

## Insulina

<b>Tipo de Publicación</b>	Boletín de Revisión
<b>Fecha de Publicación</b>	29-mar-2019
<b>Fecha Oficial</b>	01-may-2019
<b>Comité de Expertos</b>	Monografías 1 de Productos Biológicos—Péptidos
<b>Motivo de la Revisión</b>	Omitir el ER Insulina Bovina USP y los requisitos relacionados con la insulina bovina debido a la ausencia de productos de insulina bovina comerciales en los Estados Unidos

De conformidad con las Reglas y Procedimientos del Consejo de Expertos 2015–2020, el Comité de Expertos en Monografías 1 de Productos Biológicos–Péptidos ha revisado la monografía de Insulina. El propósito de esta revisión es eliminar el ER Insulina Bovina USP y los requisitos relacionados con la insulina bovina debido a que no existe ningún fabricante aprobado de insulina bovina terapéutica en los Estados Unidos y los materiales de referencia adecuados no están disponibles.

Si bien se usa el ER Insulina Bovina USP como un estándar en la *Identificación*, *Valoración* y prueba de *Sustancias Relacionadas con el Producto* para las insulinas de origen bovino, el único uso para productos no bovinos es como una *Solución de identificación*, en la que el ER Insulina Porcina USP y el ER Insulina Bovina USP se mezclan y se usan como un estándar para la identificación basada en el tiempo de retención. El ER Insulina Bovina USP y el ER Insulina Porcina USP están bien resueltos en la *Valoración*, con tiempos de retención de aproximadamente 14 y 21 minutos, respectivamente, por lo que el ER Insulina Bovina USP no es necesario para la identificación de insulina porcina. Además, la *Identificación B*, *Mapeo de Péptidos*, puede distinguir fácilmente entre la insulina bovina y la porcina. Por lo tanto, se han eliminado las referencias a la insulina bovina y al ER Insulina Bovina USP de la *Identificación*, *Valoración* y la prueba de *Sustancias Relacionadas con el Producto*, y también se han realizado los cambios correspondientes en la información química, *Definición*, *Etiquetado* y *Estándares de Referencia USP*.

El Boletín de Revisión de Insulina reemplaza la monografía oficial vigente y será incorporado en una próxima publicación.

Para cualquier pregunta o inquietud, por favor contactar a Diane McCarthy, Senior Manager (301-692-3637 o [diane.mccarthy@usp.org](mailto:diane.mccarthy@usp.org)).



Tabla 1

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)
0	90	10
60	30	70
65	0	100
70	0	100
71	90	10
86	90	10

**Aptitud del sistema****Muestra:** Solución estándar**Requisitos de aptitud****Resolución:** No menos de 1,9 entre los fragmentos de digestión II y III

[NOTA—El Fragmento I tiene el mismo tiempo de elución en insulina porcina e Insulina Humana; el Fragmento II tiene el mismo tiempo de elución en Insulina Humana e insulina bovina y porcina; y el Fragmento III tiene el mismo tiempo de elución en insulina bovina y porcina.]

**Factor de asimetría:** No más de 1,5 para los fragmentos de digestión II y III**Similitud de los cromatogramas:** El cromatograma de la Solución estándar corresponde al cromatograma de referencia provisto con ER Insulina Porcina USP.**Criterios de aceptación:** Cumple con los requisitos.▲ (USP 1-May-2019)**Agregar lo siguiente:**

- ▲ **C. VALORACIÓN DE INSULINA** <121>, Valoración, Prueba de Biodiversidad: Cumple con los requisitos.▲ (USP 1-May-2019)

**VALORACIÓN****Cambio en la redacción:****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 una temperatura de no menos de 20° para evitar la precipitación.]

**Solución de aptitud del sistema:** 1,5 mg/mL de Insulina 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.

[NOTA—La Solución de identificación, Solución estándar y Solución muestra se pueden almacenar durante un máximo de 12 horas a temperatura ambiente o durante un máximo de 48 horas en un refrigerador.]

**Solución de identificación:** 0,6 mg/mL de ER Insulina Porcina USP ▲ (BR 1-May-2019) en ácido clorhídrico 0,01 N**Solución estándar:** 1,5 mg/mL de ▲ER Insulina Porcina USP ▲ (BR 1-May-2019) en ácido clorhídrico 0,01 N ▲ (BR 1-May-2019)**Solución muestra:** 1,5 mg/mL de Insulina en ácido clorhídrico 0,01 N**Sistema cromatográfico**

(Ver Cromatografía &lt;621&gt;, 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 Solución muestra

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

▲ (BR 1-May-2019) Calcular la potencia con respecto a la sustancia sin secar, en Unidades USP de Insulina/mg, de Insulina en la Solución muestra:

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

 $r_U$  = 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 ▲ (BR 1-May-2019) ER Insulina Porcina USP en la Solución estándar (Unidades USP de Insulina/mL) $C_U$  = concentración de Insulina en la Solución muestra (mg/mL)

▲ (BR 1-May-2019)

**Criterios de aceptación:** No menos de 26,5 Unidades USP de Insulina/mg con respecto a la sustancia seca; la Insulina que se etiqueta como purificada contiene no menos de 27,0 Unidades USP de Insulina/mg con respecto a la sustancia seca.**OTROS COMPONENTES****Cambio en la redacción:****DETERMINACIÓN DE CINC** <591>▲ **Criterios de aceptación:** No más de 1,0% con respecto a la sustancia seca ▲ (USP 1-May-2019)**IMPUREZAS Y SUSTANCIAS RELACIONADAS CON EL PRODUCTO****Cambio en la redacción:****▲ SUSTANCIAS RELACIONADAS CON EL PRODUCTO** ▲ (USP 1-May-2019)**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.**Solución B:** Acetonitrilo y Solución A (18:82)**Solución C:** Acetonitrilo y Solución A (50:50)**Fase móvil:** Ver la Tabla 2.

Tabla 2

Tiempo (min)	Solución B (%)	Solución C (%)
0	81	19
60	81	19

**Tabla 2** (continuación)

Tiempo (min)	Solución B (%)	Solución C (%)
85	36	64
91	36	64
92	81	19

**Solución de aptitud del sistema:** 1,5 mg/mL de Insulina 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.

[NOTA—Las Soluciones estándar A–C se pueden almacenar durante un máximo de 12 horas a temperatura ambiente o durante un máximo de 48 horas en un refrigerador.]

**Solución estándar A:** 3,75 mg/mL de <sup>▲</sup>ER Insulina Porcina USP <sup>▲</sup>(BR 1-May-2019) en ácido clorhídrico 0,01 N <sup>▲</sup>(BR 1-May-2019)

**Solución estándar B:** 0,375 mg/mL de <sup>▲</sup>(BR 1-May-2019) ER Insulina Porcina USP en ácido clorhídrico 0,01 N, que se prepara según se indica a continuación. Pipetear y transferir 1 mL de Solución estándar A a un matraz volumétrico de 10 mL, diluir con ácido clorhídrico 0,01 N a volumen y mezclar.

**Solución estándar C:** 0,0375 mg/mL de <sup>▲</sup>(BR 1-May-2019) ER Insulina Porcina USP en ácido clorhídrico 0,01 N, que se prepara según se indica a continuación. Pipetear y transferir 1 mL de Solución estándar B a un matraz volumétrico de 10 mL, diluir con ácido clorhídrico 0,01 N a volumen y mezclar.

**Solución muestra:** 3,75 mg/mL de Insulina en ácido clorhídrico 0,01 N. Preparar la solución en un vial con tapón, tapar el vial y agitar suavemente hasta disolver. Almacenar la solución durante no más de 2 horas a temperatura ambiente o durante no más de 12 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

**Muestras:** Solución de aptitud del sistema, Solución estándar A, Solución estándar B y Solución estándar C

[NOTA—Ajustar la composición de la Fase móvil y la duración de la elución isocrática para obtener un tiempo de retención de aproximadamente 31 minutos para la insulina, con la desamido insulina A-21 eluyendo justo antes del inicio de la fase de elución por gradiente.]

#### Requisitos de aptitud para la Solución de aptitud del sistema

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

**Factor de asimetría:** No más de 1,8 para el pico de insulina

#### Requisitos de aptitud para las Soluciones estándar

Calcular el factor  $X_1$ :

$$X_1 = (r_B/r_A) \times D$$

$r_B$  = respuesta del pico de la Solución estándar B

$r_A$  = respuesta del pico de la Solución estándar A

$D$  = factor de dilución, 10

**Resultado:** Entre 0,91 y 1,09

Calcular el factor  $X_2$ :

$$X_2 = (r_C/r_A) \times D$$

$r_C$  = respuesta del pico de la Solución estándar C

$r_A$  = respuesta del pico de la Solución estándar A

$D$  = factor de dilución, 100

**Resultado:** Entre 0,7 y 1,3

#### Análisis

**Muestra:** Solución muestra

Calcular el porcentaje de insulina, desamido insulina A-21 y otras <sup>▲</sup>sustancias relacionadas de insulina <sup>▲</sup>(USP 1-May-2019) en la porción de Insulina tomada:

Calcular el porcentaje de Insulina (%I):

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

$r_i$  = respuesta del pico de insulina de la Solución muestra

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

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

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

$r_D$  = respuesta del pico de desamido insulina 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 <sup>▲</sup>sustancias relacionadas de insulina: <sup>▲</sup>(USP 1-May-2019)

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

**Criterios de aceptación:** No más de 10,0% de desamido insulina A-21 y no más de 5,0% de otras <sup>▲</sup>sustancias relacionadas de insulina <sup>▲</sup>(USP 1-May-2019)

<sup>▲</sup>(BR 1-May-2019)

#### Cambio en la redacción:

- **PROCEDIMIENTOS ANALÍTICOS FÍSICOQUÍMICOS PARA INSULINAS** (121.1), Límite de Proteínas de Alto Peso Molecular: Cumple con los requisitos. <sup>▲</sup>(USP 1-May-2019)

**Criterios de aceptación:** No más de 1,0%

#### IMPUREZAS RELACIONADAS CON EL PROCESO

##### Agregar lo siguiente:

- **CONTENIDO DE PROINSULINA:** No más de 10 ng/mg, determinado mediante un método validado. <sup>▲</sup>(USP 1-May-2019)

#### PRUEBAS ESPECÍFICAS

##### Eliminar lo siguiente:

- **VALORACIÓN DE INSULINA** (121), Valoración, Prueba de Boidentidad: Cumple con los requisitos. <sup>▲</sup>(USP 1-May-2019)
- **PÉRDIDA POR SECADO** (731)  
**Muestra:** 200 mg  
**Análisis:** Secar la Muestra a 105° durante 16 horas.  
**Criterios de aceptación:** No más de 10,0%

**Eliminar lo siguiente:**

- ▲ • **DETERMINACIÓN DE CINC** <591>, *Procedimiento, Método de Dtitizona*  
Muestra: 10 mg  
Criterios de aceptación: No más de 1,0% con respecto a la sustancia seca ▲ (USP 1-May-2019)
- **PRUEBA DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS** <85>: No más de 10 Unidades USP de Endotoxina/mg de insulina
- **PRUEBAS DE RECuento MICROBIANO** <61> y **PRUEBAS DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS** <62>: El recuento total bacteriano no excede de  $3 \times 10^2$  ufc/g, realizando la prueba sobre una porción de aproximadamente 0,2 g pesados con exactitud.

**REQUISITOS ADICIONALES**

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

**Cambio en la redacción:**

- **ETIQUETADO:** Etiquetarla ▲ (BR 1-May-2019) como porcina ▲ (BR 1-May-2019). Si la Insulina es purificada, etiquetarla como tal.

**Cambio en la redacción:**

- **ESTÁNDARES DE REFERENCIA USP** <11> ▲ (BR 1-May-2019)  
ER Insulina Porcina USP