

"2021, Año de la Independencia"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de mayo y hasta el 30 de junio de 2021, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

MONOGRAFÍA NUEVA

Dice	Debe decir	Justificación*																				
<p>INFLIXIMAB</p> <p>Infliximab es un anticuerpo monoclonal IgG1 humano-murino quimérico kappa que representa una inmunoglobulina glicosilada con un sitio de glicosilación ligado a 1-N-(Asn 300) en el dominio CH2 de cada cadena pesada.</p> <p>Los oligosacáridos detectados son principalmente estructuras G0F (ausencia de galactosa terminal) y G1F (galactosa 1 terminal). Cada cadena pesada consta de 450 aminoácidos con 11 residuos de cisteína, y cada cadena ligera consta de 214 aminoácidos con 5 residuos de cisteína. Todos los residuos de cisteína en cadenas pesadas y ligeras están implicados en enlaces intra o inter-disulfuro.</p>																						
<p>Cadena pesada</p> <table border="0"> <tr> <td>EVKLEESGGG</td> <td>LVQPGGSMKL</td> <td>SCVASGFIFS</td> <td>NHWMNWVRQS</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>PEKLEWVAE</td> <td>IRSKSINSAT</td> <td>HYAESVKGRF</td> <td>TISRDSKSA</td> <td>80</td> </tr> <tr> <td>VYLQMTDLRT</td> <td>EDTVYYCSR</td> <td>NYGSTDYDW</td> <td>GQGTLTVSS</td> <td>120</td> </tr> <tr> <td>ASTKGPSVFP</td> <td>LAPSSKSTSG</td> <td>GTAALGCLVK</td> <td>DYFPEPVTVS</td> <td>160</td> </tr> </table>	EVKLEESGGG	LVQPGGSMKL	SCVASGFIFS	NHWMNWVRQS	40	PEKLEWVAE	IRSKSINSAT	HYAESVKGRF	TISRDSKSA	80	VYLQMTDLRT	EDTVYYCSR	NYGSTDYDW	GQGTLTVSS	120	ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	160		
EVKLEESGGG	LVQPGGSMKL	SCVASGFIFS	NHWMNWVRQS	40																		
PEKLEWVAE	IRSKSINSAT	HYAESVKGRF	TISRDSKSA	80																		
VYLQMTDLRT	EDTVYYCSR	NYGSTDYDW	GQGTLTVSS	120																		
ASTKGPSVFP	LAPSSKSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	160																		

"2021, Año de la Independencia"

Dice					Debe decir					Justificación*
WNSGALTSKV	HTFPAVLQSS	GLYLSSSVVT	VPSSSLGTQT	200						
YICNVNHKPS	NTKVDKKVEP	KSCDKTHTCP	PCPAPELLGG	240						
PSVFLFPPKP	KDTLMISRTP	EVTCVVVDVS	HEDPEVKFNW	280						
YVDGVEVHNA	KTKPREEQYN	STYRVVSVLT	VLHQDWLNGK	320						
EYKCKVSNKA	LPAPIEKTIS	KAKGQPREPQ	VYTLPPSRDE	360						
LTKNQVSLTC	LVKGFYPSDI	AVEWESNGQP	ENNYKTTTPV	400						
LDSDSGFFLY	SKLTVDKSRW	QQGNVFSCSV	MHEALHNHYT	440						
QKSLSLSPGK				450						
Cadena ligera										
DILLTQSPAI	LSVSPGERVS	FSCRASQFVG	SSIHWYQRT	40						
NGSPRLLIKY	ASEMSGIPS	RFGSGSGTD	FTLSINTVES	80						
EDIADYQCQQ	SHSWPFTFGS	GTNLEVKRTV	AAPSVFIFPP	120						
SDEQLKSGTA	SVVCLLNNFY	PREAKVQWKV	DNALQSGNSQ	160						
ESVTEQDSKD	STYLSSTLT	LSKADYEKHK	VYACEVTHQG	200						
LSSPVTKSFN	RGEC			214						
Puentes disulfuro										
Intra- H	22-98	147-203	264-324	370-428						
	22"-98"	147"-203"	264"-324"	370"-428"						
Intra- L	23'-88'	134'-194'								
	23"-88"	134"-194"								
Inter- H-L	223-214'									
	223"-214"									
Inter-H-H	229-229"	232-232"								
Sitios de N-Glicosilación 300, 300"										
C ₆₄₆₂ H ₉₉₆₀ N ₁₇₂₈ O ₂₀₃₆ S ₄₄ (dímero sin glicosilaciones)										
Peso molecular aproximado 145 kDa (dímero sin glicosilaciones)										
Potencia: 8 × 10 ³ a 12 × 10 ³ UI por miligramo de proteína.										
BIOFÁRMACO										
DESCRIPCIÓN. Solución de anticuerpo monoclonal quimérico de 1328 aminoácidos con dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras unidas por medio de enlaces disulfuro y con un peso molecular de aproximadamente 145 kDa, que se une con alta afinidad a las formas solubles y transmembranales de TNF-α.										

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>PRODUCCIÓN. Infiximab se produce en sistema de expresión de células de mamífero adecuado utilizando tecnología de ADN recombinante (ADNr). Durante el desarrollo del producto, debe demostrarse que el proceso de fabricación produce consistentemente un producto con el esperado sitio de glicosilación del N-glicano y tiene funciones efectoras Fc (citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC)), y citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) utilizando ensayos adecuadamente calificados.</p>		
<p>PROTEÍNAS DERIVADAS DE CÉLULAS HOSPEDERA. No más de 100 ppm.</p>		
<p>ADN DERIVADO DE LA CÉLULA HOSPEDERA Y DEL VECTOR. No más de 10 ng/dosis.</p>		
<p>PROTEÍNA A RESIDUAL. No más de 10 ppm. Utilizar un método inmunoquímico adecuado y validado, basado en un ensayo inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA). Para determinar la proteína A residual, la preparación a examinar se transfiere a una microplaca ELISA recubierta con un anticuerpo de captura anti-proteína. Se agrega un anticuerpo policlonal anti-proteína A conjugado con peroxidasa seguido de un sustrato de peroxidasa. Se mide la densidad óptica, la cantidad de proteína residual se calcula utilizando una curva estándar y los métodos estadísticos habituales.</p>		
<p>ANÁLISIS DE GLICANOS. Utilizar el método que se describe a continuación o un método adecuado y validado por el fabricante: Límites: Porcentaje de glicanos fucosilados: según lo autorizado al momento de su registro ante la Autoridad Regulatoria Nacional.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*										
<p>Porcentaje de glicanos afucosilados: según lo autorizado al momento de su registro ante la Autoridad Regulatoria Nacional.</p> <p>Porcentaje de glicanos sialilados: según lo autorizado al momento de su registro ante la Autoridad Regulatoria Nacional.</p>												
<p>Después de desalar, liberar los glicanos utilizando uno de los agentes, descritos en la <i>Tabla 1</i>, por ejemplo peptidil N-glicosidasa F (PNGasa F):</p>												
<p><i>Tabla 1. Ejemplos de agentes enzimáticos de escisión</i></p> <table border="1" data-bbox="113 678 787 1421"> <thead> <tr> <th data-bbox="113 678 420 719">Agentes</th> <th data-bbox="420 678 787 719">Especificidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="2" data-bbox="113 719 787 760">Liberación de N- glicosilación</td> </tr> <tr> <td data-bbox="113 760 420 1125"> <p>Péptidil-N4-(N-acetil-β-glucosaminil) asparagina amidasa. (EC 3.5.1.52)</p> </td> <td data-bbox="420 760 787 1125"> <p>Hidrólisis de un residuo de asparagina N4- (acetil-β-D-glucosaminil) en el cual el residuo de glucosamina puede estar más glicosilado para producir un (sustituto) N-acetil-β-D-glucosaminilamina y un péptido que contiene un residuo de aspartato.</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="113 1125 420 1344"> <p>-Péptidil N-glicosidasa F (PNGasa F)</p> </td> <td data-bbox="420 1125 787 1344"> <p>Liberación de la cadena N-glicano pero sin la liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="113 1344 420 1421"> <p>-Péptidil N-glicosidasa F (PNGasa F)</p> </td> <td data-bbox="420 1344 787 1421"> <p>Liberación de la cadena N-glicano que contiene el</p> </td> </tr> </tbody> </table>	Agentes	Especificidad	Liberación de N- glicosilación		<p>Péptidil-N4-(N-acetil-β-glucosaminil) asparagina amidasa. (EC 3.5.1.52)</p>	<p>Hidrólisis de un residuo de asparagina N4- (acetil-β-D-glucosaminil) en el cual el residuo de glucosamina puede estar más glicosilado para producir un (sustituto) N-acetil-β-D-glucosaminilamina y un péptido que contiene un residuo de aspartato.</p>	<p>-Péptidil N-glicosidasa F (PNGasa F)</p>	<p>Liberación de la cadena N-glicano pero sin la liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p>	<p>-Péptidil N-glicosidasa F (PNGasa F)</p>	<p>Liberación de la cadena N-glicano que contiene el</p>		
Agentes	Especificidad											
Liberación de N- glicosilación												
<p>Péptidil-N4-(N-acetil-β-glucosaminil) asparagina amidasa. (EC 3.5.1.52)</p>	<p>Hidrólisis de un residuo de asparagina N4- (acetil-β-D-glucosaminil) en el cual el residuo de glucosamina puede estar más glicosilado para producir un (sustituto) N-acetil-β-D-glucosaminilamina y un péptido que contiene un residuo de aspartato.</p>											
<p>-Péptidil N-glicosidasa F (PNGasa F)</p>	<p>Liberación de la cadena N-glicano pero sin la liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p>											
<p>-Péptidil N-glicosidasa F (PNGasa F)</p>	<p>Liberación de la cadena N-glicano que contiene el</p>											

"2021, Año de la Independencia"

Dice		Debe decir	Justificación*
	enlace α 1-3 unido a la estructura base de la fucosa.		
-Manosil-glicoproteína endo- β -N-acetilglucosaminidasa. (EC 3.2.1.96)	Endohidrólisis de la unidad N, N'-diacetilchitobiosil en glucopéptidos/glicoproteínas de alta manosa que contienen la estructura [Man (GlcNac) ₂ Asn.		
-Endo- β -N-acetylglucosaminidasa F (endo F)	Liberación de oligosacáridos de alta manosa, híbridos y complejos.		
-Endo- β -N-acetylglucosaminidasa H (endo H)	Liberación de oligosacáridos híbridos de alta manosa		
Si es necesario, marcar los glicanos liberados con uno de los agentes fluorescentes de marcado descritos en la <i>Tabla 2</i> .			
<i>Tabla 2</i> . Ejemplos de agentes fluorescentes y técnicas apropiadas de análisis.			
Nombre	Acrónimo	Técnicas analíticas	
Ácido 2-aminobenzoico	2-AA	CLAR (MGA 0241) y Espectrometría de masas (MGA 0365)	
2-aminobenzamida	2-AB	CLAR (MGA 0241) y Espectrometría de masas (MGA 0365)	
2-aminopiridina	2-AP	CLAR (MGA 0241) y Espectrometría de masas (MGA 0365)	
2-Amino-9(10H)-acridinona	AMAC	Electroforesis en gel (MGA 0311)	

"2021, Año de la Independencia"

Dice			Debe decir	Justificación*
Ácido trisódico 8-aminopireno-1,3,6-trisulfónico	APTS	Electroforesis capilar (MGA 0312)		
<p>Analizar los glicanos marcados o no marcados utilizando una técnica adecuada. El siguiente procedimiento se da como ejemplo:</p>				
<p>Solución A. Disolver 0.17 g de fosfato monobásico de sodio anhidro y 0.53 g de fosfato dibásico de sodio anhidro en agua. Ajustar a pH 7.6 con solución de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico y llevar a volumen de 1000 mL con agua.</p>				
<p>Solución de la muestra. Desalar un volumen de la solución de la muestra por un método adecuado (por ejemplo, utilizando un filtro centrífugo con agua para cromatografía como solución amortiguadora de elusión) y diluir con solución A para obtener una concentración de aproximadamente 1 mg/mL. A 200 µL de esta solución, adicionar 0.3 µL de una solución de péptido N-glucosidasa F de 500 000 U/mL. Incubar a 37 °C durante al menos 16 h.</p>				
<p>Solución de referencia (a). Disolver el contenido de un vial de la SRef de Infliximab en agua. Desalar un volumen de esta preparación y llevar a cabo la liberación de glicano al mismo tiempo y de la misma manera que para la solución de prueba.</p>				
<p>Solución de referencia (b). Utilizar una preparación adecuada de referencia de trabajo de Infliximab; puede ser una muestra representativa de los lotes probados clínicamente y lotes utilizados para demostrar consistencia de la producción. Desalar un volumen de esta preparación y llevar la liberación de glicano al</p>				

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*																																			
mismo tiempo y de la misma manera que para la solución de muestra.																																					
<p>Solución blanco. Usar 200 µL de solución A para proceder a la liberación de glicano. Analizar los glicanos nativos por MGA 241, CLAR.</p> <p>Fase móvil A. Solución de hidróxido de sodio (2 g/L).</p> <p>Fase móvil B. Solución de hidróxido de sodio (2 g/L) y acetato de sodio anhidro (10.25 g/L).</p> <p>Fase móvil C. Solución de hidróxido de sodio (2 g/L) y acetato de sodio anhidro (41 g/L).</p>																																					
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Time</th> <th>Fase móvil A (% v/v)</th> <th>Fase móvil B (% v/v)</th> <th>Fase móvil C (% v/v)</th> <th>Velocidad de flujo (mL/min)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 – 5</td> <td>99.2</td> <td>0.8</td> <td>0</td> <td>0.35</td> </tr> <tr> <td>5 – 45</td> <td>99.2 → 95.2</td> <td>0.8 → 4.8</td> <td>0</td> <td>0.35</td> </tr> <tr> <td>45 – 50</td> <td>95.2 → 72</td> <td>4.8 → 28</td> <td>0</td> <td>0.35</td> </tr> <tr> <td>50 – 77</td> <td>72 → 4</td> <td>28 → 96</td> <td>0</td> <td>0.35</td> </tr> <tr> <td>77 – 77.1</td> <td>4 → 0</td> <td>96 → 0</td> <td>0 → 100</td> <td>0.35</td> </tr> <tr> <td>77.1 – 87</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>100</td> <td>0.40</td> </tr> </tbody> </table>	Time	Fase móvil A (% v/v)	Fase móvil B (% v/v)	Fase móvil C (% v/v)	Velocidad de flujo (mL/min)	0 – 5	99.2	0.8	0	0.35	5 – 45	99.2 → 95.2	0.8 → 4.8	0	0.35	45 – 50	95.2 → 72	4.8 → 28	0	0.35	50 – 77	72 → 4	28 → 96	0	0.35	77 – 77.1	4 → 0	96 → 0	0 → 100	0.35	77.1 – 87	0	0	100	0.40		
Time	Fase móvil A (% v/v)	Fase móvil B (% v/v)	Fase móvil C (% v/v)	Velocidad de flujo (mL/min)																																	
0 – 5	99.2	0.8	0	0.35																																	
5 – 45	99.2 → 95.2	0.8 → 4.8	0	0.35																																	
45 – 50	95.2 → 72	4.8 → 28	0	0.35																																	
50 – 77	72 → 4	28 → 96	0	0.35																																	
77 – 77.1	4 → 0	96 → 0	0 → 100	0.35																																	
77.1 – 87	0	0	100	0.40																																	
<p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos, equipado con detector electroquímico de amperometría pulsada u otro detector de acuerdo al marcaje del glicano. Precolumna de 5 cm × 3.0 mm, fase estacionaria de resina de intercambio aniónico básico fuerte para cromatografía R2 (5.5 µm).</p> <p>Columna de 25 cm × 3.0 mm, fase estacionaria de resina de intercambio aniónico básica fuerte para cromatografía R2 (5.5 µm). Temperatura de la columna de 30 °C. Temperatura del automuestreador entre 2 y 8 °C.</p>																																					

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Volumen de inyección de 25 µL.</p> <p>Identificación de picos. Usar el cromatograma de la <i>Figura 1</i>, para identificar los 7 picos correspondientes a: fucosilados (picos 1, 4 y 5), afucosilados (picos 2 y 3) y glicanos sialilados (picos 6 y 7), registrar el tiempo de retención de cada pico.</p> <p><i>*Ver cromatograma al final de esta monografía.</i></p>		
<p>Adecuabilidad del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia (a) es cualitativamente similar al cromatograma obtenido con la SRef de infliximab y los picos 1 a 7 son claramente visibles. No se observan picos significativos en el cromatograma obtenido con la solución blanco.</p>		
<p>Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de la muestra, corresponde al del cromatograma obtenido con solución de referencia (b). Los tiempos de retención de los picos obtenidos en el cromatograma con la solución de la muestra corresponde a los obtenidos en el cromatograma con la solución de referencia (b).</p> <p>No se observan picos adicionales en el cromatograma obtenido con la solución de la muestra en comparación con el cromatograma obtenido con la solución de referencia (b).</p> <p>Calcular las áreas de los picos relativos a los picos individuales que correspondan a los glicanos fucosilados, afucosilados y sialilados con referencia a la suma de las áreas de todos los picos retenidos de glicano.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Calcular el contenido porcentual de glicanos fucosilados, afucosilados y glicanos sialilados, mediante la siguiente ecuación:</p>		
$\frac{A}{A + B + C} \times 100$		
<p>Donde: A = Es la suma de las áreas de los picos debido a glicanos fucosilados. B = Es la suma de las áreas de los picos debido a glicanos afucosilados. C = Es la suma de las áreas de los picos debido a glicanos sialilados. Nota: los glicanos sialilados eluyen como grupos de picos y son integrados como tal.</p>		
<p>VARIANTES DE CARGA. A. Isoelectroenfoque. MGA 0311. Usar geles de agarosa adecuados. Alternativamente, se puede utilizar el método de isoelectroenfoque capilar, MGA 0312. Validado por el fabricante. El siguiente procedimiento se da como ejemplo.</p>		
<p>Solución de la muestra. Preparar una solución de la muestra a una concentración de 0.5 mg/mL en agua.</p>		
<p>Solución de referencia (a). Disolver el contenido de un vial de la SRef de Infliximab en agua, para obtener una concentración de 0.5 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia (b). Utilizar una preparación de referencia de Infliximab la cual puede ser una muestra representativa de los lotes probados clínicamente y lotes utilizados para demostrar consistencia de la producción</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
(preparación de referencia de trabajo). Diluir con agua para obtener una concentración de 0.5 mg/mL.		
Solución de referencia (c). Usar una solución de calibración para punto isoelectrico (pI), en el intervalo de pI de 3 a 10, preparada de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Ajustar la concentración para permitir la detección de todas las proteínas marcadas.		
Condiciones del equipo. Gradiente de pH entre 3 y 10, catolito: solución de hidróxido de sodio (40 g/L); anolito: solución de ácido acético glacial al 2.87 por ciento v/v, aplicación: 15 µL. Para cada gel, cargar 2 carriles con la solución de referencia (a), 2 carriles con solución de referencia (b) y 2 carriles con solución de referencia (c); usar los carriles restantes para la solución de la muestra. Continuar con el isoelectroenfoque aplicando los parámetros eléctricos según las instrucciones del fabricante (se han encontrado los siguientes parámetros adecuados: 1500 V, 7 mA, 25 W y 80 min).		
Mezcla A. 80 volúmenes de ácido acético glacial, 250 volúmenes de etanol y 670 volúmenes de agua.		
Solución de tinción. (1 g/L de solución de azul ácido 83 en la mezcla A).		
Detección. Como se describe en el método general (MGA 0312) con las siguientes modificaciones: Sumergir el gel en una solución que contenga 36 g/L de ácido sulfosalicílico, 60 g/L de ácido tricloroacético y 285 g/L de metanol. Incubar con agitación suave a temperatura ambiente durante 30 min. Drenar la solución y transferir el gel a la mezcla A. Agitar y		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>enjuagar durante 10 min a temperatura ambiente. Sumergir el gel en la solución de tinción e incubar durante 20 min a temperatura ambiente. Remover selectivamente el gel por difusión pasiva (durante al menos 6 h) con la mezcla A hasta que las bandas estén bien visualizadas contra un fondo claro. Remojar y lavar el gel durante 1 h con agua.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El electroferograma obtenido con la solución de referencia (a) presenta 7 bandas (4 mayores y 3 menores) en el pl en la región 7.35-8.30, las cuales son claramente visibles. En el electroferograma obtenido con la solución de referencia (c), se distribuyen los marcadores de pl relevantes a lo largo de todo el gel.</p>		
<p>Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de la muestra es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (b). Trazar las distancias de migración de los marcadores de pl de la solución de muestra contra pl de la SRef y determinar el punto isoeléctrico de los componentes principales de la solución de prueba y solución de referencia (b), estos no deben ser diferentes por más de 0.05 pl unidades. No se observan bandas adicionales en el electroferograma obtenido con la solución de la muestra en comparación con el electroferograma obtenido con solución de referencia (b).</p>		
<p>B. CLAR. MGA 241. Emplear el método que se describe a continuación o un método normalizado y validado por el fabricante. Límites: Suma de las isoformas 1 y 2, según lo autorizado por la autoridad competente.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Suma de las isoformas 3, 4 y 6, según lo autorizado por la autoridad competente. Isoforma 5, según lo autorizado por la autoridad competente.</p> <p>Solución de la muestra. Preparar una solución de la muestra que contenga 1 mg/mL en fase móvil A.</p> <p>Solución de referencia (a). Disolver el contenido de un vial de la Sref de Infliximab en fase móvil A para obtener una concentración de 1 mg/mL.</p> <p>Solución de referencia (b). Utilizar una preparación adecuada de referencia de Infliximab la cual puede ser una muestra representativa de los lotes probados clínicamente ó lotes utilizados para demostrar consistencia de la producción. Diluir con la fase móvil A, hasta obtener una concentración de 1 mg/mL.</p>		
<p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de UV a 214 nm. Precolumna de 5 cm × 4 mm, fase estacionaria de resina de intercambio catiónico débil (10 µm). Columna de 25 cm × 4 mm, fase estacionaria de resina de intercambio catiónico débil (10 µm). Velocidad de flujo de 0.8 mL/min. Temperatura del automuestreador: 10 °C. Volumen de inyección de 50 µL.</p>		
<p>Fase móvil A. Disolver 0.56 g de fosfato monobásico de sodio anhidro y 1.14 g fosfato dibásico de sodio dihidratado en 800 mL de agua para cromatografía; si es necesario ajustar a pH 7.25 con solución de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico. Llevar a volumen de 1000 mL con agua para cromatografía y desgasificar.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*												
<p>Fase móvil B. Disolver 0.56 g fosfato monobásico de sodio, 1.14 g de fosfato dibásico de sodio dihidratado y 58.44 g de cloruro de sodio en 800 mL de agua para cromatografía. Si es necesario ajustar a pH 7.25 con solución de hidróxido de sodio o ácido clorhídrico. Llevar a volumen de 1000 mL con agua para cromatografía y desgasificar.</p>														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo</th> <th>Fase móvil A (% v/v)</th> <th>Fase móvil B (% v/v)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 – 15</td> <td>100 → 92</td> <td>0 → 8</td> </tr> <tr> <td>15 – 16</td> <td>92 → 60</td> <td>8 → 40</td> </tr> <tr> <td>16 – 21</td> <td>60</td> <td>40</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo	Fase móvil A (% v/v)	Fase móvil B (% v/v)	0 – 15	100 → 92	0 → 8	15 – 16	92 → 60	8 → 40	16 – 21	60	40		
Tiempo	Fase móvil A (% v/v)	Fase móvil B (% v/v)												
0 – 15	100 → 92	0 → 8												
15 – 16	92 → 60	8 → 40												
16 – 21	60	40												
<p>Tiempo de retención relativa. El tiempo de retención relativo con referencia al pico de la isoforma 6 (tiempo de retención = aproximadamente 9.2 min), isoforma 1 = 0.68, isoforma 2 = 0.74, isoforma 3 = 0.80, isoforma 4 = 0.87, isoforma 5 = 0.95.</p>														
<p>Aptitud del sistema: solución de referencia (a). El cromatograma obtenido es similar al cromatograma de la SRef de Infliximab. La resolución es no menos de 1.5 entre los picos de las isoformas 3 y 4.</p>														
<p>Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde al del cromatograma obtenido con la solución de referencia (b). Las retenciones relativas de los picos de las isoformas 2, 3 y 4 en el cromatograma obtenido con la solución de la muestra están dentro del 1 por ciento de los picos que corresponden al cromatograma de la solución de referencia (b). Calcular las áreas relativas de los picos individuales debido a las isoformas, con referencia al área total de todos los picos que eluyen entre 3 min y 11 min.</p>														

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Límites. La suma de las isoformas 1 y 2: de acuerdo a lo establecido por la autoridad competente. La suma de las isoformas 3, 4 y 6: de acuerdo a lo establecido por la autoridad competente. Isoforma 5: de acuerdo a lo establecido por la autoridad competente.</p>		
<p>CARACTERÍSTICAS APARIENCIA DE LA SOLUCIÓN. MGA 0121. Opalescente o ligeramente opalescente, incolora o líquido amarillo claro.</p>		
<p>ENSAYOS DE IDENTIDAD</p>		
<p>A. POTENCIA. Cumple con los límites del ensayo (potencia). La potencia estimada es no menos de 80 % y no más de 120% con respecto a la solución de referencia. Los límites de confianza (P = 0.95) no son menos del 80 por ciento y no más del 125 por ciento de la potencia estimada.</p>		
<p>B. MAPEO PEPTÍDICO. MGA 0241, CLAR. Solución amortiguadora. Disolver 50.0 g de sacarosa, 0.22 g fosfato monobásico de sodio monohidratado, 0.61 g fosfato dibásico de sodio dihidratado y 0.05 g de polisorbato 80 en agua purificada nivel 1. Si es necesario, ajustar el pH a 7.2. Llevar a volumen de 500 mL con agua.</p>		
<p>Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial de SRef de infliximab en solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 5 mg/mL. Solución de la muestra. Diluir la preparación de la muestra con solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 5 mg/mL.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Reducción y alquilación. Diluir la solución de la muestra con solución amortiguadora de guanidina-tris (hidroximetil) aminometano-EDTA pH 8.6 para obtener una concentración de 2 mg/mL. A 1 mL de esta solución, agregar 10 µL de una solución de 154 g/L de ditiotreitól e incubar a 37 °C durante 1 h. Adicionar 20 µL de una solución de yodoacetamida de 185 g/L recién preparada e incubar a temperatura ambiente durante 15 min; proteger de la luz. Añadir 10 µL de 154 g/L de solución de ditiotreitól y mezclar bien.</p>		
<p>Digestión. Desalinizar un volumen de la solución de reducción preparada previamente, mediante un método adecuado (por ejemplo, utilizando una unidad de filtración adecuada con solución amortiguadora de tris (hidroximetil) aminometano pH 7.5 como solución amortiguadora de elusión) y ajustar la concentración a 1 mg/mL con solución amortiguadora de tris (hidroximetil) aminometano pH 7.5. Preparar una solución de 0.5 mg/mL de tripsina para mapeo peptídico y añadir 10 µL de esta solución a 100 µL de la solución desalada e incubar a 37 °C durante 16 h. Agregar 2 µL de una solución de 150 g/L de ácido trifluoroacético, mezclar suavemente.</p>		
<p>Nota: Se recomienda una proporción de proteasa/proteína, 1:20 (p/p). Realizar los pasos de reducción/alquilación y digestión para la solución de referencia de la misma manera que para la solución de la muestra.</p>		
<p>SEPARACIÓN CROMATOGRÁFICA POR CLAR, MGA 241.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*															
<p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de UV a 214 nm. Columna con gel de sílice de octadecilsilano con los grupos silanol residuales desactivados/protegidos (5 µm) de 4.6mm x 25 cm, tamaño de poro de 30 nm. Temperatura de 30 °C, temperatura del auto muestreador a 2-8 °C. Velocidad de flujo de 1 mL/min. Volumen de inyección de 80 µL.</p>																	
<p>Fase móvil A. Adicionar 0.6 mL de ácido trifluoroacético a 1000 mL de agua para cromatografía y desgasificar. Fase móvil B. Adicionar 0.6 mL de ácido trifluoroacético a una mezcla de 100 mL de agua para cromatografía y 900 mL de acetonitrilo, desgasificar. Fase móvil. Mezclas variadas de fase móvil A y fase móvil B, de acuerdo a la siguiente tabla:</p>																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (min)</th> <th>Fase móvil A (% V/V)</th> <th>Fase móvil B (% V/V)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 - 3</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>3 - 115</td> <td>100 → 50</td> <td>0 → 50</td> </tr> <tr> <td>115 - 115.5</td> <td>50 → 10</td> <td>50 → 90</td> </tr> <tr> <td>115.5 - 135</td> <td>10</td> <td>90</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)	0 - 3	100	0	3 - 115	100 → 50	0 → 50	115 - 115.5	50 → 10	50 → 90	115.5 - 135	10	90		
Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)															
0 - 3	100	0															
3 - 115	100 → 50	0 → 50															
115 - 115.5	50 → 10	50 → 90															
115.5 - 135	10	90															
<p>Velocidad de flujo: 1 mL/min. Detección: espectrofotómetro a 214 nm. Temperatura del automuestreador: de 2 a 8°C. Volumen de inyección: 80 µL. Identificación de picos: usar el cromatograma de SRef de Infiximab para identificar los picos del 1 al 20.</p>																	
<p>Aptitud del sistema:</p>																	

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>- el cromatograma obtenido es similar al cromatograma de la SRef de Infliximab. Los picos 1 a 20 son claramente visibles.</p> <p>- los picos 5 y 6 están separados como se muestra en el cromatograma de la SRef de Infliximab.</p>		
<p>Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde al del cromatograma obtenido con la solución de referencia.</p> <p>Ningún pico adicional en el cromatograma obtenido con la solución de ensayo tiene un área superior al 0,5% de la suma de las áreas de los picos 1 a 20.</p>		
<p>PRUEBAS</p>		
<p>pH. MGA 0701. De acuerdo a lo aprobado por la autoridad competente.</p>		
<p>PROTEÍNAS RELACIONADAS. MGA 0312, <i>Electroforesis capilar.</i> Bajo condiciones reductoras y no reductoras.</p> <p>Límites para condiciones reductoras: La suma de todos los picos distintos de la cadena pesada y la cadena ligera, no es más del 2 por ciento;</p> <p>Límites para condiciones no reductoras: La suma de todos los picos distintos al pico principal, no es más del 8 por ciento.</p>		
<p>Solución amortiguadora. Disolver 1 g de dodecil sulfato de sodio en solución amortiguadora de tris (hidroximetil) aminometano pH 9.0 y llevar a volumen de 100 mL con la misma solución.</p>		
<p>Solución de la muestra. Preparar una solución de la muestra a una concentración de 2 mg/mL. Mezclar 27 µL de esta solución y 30 µL de la solución amortiguadora.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Condiciones reductoras. Adicionar 3 µL de 2-mercaptoetanol e incubar a 80°C durante 10 min; dejar enfriar durante 5 min y transferir 60 µL al vial del muestreador automático.</p>		
<p>Condiciones no reductoras: Adicionar 3 µL de una solución de 46.3 g/L de yodoacetamida e incubar entre 60 y 65°C durante 5 min; enfriar durante 5 min y transferir 60 µL al vial del inyector automático.</p>		
<p>Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial de la SRef de Infliximab en agua para obtener una concentración de 2 mg/mL. Mezclar 27 µL de la solución de referencia y 30 µL de solución amortiguadora. Preparar al mismo tiempo y de la misma manera que la solución de la muestra.</p>		
<p>Condiciones del equipo. Capilar con sílice fundida no revestida, con longitud total de aproximadamente 30 cm, longitud efectiva de 20 cm, diámetro interno de 50 µm. Temperatura de 25°C. Como gel amortiguador utilizar una formulación adecuada para un rango de tamizado de aproximadamente 10-225 kDa. Detector: Espectrofotómetro a 220 nm. Muestreador automático: ajustar a 25 ° C.</p>		
<p>Solución ácida de lavado. Ácido clorhídrico diluido. Solución básica de lavado. Solución de hidróxido de sodio a una concentración de 4 g/L.</p>		
<p>Preacondicionamiento del capilar. Enjuagar el capilar con solución básica de lavado durante 10 min a 138 kPa y, posteriormente, con solución ácida de lavado durante 5 min a 138 kPa. Después, enjuagar con agua durante 2 min a 138 kPa y con el gel amortiguador durante 10 min</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
a 483 kPa. Aplicar polaridad invertida de 15 kV durante 10 min.		
Enjuague entre corridas. Enjuagar el capilar con la solución básica de lavado durante 3 min a 483 kPa, posteriormente, con la solución ácida de lavado durante 1 min a 483 kPa, con agua durante 1 kPa y con el gel amortiguador durante 10 min a 483 kPa.		
Inyección. Electrocinéticamente a 5 kV de polaridad invertida durante 20 s. Migración. Aplicar un voltaje de polaridad inversa de 15 kV durante 35 min, usar el gel amortiguador como electrolito en ambos reservorios de amortiguamiento.		
Tiempo de migración. Condiciones reductoras: cadena ligera = 14 min a 17 min; cadena pesada no glicosilada = 17 min a 20 min; cadena pesada = 18 min a 21 min. Condiciones no reductoras: IgG intacta = 26 min a 32 min. Calcular las áreas corregidas de todos los picos con un tiempo de migración mayor de 11 min, utilizando la siguiente expresión:		
$\frac{L_d \times A}{t}$		
Donde: L_d = Es la longitud del capilar al detector. A = Es el área de pico no corregida; t = tiempo de migración.		
Aptitud del sistema. Solución de referencia. Condiciones reductoras: el electroferograma obtenido es cualitativamente similar al electroferograma obtenido con la SRef de Infliximab.		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Condiciones no reductoras: el electroferograma obtenido es cualitativamente similar al electroferograma obtenido con la SRef de Infiximab.</p>		
<p>Resultado. El perfil del electroferograma obtenido con la solución de la muestra corresponde al electroferograma obtenido con la solución de referencia, excepto para picos menores, los cuales pueden estar ausentes en el electroferograma obtenido con la solución de la muestra. Calcular las áreas de los picos individuales expresadas como un porcentaje de la suma de todas las áreas de los picos corregidos con un tiempo de migración mayor de 11 min.</p>		
<p>IMPUREZAS CON MASAS MOLECULARES DIFERENTES A LAS DE INFLIXIMAB. MGA 0241, Cromatografía de exclusión por tamaño descrito a continuación o utilizar un método validado por fabricante. Límite: La suma de todos los picos distintos al pico del monómero, no más del 2 por ciento.</p>		
<p>Solución de la muestra. Preparar una solución de la muestra a una concentración de 8 mg/mL con la fase móvil. Solución de referencia (a). Disolver el contenido de un vial de la SRef de Infiximab en la fase móvil para obtener una concentración de 8 mg/mL. Solución de referencia (b). Reconstituir una mezcla de tiroglobulina, gammaglobulina, ovoalbúmina, mioglobina y vitamina B12 en agua para obtener una solución de 18 mg/mL de marcadores de masa molecular adecuados para la calibración en el rango de 1350-670 000 Da.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
Diluir 10 µL de esta solución con agua para cromatografía para obtener una concentración de 0.9 mg/mL.		
Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de UV a 214 nm. Columna con fase estacionaria de gel de sílice hidrofílico (5 µm), de 30 cm × 7.8 mm con tamaño de poro de 25 nm y de un grado adecuado para fraccionamiento de proteínas globulares en el rango relativo de masa molecular entre 10 000 y 500 000 Da. Velocidad de flujo: 1.0 mL/min. Temperatura del automuestreador ajustar a 10 ° C. Volumen de inyección de 10 µL.		
Fase móvil. Disolver 0.78 g de fosfato monobásico de sodio anhidro, 1.92 g fosfato dibásico de sodio anhidro y 8.77 g de cloruro de sodio, en 900 mL de agua para cromatografía y diluir a 1000 mL con agua para cromatografía. Filtrar y desgasificar.		
Tiempo de retención relativa con referencia al monómero de Infiximab (tiempo de retención = aproximadamente 8 min): especies de alto peso molecular = aproximadamente 0.88; especies de bajo peso molecular = aproximadamente 1.28. Calcular las áreas de los picos individuales expresadas como porcentaje relativo para la suma de todas las áreas de los picos que eluyen entre 5 min y 11 min. El porcentaje relativo de las áreas de los picos individuales se calculan con el promedio de tres inyecciones.		
Nota. Las especies de proteínas que eluyen entre 5 min y los picos de monómero se clasifican como especies de alto peso molecular, mientras que los que eluyen		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>después del pico del monómero y antes de los 11 min se clasifican como especies de bajo peso molecular.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia (a) es cualitativamente similar al cromatograma de la SRef de Infliximab. La resolución es no menos de 1.2 entre los picos debido a gammaglobulina y ovoalbúmina en el cromatograma obtenido con la solución de referencia (b). Resultado. El tiempo de retención del pico principal en el cromatograma obtenido con la solución de la muestra corresponde al del pico principal en el cromatograma obtenido con solución de referencia (a).</p>		
<p>VALORACIÓN DE PROTEÍNA. MGA 0361 <i>Espectrofotometría visible y ultravioleta.</i> Solución de la muestra. Diluir la muestra en un amortiguador adecuado para obtener una concentración de aproximadamente 1 mg/mL. Preparar y analizar cada preparación por duplicado. Procedimiento. Registrar el espectro UV entre 280 nm y 350 nm. Medir el valor en la absorbancia máxima de 280 nm, después de la corrección por cualquier dispersión de luz medida hasta 350 nm. Calcular el contenido de proteína, tomando la absorbancia específica como 14.5.</p>		
<p>POTENCIA. La potencia de Infliximab está determinada por comparación de diluciones de la preparación de la muestra con la solución de referencia SRef de Infliximab, utilizando un bioensayo basado en la acción inhibitoria de Infliximab sobre la actividad biológica de TNF-α.</p>		
<p>Llevar a cabo un ensayo de proliferación celular basado en la capacidad de Infliximab para bloquear la inhibición</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>de TNF-α inducida por proliferación celular de fibrosarcoma murina WEHI-164. Las células WEHI-164 (ATCC No. CRL-1751) se incuban con diferentes diluciones de las preparaciones de la muestra y de referencia de Infliximab en presencia de TNF-α. El crecimiento celular se evalúa mediante un método de tinción utilizando la sal de tetrazolio WST-8 ([2-(2-metoxi-4-nitrofenil)-3-(4-nitrofenil)-5-(2,4-disulfofenil)-2H-tetrazolio, sal monosódica]), que es convertido por deshidrogenasas celulares en un producto de formazán colorido. La cantidad de formazán liberado se mide espectrofotométricamente y es directamente proporcional al número de células vivas.</p>		
<p>Medio para ensayo. RPMI 1640 que contenga 4.5 g/L de glucosa, 1.5 g / L de bicarbonato de sodio, 0.11 g/L de piruvato de sodio, 2.4 g/L de HEPES (10 mM), 300 g/L de L-glutamina, suero bovino fetal inactivado por calor (10 por ciento v/v) y una solución de penicilina/estreptomicina (1 % v/v) que contiene 10 000 U/mL de bencilpenicilina sódica y 10 000 μg/ mL de sulfato de estreptomicina en una solución de cloruro de sodio 8.5 g/L.</p>		
<p>Solución de la muestra. Diluir la preparación de la muestra en el medio para ensayo hasta obtener una concentración de aproximadamente 640 ng/mL. Analizar por duplicado.</p>		
<p>Solución de referencia. Disolver el contenido de 1 vial de Infliximab SRef con agua estéril para inyectables para obtener una concentración de 500 UI/mL. Diluir la solución con medio para ensayo hasta obtener una concentración de 6.4 UI/mL. Analizar por duplicado.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Soluciones de trabajo TNF-α. Disolver el contenido de un vial de TNF-α de acuerdo con las instrucciones del proveedor. Diluir con medio de ensayo para obtener 2 concentraciones de trabajo adecuadas en el rango de 400-50 000 pg/mL (solución A de trabajo y solución B de trabajo (dilución de A)). Como es probable que la actividad biológica del TNF-α varíe entre diferentes proveedores y también entre diferentes lotes del mismo proveedor, esto debe controlarse mediante el uso de un estándar (por ejemplo, Estándar Internacional de la OMS para TNF-α).</p>		
<p>Procedimiento Preparación de placa. Agregar 150 μL de medio para ensayo en los pozos designados para la "celda de control único" (columnas 1-6, fila H) y para los blancos (columnas 2-12, fila A) en una microplaca de 96 pozos. Añadir 187.5 μL de solución A de TNF-α de trabajo (columna 1, fila A) y realizar otras 5 diluciones (columnas 2-12, fila A) para generar la "curva de control de TNF-α". Adicionar 100 μL del medio para ensayo y 50 μL de solución B de TNF-α de trabajo, a los pozos designados para "control de células + TNF-α" (columnas 7-12, fila H). Agregar 100 μL de medio para ensayo a los pozos de muestra (columnas 2-12, filas B-G) y 200 μL de las soluciones de la muestra y de la SRef (columna 1, filas B-G). Además, preparar una serie de 2 diluciones (columnas 2-12, filas B-G). Posteriormente, adicionar 50 μL de la solución B de TNF-α de trabajo (columnas 1-12, filas B-G). Incubar a 37°C durante 1 h en incubadora usando 5 \pm 2 por ciento de CO₂.</p>		

"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Preparación celular. Preparar una suspensión de células WEHI-164 que contenga 1×10^6 células por mililitro, en medio para ensayo que contenga 2 µg/mL de actinomicina D.</p> <p>Células de recubrimiento. Agregar 50 µL de la suspensión celular a cada pozo manteniendo las células en una suspensión uniforme durante la adición. Incubar a 37°C durante 20-24 h en una incubadora, usando 5 ± 2 por ciento de CO₂.</p>		
<p>Adición de sal de tetrazolio. Eliminar 100 µL de medio de cada pozo, adicionar 10 µL de la mezcla reconstituida WST-8 a cada pozo y volver a incubar durante 3-4 h. Estimar la cantidad de formazán producido utilizando un lector de placas en 450 nm y 650 nm. Restar la lectura a 650 nm de la lectura a 450 nm. Calcular la potencia de la preparación de la muestra utilizando el modelo de curva logística de cuatro parámetros.</p>		
<p>Resultado. La potencia estimada no es menor al 80 por ciento y no mayor al 120 por ciento en relación con la solución de referencia. Los límites de confianza (P = 0.95) no son menores al 80 por ciento y no mayores al 125 por ciento de la potencia estimada.</p>		
<p>CONSERVACIÓN. En un recipiente hermético y protegido de la luz, entre 2 y 8 °C en cámara fría. Se controla mediante registros de temperatura, bajo condiciones aprobadas.</p>		
<p>MEDICAMENTO BIOTECNOLÓGICO</p>		
<p>DESCRIPCIÓN. Contiene 100 mg por vial (Liofilizado). El liofilizado es un polvo de color blanco.</p>		

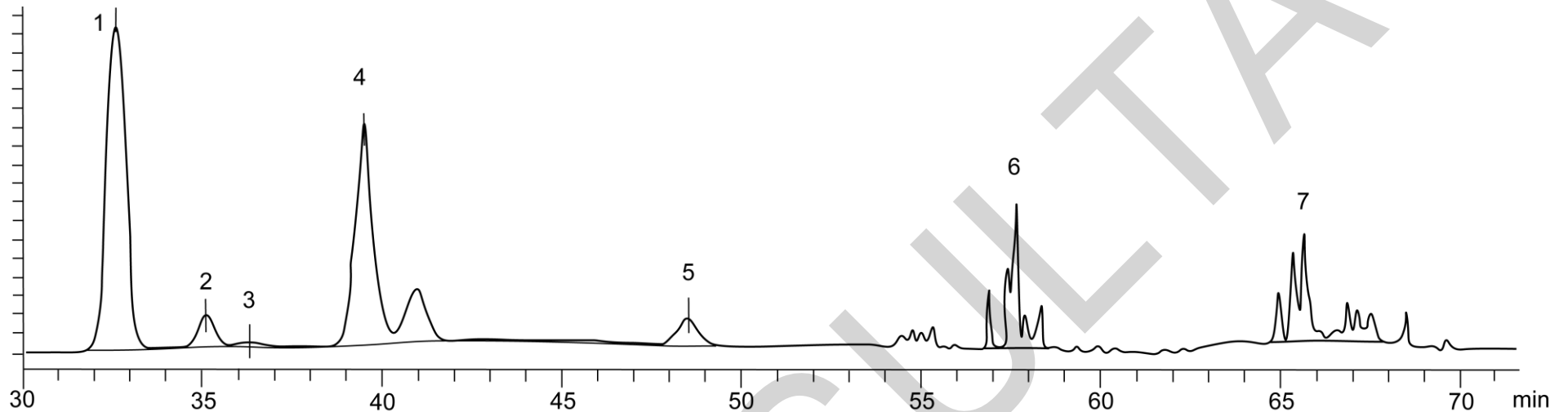
"2021, Año de la Independencia"

Dice	Debe decir	Justificación*
POTENCIA RELATIVA. 70 a 130%.		
PARTÍCULAS (EN SOLUCIÓN INYECTABLE). MGA 0651. Cumple los requisitos		
VARIACIÓN DE VOLUMEN, MGA 0981. Cumple los requisitos.		
ESTERILIDAD, MGA 0381. Cumple los requisitos.		
ENDOTOXINAS BACTERIANAS, MGA 0316. Menor o igual a 0.5 UE/mg.		
CONSERVACIÓN. Almacenar entre 2 y 8 °C en un envase hermético.		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.

CONSULTA

"2021, Año de la Independencia"



Pico	Carga	Glicoforma	Pico	Carga	Glicoforma
1	No	G0F fucosilado (ausencia de galactosa terminal)	4	No	G2F fucosilado (2 galactosas terminales)
2	No	Man5 afucosilada (adición de 2 manosas en lugar de N-acetilglucosamina terminal)	6	Si	SA1 sialilado (adición de 1 ácido siálico)
3	No	G0 afucosilado (ausencia de fucosa)	7	Si	SA2 sialilado (adición de 2 ácidos siálicos)
4	No	G1F fucosilado (1 galactosa terminal)			

*Cromatograma tomado de Farmacopea Europea 10.3