

Suspensión de Insulina Humana Isófana e Inyección de Insulina Humana

DEFINICIÓN

La Suspensión de Insulina Humana Isófana e Inyección de Insulina Humana es una suspensión amortiguada estéril de Insulina Humana, que forma un complejo con Sulfato de Protamina, en una solución de Insulina Humana. Su potencia, basada en la suma de sus componentes, insulina y desamido insulina, según se determina en la *Valoración*, es no menos de 95,0% y no más de 105,0% de la potencia declarada en la etiqueta, expresada en Unidades USP de Insulina Humana/mL.

IDENTIFICACIÓN

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

VALORACIÓN

• PROCEDIMIENTO

Solución A: Disolver 28,4 g de sulfato de sodio anhidro en 1000 mL de agua. Pipetear y transferir 2,7 mL de ácido fosfórico a esta solución, y ajustar con etanolamina a un pH de 2,3, si fuera necesario.

Fase móvil: Acetonitrilo y *Solución A* (26:74).

[NOTA—Entibiar el acetonitrilo a no menos de 20° para evitar precipitación.]

Solución de aptitud del sistema: 1,5 mg/mL de insulina humana en ácido clorhídrico 0,01 N. Dejar en reposo a temperatura ambiente durante no menos de 3 días para obtener una solución que contenga no menos de 5% de desamido insulina humana A-21.

Solución estándar: 1,5 mg/mL de ER Insulina Humana USP en ácido clorhídrico 0,01 N

Solución muestra A (para Inyecciones con un contenido declarado de 40 Unidades USP de Insulina Humana/mL): Agregar 2,5 µL de ácido clorhídrico 9,6 N a cada mililitro de un volumen de Inyección medido con exactitud. Dejar que la suspensión se clarifique y mezclar.

Solución muestra B (para Inyecciones con un contenido declarado de 100 Unidades USP de Insulina Humana/mL): Agregar 2,5 µL de ácido clorhídrico 9,6 N a cada mililitro de un volumen de Inyección medido con exactitud. Dejar que la suspensión se clarifique y mezclar. [NOTA—Puede ser necesario combinar varios envases individuales para obtener un volumen suficiente de la muestra.] Pipetear y transferir 2 mL de esta solución a un matraz volumétrico de 5 mL, diluir con ácido clorhídrico 0,01 N a volumen y mezclar.

Sistema cromatográfico

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

Modo: HPLC

Detector: UV 214 nm

Columna: 4,6 mm × 15 cm; relleno L1

Temperatura de la columna: 40°

Velocidad de flujo: 1 mL/min

Volumen de inyección: 20 µL

Aptitud del sistema

Muestras: *Solución de aptitud del sistema* y *Solución estándar*

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 2,0 entre insulina humana y desamido insulina humana A-21, *Solución de aptitud del sistema*

Factor de asimetría: No más de 1,8 para el pico de insulina humana, *Solución de aptitud del sistema*

Desviación estándar relativa: No más de 1,6%, *Solución estándar*

Análisis

Muestras: *Solución estándar* y *Solución muestra A* o *Solución muestra B*

Calcular la potencia, en Unidades USP de Insulina Humana/mL, de Inyección tomada:

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

r_U = suma de las respuestas de los picos de insulina humana y desamido insulina humana A-21 de la *Solución muestra*

r_S = suma de las respuestas de los picos de insulina humana y desamido insulina humana A-21 de la *Solución estándar*

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

D = factor de dilución usado para preparar la *Solución muestra*

Criterios de aceptación: 95,0%–105,0% de la potencia declarada en la etiqueta, expresada en Unidades USP de Insulina Humana/mL

OTROS COMPONENTES

Cambio en la redacción:

- ▲ **DETERMINACIÓN DE CINCO** (591):▲ (IRA 1-ene-2019) 0,02–0,04 mg por cada 100 Unidades USP de Insulina Humana

IMPUREZAS Y SUSTANCIAS RELACIONADAS CON EL PRODUCTO

• PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS PARA INSULINAS (121.1), Límite de Proteínas de Alto Peso Molecular

Proceder según se indica en el capítulo, excepto en la *Solución muestra*. Cumple con los requisitos.

Solución muestra: Agregar cuantitativamente 4 µL de ácido clorhídrico 6 N a cada mililitro de un volumen de Inyección medido con exactitud y mezclar.

Criterios de aceptación: No más de 3,0%

PRUEBAS ESPECÍFICAS

• CONTENIDO DE INSULINA HUMANA SOLUBLE

[NOTA—Usar uno de los dos métodos indicados a continuación.]

Método 1

Fase móvil, Solución de aptitud del sistema, Solución estándar, Sistema cromatográfico y Aptitud del Sistema: Proceder según se indica en la *Valoración*.

Solución muestra de insulina soluble: Mantener la temperatura a $25 \pm 1^\circ$ durante todo el *Análisis*. Transferir 5,0 mL de Inyección a un tubo de centrifuga. Agregar 20 µL de hidróxido de sodio 1 N y ajustar con ácido clorhídrico 0,05 N o hidróxido de sodio 0,05 N a un pH de $8,20 \pm 0,02$ si la concentración total de cinc es aproximadamente 20 µg/mL o ajustar a un pH de $8,35 \pm 0,02$ si la concentración total de cinc es aproximadamente 30 µg/mL. Registrar el volumen (V_A), en µL de ácido o base necesario para ajustar el pH. Dejar en reposo durante 1 hora. Centrifugar, transferir el sobrenadante a otro tubo de centrifuga y repetir la centrifugación. Transferir 2 mL del sobrenadante a otro tubo, agregar 5 µL de ácido clorhídrico 9,6 N y mezclar.

Solución muestra de insulina total: Transferir 2 mL de Inyección a un vaso adecuado, agregar 5 µL de ácido clorhídrico 9,6 N y dejar que la suspensión se clarifique. Diluir la solución resultante con ácido clorhídrico 0,01 N

hasta obtener la misma concentración teórica de insulina que la *Solución muestra de insulina soluble*. [NOTA—Por ejemplo, si la Inyección tiene un contenido declarado de 20% de insulina soluble, el factor de dilución es $100/20 = 5$.]

Análisis

Muestras: *Solución muestra de insulina soluble* y *Solución muestra de insulina total*

Calcular la cantidad de insulina humana soluble como un porcentaje del contenido total de insulina de la Inyección:

$$\text{Resultado} = (\sum r_s / \sum r_T) \times [(V_T + V_A) / V_i] \times (100 / D)$$

- r_s = suma de las respuestas de los picos de insulina humana y desamido insulina humana A-21 de la *Solución muestra de insulina soluble*
- r_T = suma de las respuestas de los picos de insulina humana y desamido insulina humana A-21 de la *Solución muestra de insulina total*
- V_T = suma del volumen inicial de Inyección (5000 μL) que se va a transferir a un tubo de centrífuga y 20 μL de hidróxido de sodio 1 N que se van a agregar a la Inyección para la *Solución muestra de insulina soluble*, 5020 μL
- V_A = volumen agregado para ajustar el pH de la *Solución muestra de insulina soluble* (μL)
- V_i = volumen inicial de Inyección que se va a transferir a un tubo de centrífuga para la *Solución muestra de insulina soluble*, 5000 μL
- D = factor de dilución usado para preparar la *Solución muestra de insulina total*

Criterios de aceptación: El porcentaje de insulina humana soluble está en el intervalo $L \pm 5$, donde L es el porcentaje de insulina humana soluble indicado en la etiqueta del producto.

Método 2

Fase móvil y Sistema cromatográfico: Proceder según se indica en la *Valoración*, excepto que se debe usar un *Volumen de inyección* de 50 μL .

Solución amortiguadora de Tris 0,1 M: Disolver 3,54 \pm 0,01 g de clorhidrato de tris(hidroximetil) aminometano y 3,34 \pm 0,01 g de tris(hidroximetil) aminometano en 500 mL de agua. El pH de esta solución debe estar entre 8,15 y 8,35. Si el pH está fuera de este intervalo, desechar la solución y preparar una nueva; no ajustar el pH.

Solución de aptitud del sistema: Disolver aproximadamente 0,14 mg de insulina humana en 1,0 mL de ácido clorhídrico 0,01 N. Dejar en reposo a temperatura ambiente durante no menos de 3 días para obtener una solución que contenga no menos de 5% de desamido insulina humana A-21.

Solución muestra de insulina soluble: Diluir un volumen adecuado de Inyección con *Solución amortiguadora de Tris 0,1 M* hasta obtener una solución que contenga aproximadamente 6 Unidades USP de Insulina Humana/mL de insulina soluble (p. ej., 2 mL de Inyección 70/30 que contengan 100 Unidades USP de Insulina Humana/mL se diluyen con 8 mL de *Solución amortiguadora de Tris 0,1 M* para obtener un filtrado con un contenido de 6 Unidades USP de Insulina Humana/mL de insulina soluble). Sumergir el recipiente en un baño de agua a $25 \pm 1^\circ$ durante 30 ± 2 minutos. Pasar esta solución, inmediatamente, a través de un filtro con un tamaño de poro de 0,2 μm usando una

jeringa desechable. Transferir 2 partes del filtrado a un vaso adecuado y agregar 1 parte de ácido clorhídrico 0,2 N. [NOTA—Por ejemplo, el factor de dilución para la *Solución muestra de insulina soluble* que contiene 30% de insulina soluble es $(5 \times 3) / 2 = 7,5$.]

Solución muestra de insulina total: Agregar 3,0 μL de ácido clorhídrico 9,6 N por cada mililitro de Inyección, mezclar y dejar que la suspensión se clarifique. Diluir la solución resultante con ácido clorhídrico 0,01 N hasta obtener una concentración de 4 Unidades USP de Insulina Humana/mL (p. ej., si el producto tiene un contenido declarado de 100 Unidades USP de Insulina Humana/mL, el factor de dilución es 25).

Aptitud del sistema

Hacer ajustes según sea necesario para obtener un tiempo de retención de insulina humana entre 10 y 17 minutos.

Muestras: *Solución de aptitud del sistema* (5 inyecciones repetidas)

[NOTA—El tiempo de retención de insulina humana está entre 10 y 17 minutos.]

Requisitos de aptitud

Resolución: No menos de 2,0 entre insulina humana y desamido insulina humana A-21

Factor de asimetría: Entre 0,8 y 1,5 para el pico de insulina humana

Desviación estándar relativa: No más de 1,6%

Análisis

Muestras: *Solución muestra de insulina soluble* y *Solución muestra de insulina total*

Calcular la cantidad de insulina humana soluble como un porcentaje del contenido total de insulina humana de la Inyección:

$$\text{Resultado} = (\sum r_s / \sum r_T) \times (D_s / D_T) \times 100$$

- r_s = suma de las respuestas de los picos de insulina humana y desamido insulina humana A-21 de la *Solución muestra de insulina soluble*
- r_T = suma de las respuestas de los picos de insulina humana y desamido insulina humana A-21 de la *Solución muestra de insulina total*
- D_s = factor de dilución usado para preparar la *Solución muestra de insulina soluble*
- D_T = factor de dilución usado para preparar la *Solución muestra de insulina total*

Criterios de aceptación: El porcentaje de insulina humana soluble está en el intervalo $L \pm 5$, donde L es el porcentaje de insulina humana soluble indicado en la etiqueta del producto.

• **PH** (791): 7,0–7,8

• **PRUEBA DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS** (85): No más de 80 Unidades USP de Endotoxina por 100 Unidades USP de Insulina Humana

• **PRUEBAS DE ESTERILIDAD** (71), *Prueba de Esterilidad del Producto a Examinar, Filtración por Membrana:* Cumple con los requisitos cuando se analiza según se indica en el capítulo y la Inyección se filtra inmediatamente después de haberla diluido usando un disolvente adecuado validado.

REQUISITOS ADICIONALES

• **ENVASADO Y ALMACENAMIENTO:** Conservar en el envase multidosis, sin abrir, provisto por el fabricante. Almacenar en un refrigerador y evitar la congelación. Proteger de la luz solar.

- **ETIQUETADO:** La etiqueta del envase de la Inyección indica que la Inyección se debe resuspender apropiadamente antes de usar. Etiquetar indicando que se ha preparado con Insulina Humana producida mediante métodos basados en tecnología de ADN recombinante o que se obtuvo por modificación enzimática de insulina de páncreas porcino. Etiquetar indicando que debe almacenarse en un refrigerador y que debe evitarse la congelación. La etiqueta indica la potencia en Unidades USP de Insulina Humana/mL y la relación porcentual entre la Suspensión de Insulina Humana Isófana y la Inyección de Insulina Humana soluble.
- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP** <11>
ER Insulina Humana USP