 120%) del ingrediente farmacéutico activo en el producto terminado. El método fue lineal, preciso y exacto en el intervalo de concentraciones estudiadas. Además, fue específico frente a los restantes componentes de la matriz y a los posibles productos de degradación obtenidos en condiciones de estrés.

Palabras claves: Métodos cromatográfico, Cromolín Sódico, validación, gotas nasales.

ABSTRACT

Sodium Cromolyn 4% nasal drops is a bronchial anti-inflammatory and mast cell inhibitor in the treatment of allergic rhinitis. In the present study, a high-performance liquid chromatography method was validated to evaluate the analytical behavior and stability of Cromolyn Sodium 4% nasal drops. The method was based on the separation of the active principle through an Apollo-C8 chromatographic column; 5µm; 150mm x 4.6mm; with ultraviolet detection at 326 nm, for which mobile phase A and B were prepared; consisting of mobile phase A: Tetrabutylammonium hydrogen sulfate solution (10 g/L), acetonitrile (95:5) and mobile phase B: Tetrabutylammonium hydrogen sulfate solution (10 g/L), acetonitrile, methanol (50:25 :25); with a flow rate of 1.5 mL/min. The calibration curve was carried out in the concentration range of 1.25 to 1.87 10⁻⁴ mol/L, (from 80% to 120%) of the pharmaceutically active ingredient in the finished product. The method was sufficiently linear, precise and accurate in the range of concentrations studied. In addition, it was specific against the remaining components of the matrix and the possible degradation products obtained under stress conditions.

Keywords: Chromatographic methods, Sodium Cromolyn, validation, nasal drops.

INTRODUCCIÓN

La rinitis alérgica, es una enfermedad común que afecta entre el 25-35% de la población mundial y constituye un factor de riesgo para el asma bronquial con una prevalencia que continúa en aumento (Baena, 2013). Esta patología es el resultado de la alergia mediada por la inmunoglobulina E, asociada con la inflamación celular de la mucosa nasal y se caracteriza por rinorrea, picazón, estornudos y obstrucción nasal. El tratamiento se emplea para evitar las reacciones de los alérgenos que afectan al hombre, mediante el uso de antihistamínicos orales y/o nasales, descongestionantes, cromonas, bromuro de ipratropio y corticoesteroides intranasales y orales. (Emerson, 1998; Malfaz, 2000; Mohammed, 2018).

El Cromolín Sódico 4% constituye la terapia de elección por vía nasal, para su tratamiento (Baena, 2015), sus propiedades farmacológicas resultan particularmente útiles para prevenir el broncoespasmo y el edema inducido por ejercicio o por aire frío. Ante la exposición de alérgenos muestra su efectividad en la prevención de la rinitis alérgica intermitente y persistente, mientras que los corticoesteroides son agentes potentes para el manejo paliativo debido sólo a su acción antiinflamatoria. Por ello este medicamento se debe utilizar como alternativa de esteroides inhalados a bajas dosis en pacientes asmáticos. (Baena, 2013 ; Baena, 2015).

El medicamento se presenta en frascos de 10 mL elaborados *in situ* con polietileno de baja densidad de color blanco opaco que protege a la formulación de la luz. (Rosenstein, 2001).

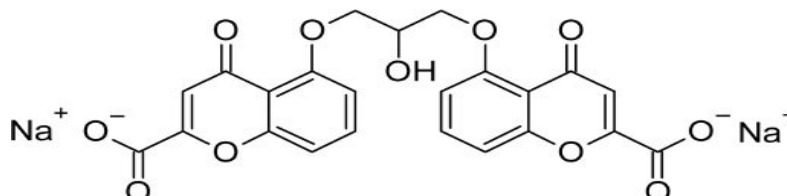


Fig. 1. Estructura del cromoglicato de sodio. (USP 40, 2017)

La Real Farmacopea Española (2005) reporta el análisis del ingrediente farmacéutico activo (IFA) de cromoglicato de sodio por el método de volumetría no acuosa con punto final potenciométrico, en una mezcla de 5mL de 2-propanol y 25mL de etilenglicol y posterior valoración con ácido perclórico determinando el punto final. (Real Farmacopea Española, 2005)

La farmacopea China editada en el año 2010, indica que la cuantificación del IFA, específicamente en la presentación de aerosol, se realiza por el método espectrofotométrico a la longitud de onda de absorción a 326 nm, utilizando como blanco una disolución acuosa de 10 en 100mL de disolución amortiguadora de fosfato de sodio de pH 7,4. (Pharmacopeia of the peoples República of China, 2010).

Las farmacopeas 35, 37 y 38 de los Estados Unidos de América (USP, por sus siglas inglés) reportan para la valoración de la disolución nasal, un método espectrofotométrico a la longitud de onda de absorción de 326 nm, utilizando como blanco una disolución acuosa de 1 en 100 mL de disolución amortiguadora de fosfato de sodio de pH 7,4. (USP 35, 2012; USP 37, 2014; USP 38, 2015).

La farmacopea británica (BP por sus siglas inglés) de 2013 y 2015 indican para la cuantificación del ingrediente farmacéutico activo, específicamente en cápsulas, un método espectrofotométrico, a la longitud de onda de absorción de 326 nm, empleando como blanco una disolución acuosa 25 en 100mL de disolución amortiguadora de fosfato de sodio de pH 7,4 (British Pharmacopeia (BP, 2013; BP, 2015)

En las (USP) 39 (2016) y 40 (2017) de los Estados Unidos de América, se reporta la cuantificación del IFA en disolución nasal por CLAR, acoplada a un detector UV a 326 nm, empleando una columna de 4,6 mm x 10 cm; relleno L7 de 3,5 µm, a temperatura 40 °C y velocidad de flujo de 1,5 mL/min. Como fase móvil se propone (55:45) metanol y disolución amortiguadora de 5,6 g/L fosfato monobásico de potasio y 22,2 g/L de bromuro de miristiltrimetil amonio en agua, ajustado con disolución de hidróxido de sodio a un pH 6,5. Se utiliza como diluyente acetonitrilo y agua (30:70). El volumen de inyección utilizado fue de 20 µL. (USP 40, 2017; USP 39, 2016). Como se puede observar, se proponen diferentes métodos de análisis para la cuantificación de este IFA, y es a partir del año 2016 que se reporta su análisis por CLAR.

Según el Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CEDMED), los métodos analíticos se clasifican según su categoría en oficiales, estandarizados, modificados, alternativos y desarrollados en el laboratorio. Los métodos oficiales y estandarizados no requieren validación exhaustiva sino una evaluación de desempeño donde se evalúan los parámetros de, especificidad, exactitud y precisión.

Para la introducción de los métodos de análisis, cada laboratorio definió sus criterios de evaluación caso a caso, tomando en consideración las características, tipo y pasos específicos del procedimiento, los equipos e instrumentos asociados y la experiencia que se tenga en la caracterización del producto en cuestión. (BP, 2015).

Cuba cuenta con una industria farmacéutica de gran importancia debido a que tienen un enorme impacto social. Entre los objetivos estratégicos de la empresa se destacan desarrollar y validar nuevas técnicas analíticas para la introducción de los productos propuestos a incorporar al Cuadro Básico de Medicamentos (CBM), cumpliendo con los requerimientos de las Buenas Prácticas de Fabricación establecidas en el país, totalmente armonizadas con las regulaciones a nivel internacional. Teniendo en cuenta estos antecedentes, el presente trabajo se propone validar un método por CLAR para evaluar el comportamiento analítico y la estabilidad en las gotas nasales de Cromolín Sódico 4% de producción nacional y aumentar su disponibilidad de en el CBM y en el mercado nacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

Se utilizaron para el estudio diferentes equipos, sustancias de referencia química, reactivos y materiales:

Equipos

- pH metro, Crison, España
- Balanza analítica, Sartorius, Alemania
- Balanza técnica, Sartorius, Alemania
- Flujo laminar horizontal, Gelaire HF60, Estados Unidos
- Autoclave, De Lama, Italia
- Horno, Tecniesteril, España
- Karl Fischer V-20, Mettler Toledo, Estados Unidos
- Espectrofotómetro Ultravioleta visible (UV), Genesys 10 uv Scanning, Japón
- Espectrofotómetro de absorción infrarrojo (IR). FT/IR 4700 LE, Jasco, Japón
- Cromatógrafo líquido de alta resolución, KNAUER, Alemania, acoplado al software ClarityChrom, Polaco
- Incubadora bacteriológica regulada 0-50°C, modelo: K404, Incucel, Estados Unidos
 - Tanque presurizador reactor de 40 L. Sartorius AG 37070 Coettingen, Alemania
- Máquina Bottle-pack. Romelag, Alemania
- Microscopio óptico: Olympus modelo: BX41 TF, Alemania
- Lámpara UV, DESAGA, Alemania
- Baño ultrasónico, Brasonic, Estados Unidos

Sustancias de referencia química

- Ácido fosfórico, Lote: K46664863519, Merck, Alemania
- Cromoglicato de sodio, SRQ, Lote: 86115 Mp-2212150001, Cambrex Profarmaco, Italia
- Edetato disódico dihidratado, Lote: k43782054247, Merck, Alemania
- Cloruro de benزالconio, Lote: K45579432 GI-551505216, Merck, Alemania
- Fosfato de sodio dibásico anhidro, Lote: 61580, Merck, Alemania
- Fosfato de sodio monobásico monohidratado, Lote: AO192246030, Merck, Alemania
 - Tetrahidrofurano, Lote: 00008454, Applichem, Alemania
- Agua purificada. Sistema de obtención de agua purificada de la máquina Bottle-pack: Por ósmosis inversa de la planta de tratamiento de agua
 - Cromoglicato de sodio, sustancia de referencia secundaria (SRS), Lote: 86115 Mp- 2212150001, Cambrex Profarmaco, Italia
 - Cloruro de benزالconio, sustancia de referencia química (SRQ), Lote: Mp-K48195432, Merck, Alemania

Todas las SRQ y SRS fueron certificadas para su uso.

Reactivos

- Acetonitrilo, lote: K48423503649A, China
- Hidrógeno sulfato de tetrabutilamonio, Lote 9G005649. Applichem. Alemania
- HYDRANAL - Composite 5, LoteS2BC261OV, FLUKA Analytical, Alemania
- Yodo, Lote: 0000451135, Panreac, Estados Unidos
- Piridina, Lote 0000454323, Panreac, Estados Unidos
- Metanol, Lote: 1H009602, Applichem, Alemania

- Cloroformo, Lote: 1779644521, Merck, Alemania
- Ácido acético glacial, Lote: K48703763703, Merck, Alemania
- Ácido oxálico, Lote: A575495, Merck, Alemania
- Acetato de sodio, Lote: 70840, RiedelHaen, Alemania
- Ácido fosfórico diluido 1 M, Lote 021003, Quimefa, Cuba
 - Medio Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), BIOECEN Cuba
 - Medio Triptona Soya Agar (TSA), BIOECEN, Cuba
 - Medio Triptona Caseína Soya (TCS), BIOECEN, Cuba
 - Caldo Digerido de Caseína y Soya (CDCS), BIOECEN, Cuba
 - Salicilato de hierro, Lote 18072, Julio Trigo, Cuba
- Kit para análisis de Karl Fisher, Alemania

Material

- Vasos de precipitado 100 y 1000 mL
 - Pipetas de vidrio aforadas 1; 2; 4; 5 y 10 mL
 - Volumétricos 25; 50; 100 y 1000 mL
 - Probetas 100 mL
- Frascos de polietileno de baja densidad x 10 mL máster Bach, Cuba
- Tapa de polipropileno de alta densidad, Cuba
- Membrana filtrante de acetato de celulosa; 0,2 µm, Sartorius, Alemania
 - Papel crepado
- Guantes de látex
- Filtro de membrana con porosidad 0,22 µm, Sartorius, Alemania
- Resina de polietileno de baja densidad, Borealis, España
- Resina Máster Bach. Recubrimientos Plásticos S/A. México
- Cartucho Sartobran P de 0,2µm. Sartorius Stedim Biotech, Germany, Alemania
- Columna cromatográfica: Apollo C8; 5 µm; 150 mm x 4,6 mm, Estados Unidos
- Columna cromatográfica L10; 5 µm; Ciano 250 mm x 4,6 mm, Estados Unidos
 - Placas para cromatografía de capa delgada, cubiertas con una capa de 0,25 mm de gel de sílice. Merck, Alemania

MÉTODOS

Se validó un método por CLAR por gradiente durante 8 minutos, para cuantificar el cromoglicato de sodio en las gotas nasales. Se trabajó con una longitud de onda de 326 nm a un flujo de 1,5 mL/min. Se utilizó una fase móvil A (95:5) y fase móvil B (50:25:25), constituida por una mezcla de una disolución de hidrógeno sulfato de tetrabutilamonio, metanol y acetonitrilo.

La validación se realizó según la categoría I (USP-38) y la Regulación 41-2013 del Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED) para la validación de métodos de análisis (USP 38, 2015). Para demostrar la confiabilidad del método se realizó una validación exhaustiva y se analizaron los parámetros especificidad, linealidad, precisión y exactitud.

Linealidad del sistema

Se prepararon disoluciones SRQ del analito a cinco concentraciones crecientes de cromoglicato de sodio y se analizaron por triplicado. El rango estudiado fue de 80 a 120% de la concentración teórica, equivalentes a 1,25; 1,41; 1,56; 1,72 y 1,87 mol/L x 10⁻⁴; respectivamente. Se inyectaron en el cromatógrafo las disoluciones preparadas y se registraron las señales a una λ = 326 nm. Se determinaron la ecuación de la recta, el coeficiente de correlación, la prueba de significación estadística de significación del pendiente Sb relativo (%), los coeficientes de variación de los factores de respuesta y el ensayo de proporcionalidad. (USP 38, 2015) ; (Gonzalez, 2001)

Criterio de aceptación: coeficiente de correlación (r) ≥ 0,99 y coeficiente de determinación (r²) ≥ 0,98. El intercepto debe ser aproximadamente cero y la pendiente cercana a uno. Se aplicó la prueba de t de Student donde la t_{exp} < t_{tab}, coeficiente de variación del factor respuesta CV ≤ 5,0%.

Repetibilidad

Se realizaron cinco determinaciones independientes bajo las mismas condiciones (mismo analista, equipo y el mismo día) a tres niveles de concentración (80, 100 y 120%), se utilizaron muestras reales de gotas nasales de cromoglicato de sodio. Además, se realizó la prueba de G de Cochran, para analizar las dispersiones entre las determinaciones repetidas. (USP 38, 2015)

Criterio de especificación: coeficiente de variación $\leq 2,0\%$. Para analizar las dispersiones entre las determinaciones repetidas se utilizó la G de Cochran donde la G experimental (G_{exp}) debe ser menor que la G tabulada (G_{tab}).

Precisión intermedia

Se seleccionaron del laboratorio dos analistas y se repitió el procedimiento en dos días diferentes utilizando una muestra real al 100% de la concentración. Se aplicaron pruebas de significación para comparar las medias obtenidas al variar las fuentes: día y analista.

Criterio de aceptación: coeficiente de variación $\leq 2,0\%$. EL valor p de la prueba de Fischer debe ser superior o igual a 0,05 para un 95% de confianza.

Exactitud

Para el ensayo de la exactitud se utilizaron cinco concentraciones, en el intervalo entre 80 y 120 % del valor teórico declarado para la concentración de cromoglicato de sodio en la formulación, realizando tres réplicas para cada nivel de concentración. Para evaluar el parámetro de exactitud se determinó el porcentaje de recuperación (R) en cada réplica y el valor promedio de R, así como el coeficiente de variación (CV).

Criterio de aceptación: el coeficiente de variabilidad para cada nivel ensayado debe ser $\leq 2,0\%$. Los porcentajes de recobrado deben estar en un intervalo de 98,0 – 102,0 %, determinándose el valor de recobrado medio. Se aplicó la prueba t de Student para demostrar que no existen diferencias significativas entre el valor medio de recobro obtenido y el 100 %. Se compararon los valores de concentración añadida y la concentración recuperada en cada nivel, se evaluó la influencia del factor concentración mediante la prueba de G de Cochran y se comparó la $G_{\text{experimental}}$ (G_{exp}) contra la G_{tabulada} (G_{tab}) (USP 38,2015)

Especificidad

Para el estudio de especificidad se analizaron la (SRQ), un placebo, las muestras del producto terminado en forma de disolución nasal y muestras sometidas a condiciones drásticas, como hidrólisis ácida (con ácido clorhídrico 0,1 N), hidrólisis básica (con hidróxido de sodio 0,1 N), oxidación (con peróxido de hidrógeno), termólisis (105 C°) y fotólisis (luz solar).

Criterio de aceptación: El método debe ser capaz de detectar el analito, sin la interferencia de productos de degradación u otros componentes de la formulación.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se reportan los resultados del estudio de linealidad del sistema

Tabla 1. Resultados del estudio de la linealidad del sistema

Párametro	Resultados	Límites
Ecuación de la recta	$y = 573357x + 0,000306$	$y = mx + b$
Coeficiente de correlación	0,999974	0,990
Coeficiente de determinación	0,999931	0,980
Parámetro de la recta		
m	573357 ± 238011	m
b	$0,0003064 \pm 0,003754$	b
t_{exp}	0,10	t_{exp}
t_{tab}	1,77	t_{tab}
Intercepto	No significativo	Intercepto
Coeficiente de variación del factor respuesta		
Coeficiente de variación del factor respuesta	0,11 %	$\leq 5\%$

El resultado del estudio de precisión del método desarrollado aparece reportado en la tabla 2. Al comparar las varianzas por la *prueba de Cochran* en el estudio de repetibilidad realizado, se obtuvo que la $G_{exp} < G_{tab}$, y los valores obtenidos fueron: $G_{exp} (0,05; 5,3) = 0,48$; $G_{tab} (0,05; 5,3) = 0,74$; demostrando que no existen diferencias significativas entre las dispersiones para cada nivel ensayado, para un 95% de confianza.

Tabla 2. Resultados de la repetibilidad del método analítico

Niveles	Cromoglicato de sodio (%)
80%	77,84
100%	97,30
120%	116,76
$\bar{x}$	97,30
CV	0,10%

Los resultados de la precisión intermedia obtenidos al analizar las muestras entre los analistas y entre días diferentes fueron: para el primer día $\bar{x} = 97,23 \%$, $CV = 0,18 \%$ y para el segundo día $\bar{x} = 97,30 \%$, $CV = 0,21 \%$. Al realizar el procesamiento estadístico para la determinación del valor p de la muestra en condiciones diferentes, se obtuvieron valores para cada una de las pruebas superiores a 0,05 para un 95 % de confianza lo que demuestra que no existen diferencias significativas al realizar la comparación del método entre días y entre analistas (0,20 y 0,22, respectivamente).

Tabla 3. Resultados del estudio de exactitud

Niveles	Recuperación	Coefficiente de Variación
80%	100,0	$\bar{x} = 104,0$ $CV = 0,081$
	99,9	
	100,0	
100%	100,0	$\bar{x} = 100,0$ $CV = 0,011$
	100,0	
	100,0	
120%	99,9	$\bar{x} = 99,9$ $CV = 0,003$
	99,9	
	99,9	
Límites	Resultados	
98,0-102,0 %	$R_{media} = 99,9 \%$	
$t_{cal} \leq t_{tab}$	$t_{cal} = 0,41$	
	$t_{tab} = 1,75$	
$G_{cal} \leq G_{tab}$	$G_{cal} = 0,5$	
	$G_{tab} = 0,74$	

El CV total fue de 0,06 %. Se comparó la media total de los recobrados y el 100 %, no se encontraron diferencias significativas, ya que la $t_{experimental}$ obtenida fue menor a la $t_{tabulada}$, por lo que no hubo pérdida del producto ni interferencia de la matriz y, por tanto, el método es exacto.

ESPECIFICIDAD

Como se muestra en la figura 1 el cromatograma correspondiente a la SRQ mostró una señal definida a los 6,4 minutos, mientras que en el cromatograma del placebo no aparecieron señales en el tiempo de retención correspondiente al analito, lo cual demuestra la no interferencia de los excipientes presentes en la formulación. Por lo tanto, se puede afirmar que el método es específico para la determinación del cromoglicato de sodio en relación con el placebo.

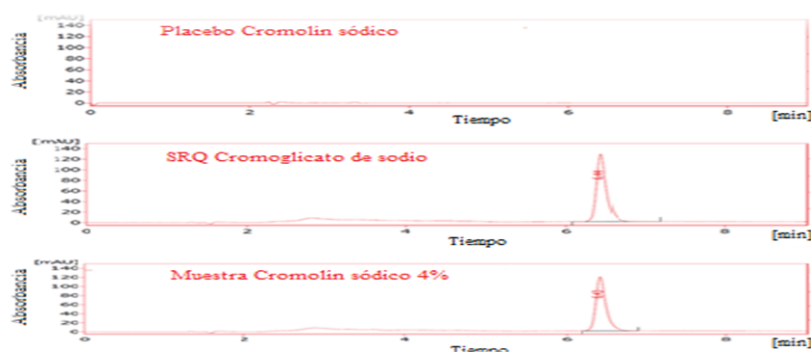


Fig. 1. Cromatogramas correspondientes al placebo, sustancia de referencia química (SRQ) y la muestra de cromoglicato de sodio.

La figura 2 muestra el estudio de especificidad del método donde aparecen los resultados de las corridas cromatográficas obtenidas de la degradación forzada de la muestra.

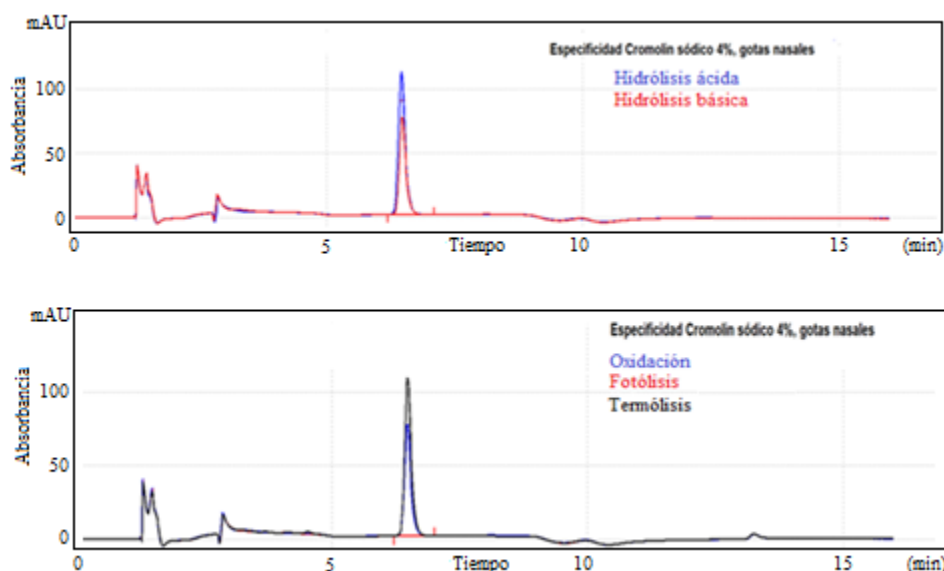


Fig. 2 Cromatogramas de la muestra sometida a condiciones de degradación (ácida, básica, oxidación (H_2O_2), fotólisis (a la luz) y termólisis (frente al calor).

Se observa que tanto en la hidrólisis ácida, como en la hidrólisis básica hay disminución de la señal cromatográfica del cromoglicato de sodio, siendo más favorecida en la hidrólisis básica, lo cual se refleja con la disminución del valor del área obtenida bajo la curva. Estos resultados son lógicos al considerar que en la estructura del IFA hay presentes grupos carboxilato que favorecen dicho comportamiento, estos procesos degradativos ocurren con mayor frecuencia en los líquidos.

Se observa una degradación apreciable durante la oxidación y la termólisis reflejada en los valores de las áreas correspondientes a la señal cromatográfica del cromoglicato de sodio.

Este IFA es lábil a la oxidación por la presencia de hidroxilo en la estructura, la velocidad con que se hidrolisa el producto dependerá de la concentración de protones y de OH^- , por otra parte el anillo benzopirano pudiera oxidarse y sufrir ruptura.

En el cromatograma de la muestra sometida a la luz, aparece una señal cromatográfica a los 14 min aproximadamente, donde se aprecia una disminución del valor del área con respecto al área de la señal correspondiente a la SRQ, lo que demuestra que el producto es fotosensible, de ahí la necesidad de protegerlo en un envase primario impermeable y resistente a la luz con resina de *masterbatch* blanco y un envase secundario como protección. (CEDMED, 2016)

En la degradación forzada correspondiente a la oxidación, termólisis y fotólisis, no aparecieron señales de interés en el mismo tiempo de retención del analito. Solo se detecta una señal a los 14 minutos que pudiera ser un posible producto de degradación, se considera que el mismo es lipófilo (menos soluble) de ahí el tiempo de retención al cual aparece.

Se confirma que el método es capaz de detectar los cambios debidos a la degradación de manera tal que se puede medir la concentración residual de cromoglicato en el tiempo sin la interferencia de los productos de degradación. (USP 38, 2015)

Con estos resultados se puede plantear que el método cromatográfico desarrollado es específico, ya que es capaz de determinar el analito sin la interferencia del placebo y de los posibles productos de degradación.

CONCLUSIONES

El presente método analítico validado por CLAR para la cuantificación del principio activo Cromolín Sódico 4%, resultó ser lineal, preciso, exacto y específico, en el intervalo de concentraciones establecido de 1,25 a $1,87 \cdot 10^{-4}$ mol/L, lo cual permite la determinación de la concentración y su aplicación en los estudios de estabilidad. (Ramírez G. 2019)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baena, C. E. (2013). Logros en 10 años y necesidades futuras en América Latina. Revista Alergia. México, 2.
- Baena, I. (2015). Guía de seguimiento farmacoterapéutico sobre rinitis alérgica: Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica. España, 12-24.
- British Pharmacopeia. 8th edition of the European Pharmacopeia. Monograph 0562. Inglaterra. Versión pdf. 2013: 1435.
- British Pharmacopeia. 9th edition of the European Pharmacopeia. Inglaterra. 2015:1096,3225-7.
- CECMED. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. (2016). Regulación 16. Directrices sobre buenas prácticas de fabricación de productos farmacéuticos, Ministerio de Salud Pública, Cuba.
- Colectivo de autores. Cuadro básico de medicamentos. Ciencias Médicas, Cuba 2018 [Actualizado 24 de enero de 2018]. Disponible <http://www.ecimed.sld.cu.editorial> [Consultado: 10 de octubre 2021]
- Emerson F, Tebyriça JN. Educação e asma. RevBras de Alergia e Imunopatologia. Vol 2. 1998:209-17.
- González, H. Validación de Métodos de Análisis. 2001. La Habana, Cuba.
- Malfaz, L. Velasco, A. Rinitis medicamentosa y descongestivos nasales de uso tópico. Atención Farmacéutica. 2000: 512-518
- Mohammed MA, Moles RJ, Chen TF. Pharmaceutical care and health related quality of life outcomes over the past 25 years: Have we measured dimensions that really matter. International Journal of clinical pharmacy. Vol. 3. 2018:1-12.
- Pharmacopeia of the peoples República of China. 2010: 1102
- Ramírez G. (2019) Desarrollo tecnológico del Cromolín Sódico al 4 %. Universidad de la Habana, La Habana.
- Rosenstein E. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. 47 ed. México, DF: Ed. PLM, SA de CV; 2001.
- Real Farmacopea Española. Cromolín Sódico .2005:1296.
- Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP por sus siglas en inglés). Ed 35. Formulario Nacional. Baltimore: Unite Book Press. Cromolín Sódico solución nasal. Volumen 3. Estados Unidos 2012:3087, Versión digital.
- Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP por sus siglas en inglés). Ed 37. Formulario Nacional. Cromolín Sódico. Cromolín Sódico solución nasal. Volumen 3. Estados Unidos 2014:3225.
- Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP por sus siglas en inglés). Ed 39. Volumen 2. Estados Unidos. 2016: 3657-3658, 3949-3953.
- Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP por sus siglas en inglés). Ed 40. Volumen 1,2. Estados Unidos. 2017: 2017,3949-3953.
- CECMED. Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. (2012). Validación de productos no estériles. Ministerio de Salud Pública, Cuba, 16-2012.

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Gisela Ramírez Torres: Conceptualización; curación de datos; análisis formal; investigación; validación; visualización; redacción - borrador original; redacción - revisión y edición.

Mirna Fernández: Conceptualización; curación de datos; análisis formal; investigación; validación; visualización; redacción borrador original; revisión y edición.

Carlos Rafael Romeu Carballo: Conceptualización; metodología; administración de proyecto; supervisión; - borrador original; redacción revisión y edición.

Thais Valdés Parra: Redacción (revisión y edición), Validación.

Lilliam Besada Moreno: Análisis formal; supervisión; - borrador original; redacción - revisión y edición.

Yanelis Leal Torres: Análisis formal; supervisión; - borrador original; redacción - revisión y edición.