

Insulina Lispro

GIVEQCCTSI CSLYQLENYC N

FVNQHLGSH LVEALYLVCG ERGFFYTKPT

$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$ 5807,57

Insulin (human), 28^B-L-lysine-29^B-L-proline-;
28^B-L-Lisina-29^B-L-prolinainsulina (humana) [133107-64-9].

DEFINICIÓN

La Insulina Lispro tiene una estructura idéntica a la de la Insulina Humana, excepto en las posiciones 28 y 29 de la cadena B, donde tiene lisina y prolina, respectivamente, mientras que la Insulina Humana tiene invertida esta secuencia. La Insulina Lispro se produce mediante métodos basados en tecnología de ADN recombinante. La presencia de ADN de células huésped en la Insulina Lispro es específica del proceso. La capacidad del proceso para depurar el ADN derivado de células huésped requiere validación y se determina mediante métodos validados. Su potencia es no menos de 27,0 Unidades USP de Insulina Lispro/mg, calculado con respecto a la sustancia seca.

[NOTA—1 Unidad USP de Insulina Lispro equivale a 0,0347 mg de Insulina Lispro pura.]

IDENTIFICACIÓN

- **A.** El tiempo de retención del pico principal de la *Solución muestra* corresponde al de la *Solución estándar*, según se obtienen en la *Valoración*.

- **B. PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS PARA INSULINAS** (121.1), *Mapeo de Péptidos*

Proceder según se indica en el capítulo, excepto en la *Velocidad de flujo* en el *Sistema cromatográfico* y la *Aptitud del Sistema*.

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Velocidad de flujo: 0,8 mL/min

Aptitud del sistema

Muestra: *Solución estándar*

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 3,4 entre los fragmentos de digestión II y III

Factor de asimetría: No más de 1,5 para los fragmentos de digestión II y III

Similitud de los cromatogramas: Identificar los picos debidos a los fragmentos de digestión I, II, III y IV en la *Solución estándar*. El cromatograma de la *Solución estándar* corresponde al cromatograma típico provisto con ER Insulina Lispro USP.

Criterios de aceptación: Cumple con los requisitos.

VALORACIÓN

• PROCEDIMIENTO

Solución A: 28,4 g de sulfato de sodio anhidro en 1000 mL de agua. Ajustar con ácido fosfórico a un pH de 2,3.

Fase móvil: Acetonitrilo y *Solución A* (51:149)

Solución de aptitud del sistema: 1 mg/mL de Insulina Lispro en ácido clorhídrico 0,01 N. Dejar en reposo a temperatura ambiente para obtener una solución que contenga 0,8%–11% de desamido insulina lispro A-21.

Solución estándar: Aproximadamente 0,7 mg/mL de ER Insulina Lispro USP en ácido clorhídrico 0,01 N

Solución muestra: Aproximadamente 0,8 mg/mL de Insulina Lispro en ácido clorhídrico 0,01 N

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 214 nm

Columna: 4,6 mm × 10 cm; relleno L1

Temperatura de la columna: 40°

Velocidad de flujo: 0,8 mL/min

Volumen de inyección: 20 µL

Aptitud del sistema

Ajustar la *Fase móvil* para obtener un tiempo de retención de aproximadamente 24 minutos para el pico principal de insulina lispro.

Muestra: *Solución de aptitud del sistema* (3 inyecciones repetidas)

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 3,0 entre insulina lispro y desamido insulina lispro A-21

Factor de asimetría: No más de 1,5 para el pico de insulina lispro

Desviación estándar relativa: No más de 1,1% para el pico de insulina lispro

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra*

Calcular la potencia con respecto a la sustancia sin secar, en Unidades USP de Insulina Lispro/mg, de insulina lispro en la *Solución muestra*:

$$\text{Resultado} = (r_U/r_S) \times (C_S/C_U)$$

r_U = respuesta del pico de la *Solución muestra*

r_S = respuesta del pico de la *Solución estándar*

C_S = concentración de ER Insulina Lispro USP en la *Solución estándar* (Unidades USP de Insulina Lispro/mL)

C_U = concentración de la *Solución muestra* (mg/mL)

Criterios de aceptación: No menos de 27,0 Unidades USP de Insulina Lispro/mg con respecto a la sustancia seca

OTROS COMPONENTES

Cambio en la redacción:

- ▲ **DETERMINACIÓN DE CINC** (591)▲ (IRA 1-ene-2019)

Criterios de aceptación: 0,30%–0,60% con respecto a la sustancia seca

IMPUREZAS Y SUSTANCIAS RELACIONADAS CON EL PRODUCTO

• SUSTANCIAS RELACIONADAS

Disolvente: 28,4 g de sulfato de sodio anhidro en 1000 mL de agua. Ajustar con ácido fosfórico a un pH de 2,3.

Solución A: Acetonitrilo y *Disolvente* (18:82)

Solución B: Acetonitrilo y *Disolvente* (50:50)

Fase móvil: Ver la *Tabla 1*.

Tabla 1

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	81	19
60	81	19
83	51	49
84	81	19
94	81	19

Solución de aptitud del sistema: 3,5 mg/mL de Insulina Lispro en ácido clorhídrico 0,01 N. Dejar en reposo a temperatura ambiente para obtener una solución que contenga 0,8%–11% de desamido insulina lispro A-21.

Solución muestra: 3,5 mg/mL de Insulina Lispro en ácido clorhídrico 0,01 N. [NOTA—Almacenar esta solución durante no más de 56 horas en un refrigerador.]

Sistema cromatográfico

(Ver *Cromatografía* (621), *Aptitud del Sistema*.)

Modo: HPLC

Detector: UV 214 nm

Columna: 4,6 mm × 25 cm; relleno L1

Temperatura de la columna: 40°

Velocidad de flujo: 1 mL/min

Volumen de inyección: 20 µL

Aptitud del sistema

Ajustar la composición de la *Fase móvil* y la duración de la elución isocrática para obtener un tiempo de retención de aproximadamente 41 minutos para el pico principal de insulina lispro, con desamido insulina lispro A-21 eluyendo justo antes del inicio de la fase de elución por gradiente.

Muestra: *Solución de aptitud del sistema*

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 2,5 entre insulina lispro y desamido insulina lispro A-21

Factor de asimetría: No más de 2,0 para el pico de insulina lispro

Análisis

Muestra: *Solución muestra*

Calcular el porcentaje de insulina lispro, desamido insulina lispro A-21 y otras impurezas en la porción de Insulina Lispro tomada.

Calcular el porcentaje de insulina lispro (%I):

$$\text{Resultado} = (r_i/r_T) \times 100$$

r_i = respuesta del pico de insulina lispro de la *Solución muestra*

r_T = suma de las respuestas de todos los picos de la *Solución muestra*

Calcular el porcentaje de desamido insulina lispro A-21 (%D):

$$\text{Resultado} = (r_D/r_T) \times 100$$

r_D = respuesta del pico de desamido insulina lispro A-21 de la *Solución muestra*

r_T = suma de las respuestas de todos los picos de la *Solución muestra*

Calcular el porcentaje de otras sustancias relacionadas con insulina lispro:

$$\text{Resultado} = 100 - (\%I + \%D)$$

Criterios de aceptación

Impurezas individuales: No más de 1,00% de desamido insulina lispro A-21

Otras impurezas individuales: No más de 0,50% de cualquier sustancia relacionada con insulina lispro

Impurezas totales: No más de 2,00%, excluyendo desamido insulina lispro A-21

- **PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS PARA INSULINAS** (121.1), *Límite de Proteínas de Alto Peso Molecular:* Cumple con los requisitos.

Criterios de aceptación: No más de 0,25%

IMPUREZAS RELACIONADAS CON EL PROCESO

- **CONTENIDO DE PRECURSOR MONOCATENARIO:** El contenido de precursor monocatenario de Insulina Lispro es no más de 10 ng/mg, determinado mediante un método validado.

- **PROTEÍNAS DE CÉLULAS HUÉSPED:** El contenido de proteína residual de células huésped es no más de 10 ng/mg, determinado mediante un método validado o demostrado mediante un proceso validado.

PRUEBAS ESPECÍFICAS

- **VALORACIÓN DE INSULINA** (121), *Valoración, Prueba de Bioidentidad*

Análisis: Proceder según se indica en el capítulo, excepto que la primera muestra de sangre debe obtenerse a los 45 minutos, en lugar de 1 hora después del momento de la inyección.

Criterios de aceptación: Cumple con los requisitos.

- **PÉRDIDA POR SECADO** (731)

Muestra: 300 mg

Análisis: Secar la *Muestra* a 105° durante 16 horas.

Criterios de aceptación: No más de 10,0%

- **PRUEBA DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS** (85), *Técnicas Fotométricas Cuantitativas, Técnica Cromogénica:* No más de 10 Unidades USP de Endotoxina/mg de Insulina Lispro, usando la valoración cromogénica cinética

- **PRUEBAS DE RECuento MICROBIANO** (61) y **PRUEBAS DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS** (62): El recuento total de microorganismos aerobios no excede de 10² ufc/g, realizando la prueba en una porción de aproximadamente 0,3 g, pesada con exactitud.

REQUISITOS ADICIONALES

- **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en envases impermeables. Almacenar en un congelador. Proteger de la luz.

- **ETIQUETADO:** Etiquetar indicando que se ha producido mediante métodos basados en tecnología de ADN recombinante.

- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP** (11)
ER Insulina Lispro USP