



"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*
Contiene no menos de 98.0 % y no más de 102.0 % de tacrolimus, calculado con referencia a la sustancia anhidra.		
<b>SUSTANCIA DE REFERENCIA.</b> SRef. de tacrolimus, manejar de acuerdo con las instrucciones de uso.		
<b>DESCRIPCIÓN.</b> Polvo cristalino o cristales de color blanco.		
<b>SOLUBILIDAD.</b> Muy soluble en metanol; fácilmente soluble en <i>N,N</i> -dimetilformamida y en alcohol; prácticamente insoluble en agua.		
<b>ENSAYOS DE IDENTIDAD</b>		
<b>A. MGA 0351.</b> El espectro IR de una dispersión de la muestra en bromuro de potasio, corresponde con el obtenido con una preparación similar de la SRef de tacrolimus.		
<b>B. MGA 0241, CLAR.</b> Comparar los tiempos de retención de los picos principal en los cromatogramas obtenidos en la <i>Valoración</i> . El tiempo de retención obtenido con la preparación de la muestra, corresponde al tiempo de retención obtenido con la preparación de referencia.		
<b>ROTACIÓN ÓPTICA.</b> MGA 0771, <i>Rotación Específica</i> . Entre -110° y -115°. Utilizar una solución de 10 mg/mL en <i>N,N</i> -dimetilformamida utilizando la muestra "tal como se encuentra"		
<b>SUSTANCIAS RELACIONADAS.</b> MGA 0241 CLAR. <b>Procedimiento 1.</b> Criterios de aceptación véase <i>tabla 2</i> .		
<b>NOTAS:</b>		

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*
1. Utilizar el procedimiento 1 cuando el perfil de sustancias de relacionadas incluya tacrolimus metilacrilaldehído y tacrolimus dieno.		
2. Se recomienda acondicionar las columnas nuevas con aproximadamente 500 mL de alcohol antes de su uso, para cumplir con el criterio de resolución.		
<b>Fase móvil:</b> Hexano, cloruro de <i>n</i> -butilo y acetonitrilo (7:2:1). Adicionar el cloruro de <i>n</i> -butilo al hexano y mezclar bien antes de adicionar el acetonitrilo. Posteriormente agregar el acetonitrilo y mezclar la fase móvil durante 2 horas para obtener una solución transparente. Cualquier desviación en la proporción de los componentes de la fase móvil y en el orden de mezclado dará como resultado una solución de 2 fases.		
<b>Preparación para la aptitud del sistema.</b> Preparar una solución que contenga 0.1 mg/mL de cada una de la SRef de tacrolimus y de SRef de compuesto relacionado A de tacrolimus en fase móvil.		
<b>Preparación de la muestra.</b> Preparar una solución que contenga 2.0 mg/mL de la muestra en fase móvil.		
<b>Sistema Cromatográfico:</b> CLAR con detector UV a 225 nm; 2 columnas L20 (5 µm) de 4.6 mm × 25 cm; temperatura de la columna de 28 ± 2 °C; Velocidad de flujo de 1.5 mL /min. (ajustar la velocidad de flujo para que el tiempo de retención de tacrolimus sea aproximadamente 15 minutos).		

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*			
<p><b>Aptitud del sistema.</b> Inyectar 20 µL de la preparación para la aptitud del sistema. registrar los picos como se indica en el <i>Procedimiento</i>. La resolución entre compuesto relacionado A de tacrolimus y tacrolimus no es menor de 1.1. El factor de coleo no es mayor de 1.5 y el coeficiente de variación para la réplica de inyecciones no es mayor de 2.0 %.</p>					
<p><b>Procedimiento.</b> Inyectar por separado 20 µL de la preparación de la muestra, registrar los cromatogramas y medir las respuestas de los picos. Calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de la muestra tomada por medio de la siguiente fórmula:</p>					
$100 \times (R_{imp}/F_{imp}) \times \{1/[R_T + \sum(R_{imp}/F_{imp})]\}$					
<p><math>R_{imp}</math> = Área del pico de cada impureza de la preparación de la muestra</p>					
<p><math>F_{imp}</math> = Factor de respuesta relativa para cada impureza correspondiente (véase tabla 2)</p>					
<p><math>R_T</math> = Área del pico de tacrolimus de la preparación de la muestra.</p>					
<p>Criterios de aceptación véase <i>tabla 2</i></p>					
<i>Tabla 2</i>					
Nombre	Tiempo de Retención Relativo	Factor de Respuesta Relativa	Criterios de Aceptación No más de (%)		
Tacrolimus metilacrilaldehido <sup>a</sup>	0.55	16.7	0.2		
Tacrolimus dieno <sup>b</sup>	0.79	2.2	0.2		
Impureza 1 de tacrolimus <sup>c</sup>	0.96	1.0	0.2		

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice				Debe decir	Justificación*
Compuesto Relacionado A de tacrolimus <sup>d</sup>	0.96	---	---		
Tacrolimus	1.0	1.0	---		
Epímero 19 de tacrolimus <sup>d,e</sup>	1.1	---	---		
Tacrolimus de anillo abierto <sup>d,f</sup>	1.3	---	---		
Cualquier impureza individual no especificada	---	1.0	0.2		
Impurezas totales <sup>g</sup>		---	0.3		
<sup>a</sup> (E)-3-[[[1R,3R,4R]-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-2-metilacrilaldehído.					
<sup>b</sup> (14E,18E)-17-Alil-1-hidroxi-12-[(E)-2-(4-hidroxi-3-metoxiciclohexil)-1-metilvinil]-23,25-dimetoxi-13,19,21,27-tetrametil-11,28-dioxa-4azatriciclo[22.3.1.0 4,9]octacosahidro-14,18-dieno-2,3,10,16-tetrona.					
<sup>c</sup> Impureza especificada no identificada.					
<sup>d</sup> Solo para fines informativos; no debe informarse.					
<sup>e</sup> (3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19S,26aS)-8-Alil-5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a,hexadecahidro-5,19-dihidroxi-3-[(E)-2-[1R,3R,4R]-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]-14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazaciotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona.					
<sup>f</sup> (3S,4R,5S,8R,12S,14S,15R,16S,18R,26aS,E)-8-Alil-5,6,11,12,13,14,15,16,17,18,24,25,26,26a-tetradecahidro-5,15,20,20-tetrahidroxi-3-[(E)-2-[1R,3R,4R]-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]-14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazaciotricosina-1,7,19,21(4H,8H,20H,23H)-tetrona.					
<sup>g</sup> El límite de impurezas totales no incluye tacrolimus de anillo abierto ni epímero 19 de tacrolimus.					

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*
<b>SUSTANCIAS RELACIONADAS. MGA 0241, CLAR. Procedimiento 2.</b> Criterios de aceptación véase tabla 3.		
<b>NOTAS:</b>		
1.Utilizar el procedimiento 2 cuando el perfil de sustancias de relacionadas incluya ascomicina, desmetil tacrolimus, epímero 8 de tacrolimus y análogo 8-propilo de tacrolimus.		
2.Proteger de la luz las soluciones que contienen Tacrolimus.		
<b>Solución A, solución B, solución C, solución D, fase móvil, diluyente, preparación para la aptitud del sistema, preparación de la muestra y sistema cromatográfico,</b> proceder según se indica en <i>Valoración</i> .		
<b>Preparación de referencia.</b> Preparar una solución que contenga 30 µg/mL de la SRef de tacrolimus en diluyente. Dejar la solución en reposo durante 3 horas a temperatura ambiente antes de utilizar.		
<b>Preparación de umbral de informe.</b> Preparar una solución que contenga 1.5 µg/mL de la SRef de tacrolimus en diluyente.		
<b>Preparación para identidad de picos 1.</b> Preparar una solución que contenga 10 µg/mL de la SRef de epímero 8 de tacrolimus en acetonitrilo.		
<b>Preparación para identidad de picos 2.</b> Preparar una solución que contenga 10 µg/mL de la SRef de análogo 8-propilo de tacrolimus en acetonitrilo.		
<b>Aptitud del sistema.</b> Inyectar por separado 20 µL de la preparación para la aptitud del sistema y 20 µL de la preparación de referencia, desarrollar		

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>el cromatograma, registrar las respuestas como se indica en el <i>procedimiento</i>. La resolución R no menos de 3.0 entre tacrolimus y ascomicina en la preparación para la aptitud del sistema y el coeficiente de variación no es mayor de 10.0% para la suma de las respuestas de tacrolimus y epímero 19 de tacrolimus en la respuesta de la preparación de referencia.</p>		
<p>Los tiempos de retención relativos se indican en la tabla 3, utilizarlos para identificar los compuestos relacionados observados.</p>		
<p><b>Procedimiento.</b> inyectar por separado 20 µL de cada una de las siguientes soluciones: preparación de referencia, de la preparación de la muestra, preparación del umbral de informe, <b>preparación para identificación de los picos 1 y preparación para identificación de los picos 2</b> calcular el porcentaje de cada impureza en la porción de muestra tomada, a través de la siguiente fórmula:</p>		
$100 (R_{imp}/R_s) \times (C_s/C_{imp})$		
<p>Donde:</p>		
<p><math>R_{imp}</math> = Respuesta de cada impureza observada en la preparación de la muestra.</p>		
<p><math>R_s</math> = Suma de las respuestas de los picos del epímero 19 de tacrolimus y tacrolimus en la preparación de referencia.</p>		
<p><math>C_{imp}</math> = Concentración de tacrolimus en la preparación muestra (mg/mL)</p>		
<p><math>C_s</math> = Concentración de SRef de tacrolimus en la preparación de la referencia (mg/mL).</p>		

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice			Debe decir	Justificación*
Identificar el epímero 8 de tacrolimus y el análogo 8-propilo de tacrolimus usando la preparación para identificación de los picos 1 y la preparación para identificación de los picos 2.				
Informar los picos de impurezas con respuestas no menores que las de la preparación de umbral de informe (0.05%).				
No tomar en cuenta los picos con tiempos de retención menores de 3 min.				
Tabla 3				
Nombre	Tiempo de Retención Relativo	Criterios de Aceptación No más de (%)		
Tacrolimus de anillo abierto <sup>a,b</sup>	0.52	----		
Epímero 19 de ascomicina (si estuviera presente) <sup>c,d</sup>	0.54	0.1		
Epímero 19 de Tacrolimus <sup>b,e</sup>	0.63	----		
Ascomicina <sup>f</sup>	0.87	0.50		
Desmetil tacrolimus (si estuviera presente) <sup>d,g</sup>	0.94	0.1		
Tacrolimus	1.00	----		
Epímero 8 de tacrolimus <sup>h</sup>	1.28	0.15		
Análogo 8-propilo de tacrolimus <sup>i</sup>	1.33	0.15		
Cualquier impureza individual no especificada	----	0.1		
Impurezas totales <sup>j</sup>	----	1.0		
<sup>a</sup> (3S,4R,5S,8R,12S,14S,15R,16S,18R,26aS,E)-8-Alil5,6,11,12,13,14,15,16,17,18,24,25,26,26a-tetradecahidro-5,15,20,20tetrahidroxi-3-[(E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-				



"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*
metoxiciclohexil]-1-metilvinil}14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazacilotricosina-1,7,19,21(4H,8H,20H,23H)-tetrona.		
<sup>b</sup> El tacrolimus de anillo abierto y el epímero 19 de tacrolimus son isómeros de tacrolimus, que están presentes en equilibrio con el ingrediente activo. No deben informarse como productos de degradación.		
<sup>c</sup> (3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19S,26aS)-8-Etil5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahidro-5,19dihidroxi-3-[(E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazacilotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona.		
<sup>d</sup> Si es posible, se deriva del proceso de fabricación.		
<sup>e</sup> (3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19S,26aS)-8-Alil5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahidro-5,19dihidroxi-3-[(E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazacilotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona.		
<sup>f</sup> (3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19R,26aS)-8-Etil5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahidro-5,19dihidroxi-3-[(E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazacilotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona.		
<sup>g</sup> (3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19R,26aS)-8-Alil5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahidro-5,19dihidroxi-3-[(E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]14,16-dimetoxi-4,12,18-trimetil-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazacilotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona.		
<sup>h</sup> (3S,4R,5S,8S,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19R,26aS)-8-Alil5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-hexadecahidro-5,19dihidroxi-3-[(E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil]14,16-dimetoxi-4,10,12,18-		



"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*															
tetrametil-15,19-epoxi-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazaciclotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona. <sup>i</sup> (3S,4R,5S,8R,9E,12S,14S,15R,16S,18R,19R,26aS) 5,6,8,11,12,13,14,15,16,17,18,19,24,25,26,26a-Hexadecahidro-5,19dihidroxi-3-((E)-2-[(1R,3R,4R)-4-hidroxi-3-metoxiciclohexil]-1-metilvinil}14,16-dimetoxi-4,10,12,18-tetrametil-15,19-epoxi-8-propil-3H-pirido[2,1-c][1,4]oxaazaciclotricosina-1,7,20,21(4H,23H)-tetrona. <sup>j</sup> El límite de impurezas totales no incluye tacrolimus de anillo abierto ni epímero 19 de tacrolimus.																	
<b>AGUA. MGA 0041, Titulación directa.</b> No más de 4.0 %.																	
<b>RESIDUO DE IGNICION. MGA 0751.</b> No más de 0.1%.																	
<b>VALORACIÓN. MGA 0241, CLAR.</b>																	
<b>NOTA:</b> Proteger de la luz las soluciones que contengan Tacrolimus.																	
<b>Solución A:</b> ácido fosfórico 6 mM.																	
<b>Solución B:</b> acetonitrilo y ter-butil metil éter en proporción (81:19).																	
<b>Solución C:</b> solución A: solución B en proporción (4:1).																	
<b>Solución D:</b> solución A: solución B en proporción (1:4).																	
<b>Fase móvil:</b> Véase la <i>tabla 1</i> .																	
<i>Tabla 1</i>																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (Min)</th> <th>Solución C (%)</th> <th>Solución D (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>72</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>72</td> <td>28</td> </tr> <tr> <td>53</td> <td>15</td> <td>85</td> </tr> <tr> <td>54</td> <td>72</td> <td>28</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (Min)	Solución C (%)	Solución D (%)	0	72	25	30	72	28	53	15	85	54	72	28		
Tiempo (Min)	Solución C (%)	Solución D (%)															
0	72	25															
30	72	28															
53	15	85															
54	72	28															

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice				Debe decir	Justificación*
60	72	28			
<b>Diluyente:</b> acetonitrilo: agua en proporción (7:3)					
<b>Preparación para la aptitud del sistema.</b> Preparar una solución de SRef. de aptitud de sistema de tacrolimus que contenga una concentración de 3 mg/mL en diluyente. Dejar en reposo durante 3 horas a temperatura ambiente antes de utilizar.					
<b>Preparación de referencia.</b> Preparar una solución de SRef. de tacrolimus que contenga una concentración 3 mg/mL en diluyente. Dejar en reposo durante 3 horas a temperatura ambiente antes de utilizar.					
<b>Preparación de la muestra.</b> Preparar una solución que contenga una concentración 3 mg/mL de muestra en diluyente. Dejar en reposo durante 3 horas a temperatura ambiente antes de utilizar.					
<b>Sistema Cromatográfico:</b> CLAR con detector UV a 220 nm; columna L1 (3 µm) de 4.6 mm × 15 cm; temperatura de la columna de 60 °C y temperatura del automuestreador de 4 °C; Velocidad de flujo de 1.5 mL/min.					
<b>Aptitud del sistema.</b> Inyectar por separado 20 µL de la preparación para la aptitud del sistema y 20 µL de la preparación de referencia, desarrollar el cromatograma, registrar las respuestas como se indica en el <i>procedimiento</i> . La resolución R entre la ascomicina y el Tacrolimus no es menor de 3.0 la preparación para la aptitud del sistema y el coeficiente de variación no es mayor de 1.0% para la suma de las respuestas de Tacrolimus,					

"2023, Año de Francisco Villa, el revolucionario del pueblo"

Dice	Debe decir	Justificación*
tacrolimus de anillo abierto y epímero 19 de Tacrolimus en la preparación de referencia. Los tiempos de retención relativos se indican en la tabla 3.		
<b>Procedimiento.</b> inyectar por separado 20 µL de la preparación de referencia y de la preparación de la muestra. Calcular el porcentaje de tacrolimus en la porción de muestra tomada, a través de la siguiente fórmula:		
$100 (A_m/A_{ref})(C_{ref}/C_m)$		
Donde:		
$A_m$ = Suma de las áreas bajo los picos de tacrolimus de anillo abierto, epímero 19 de tacrolimus y tacrolimus en la preparación de la muestra		
$A_{ref}$ = Suma de las áreas bajo los picos de tacrolimus de anillo abierto, epímero 19 de tacrolimus y tacrolimus en la preparación de la referencia.		
$C_{ref}$ = Concentración en mg/mL de tacrolimus en la preparación de referencia.		
$C_m$ = Concentración en mg/mL de tacrolimus en la preparación de la muestra.		
<b>CONSERVACIÓN.</b> Conservar en envases impermeables y almacenar a temperatura ambiente controlada.		

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