

Insulina Isófana, Suspensión

DEFINICIÓN

La Suspensión de Insulina Isófana es una suspensión estéril de cristales de insulina-cinc y Sulfato de Protamina en Agua para Inyección amortiguada, combinada de tal manera que la fase sólida de la suspensión esté constituida por cristales compuestos de insulina, protamina y cinc. El Sulfato de Protamina se prepara a partir de esperma o de testículos maduros de peces del género *Oncorhynchus* Suckley o *Salmo* L. (Fam. Salmonidae). Su potencia, basada en la suma de sus componentes insulina y desamido insulina, 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/mL.

IDENTIFICACIÓN

- **A.** El tiempo de retención del pico de insulina de la *Solución muestra A* o la *Solución muestra B* corresponde al de la especie apropiada de la *Solución de identificación*, según se obtienen en la *Valoración*. [NOTA—Puede ser necesario inyectar una mezcla de *Solución muestra y Solución de identificación*.]

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 la 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 la precipitación.]

Solución de aptitud del sistema: 1,5 mg/mL de insulina de la especie apropiada, ya sea insulina bovina o insulina porcina, en ácido clorhídrico 0,01 N. Para insulina de especies mezcladas, preparar una solución que contenga 1,3 mg/mL de insulina bovina y 0,25 mg/mL de insulina porcina 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 A-21.

Solución de identificación: 0,6 mg/mL de ER Insulina Bovina USP y de ER Insulina Porcina USP en ácido clorhídrico 0,01 N. [NOTA—La *Solución de identificación* puede almacenarse a temperatura ambiente durante un máximo de 12 horas o en un refrigerador durante un máximo de 48 horas.]

Solución estándar: 1,5 mg/mL de ya sea ER Insulina Bovina USP o ER Insulina Porcina USP en ácido clorhídrico 0,01 N. Para insulina de especies mezcladas, preparar una solución que contenga 1,3 mg/mL de ER Insulina Bovina USP y 0,25 mg/mL de ER Insulina Porcina USP en ácido clorhídrico 0,01 N.

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

Solución muestra B (para Suspensiones con un contenido declarado de 100 Unidades USP de Insulina/mL): Agregar 2,5 µL de ácido clorhídrico 9,6 N por cada mililitro de un volumen de Suspensión medido con exactitud. Dejar que la suspensión 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 y desamido insulina A-21, *Solución de aptitud del sistema*

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

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

Análisis

Muestras: *Solución de identificación, Solución estándar y ya sea Solución muestra A o Solución muestra B*

Medir las respuestas de los picos de insulina y desamido insulina A-21 de la especie apropiada, usando el cromatograma de la *Solución de identificación* para identificar los picos de insulina.

Para Suspensiones preparadas a partir de una sola especie, calcular la potencia, en Unidades USP de Insulina/mL, de la porción de Suspensión 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 y desamido insulina A-21 de la *Solución muestra*

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

C_S = concentración de ya sea ER Insulina Bovina USP o ER Insulina Porcina USP en la *Solución estándar* (Unidades USP de Insulina/mL)

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

Para Suspensiones preparadas a partir de una mezcla de insulina bovina e insulina porcina, calcular la potencia total como la suma de las potencias de la insulina bovina y la insulina porcina, determinadas por separado, según se indicó anteriormente.

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

OTROS COMPONENTES

Cambio en la redacción:

- ▲ **DETERMINACIÓN DE CINCO** (591):▲ (IRA 1-ene-2019) 10–40 µg por cada 100 Unidades USP de Insulina

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 para la *Solución muestra*. Cumple con los requisitos.

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

Criterios de aceptación: No más de 3,0%

PRUEBAS ESPECÍFICAS**• INSULINA EN EL SOBRENADANTE**

Solución muestra: Centrifugar 10 mL de la Suspensión a 1500 × g durante 10 minutos. Usar el sobrenadante.

Análisis: Determinar el contenido de insulina de la *Solución muestra* mediante un método adecuado.

Criterios de aceptación: No más de 1,0 Unidad USP de Insulina/mL

• 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**• 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 Suspensión 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. No debe volver a envasarse. Almacenar en un refrigerador. Proteger de la luz solar. Evitar su congelación.**• ETIQUETADO:** Etiquetar indicando la especie o especies animales con las que está relacionada, ya sea porcina, bovina o una mezcla de porcina y bovina. Si la Suspensión de Insulina Isófana se produce a partir de insulina purificada, etiquetarla como tal. La etiqueta del envase de la Suspensión indica que la Suspensión se debe agitar cuidadosamente antes de usar. Etiquetar indicando que debe almacenarse en un refrigerador y que debe evitarse la congelación. La etiqueta indica la potencia en Unidades USP de Insulina/mL.**• ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP** (11)

ER Insulina Bovina USP
ER Insulina Porcina USP