

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

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 noviembre y hasta el 31 de diciembre de 2023, 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: _____

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>ETANERCEPT</p> <p>Esta monografía aplica tanto para el biofármaco como para el medicamento biotecnológico. Etanercept es una proteína dimérica de fusión, que consiste en la porción extracelular del receptor del factor de necrosis tumoral (TNFR) humano 75 kDa (p75) ligada a la porción Fc de la un IgG1 humana. Consiste en una dos monómeros estructura con 934 de 467 aminoácidos con 29 puentes disulfuro y tiene un peso molecular aparente de aproximadamente 150 kDa, y su estructura está compuesta con 29 puentes disulfuro. Es una proteína altamente glicosilada, con 6 sitios de N-glicosilación y hasta 14 sitios de O-glicosilación. Etanercept se produce mediante tecnología de ADN recombinante en sistemas de expresión en células de mamífero.</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*												
<p>LPAQVAFPTY APEPGSTCRL REYYDQTAQM CCSKCSPGQH AKVFCTKTS TVCDSCEDST YTQLWNWVPE CLSCGSRCSS DQVETQACTR EQNRICTCRP GWYCALSKQE GCRLCAPLRK CRPGFGVARP GTETSDVWCK PCAPGTFST TSSTDIRPH QICNVAIPG NASMDAVCTS TSPTRSMAPG AVHLPQPVST RSQHTOPTPE PSTAPSTSFL LPMGSPPAE GSTGDEPKSC DKHTICPPCP APELLGGPSV FLFPPPKPDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNATK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK</p> <p><i>Figura 1. Secuencia de aminoácidos de Etanercept C₂₂₂₄H₃₄₇₂N₆₁₈O₇₀₁S₃₆ 150 000 Da [185243-69-0]</i></p>														
BIOFÁRMACO														
DESCRIPCIÓN. Líquido transparente, prácticamente incoloro con tonalidades amarillas o cafés.														
ENSAYOS DE IDENTIDAD														
A. Actividad biológica. Cumple los requisitos.														
B. Mapeo peptídico. MGA 0241.CLAR.														
El perfil cromatográfico de la solución de prueba corresponde al de la solución de referencia.														
Fase Móvil A: mezclar 3 mL g de ATF y 2 000 mL de agua.														
Fase Móvil B: mezclar 2 mL de ATF, 330 mL de agua y 1 320 mL de acetonitrilo.														
<i>Tabla 1. Gradiente para mapeo de péptidos.</i>														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (min)</th> <th>Solución A (v/v)</th> <th>Solución B (v/v)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0-5</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>5-125</td> <td>98 → 50</td> <td>2 → 50</td> </tr> <tr> <td>125-140</td> <td>50 → 5</td> <td>50 → 95</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Solución A (v/v)	Solución B (v/v)	0-5	98	2	5-125	98 → 50	2 → 50	125-140	50 → 5	50 → 95		
Tiempo (min)	Solución A (v/v)	Solución B (v/v)												
0-5	98	2												
5-125	98 → 50	2 → 50												
125-140	50 → 5	50 → 95												
Solución amortiguadora. Guanidina-Tris, pH 8.3.														

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación a ser examinada con agua inyectable para obtener una concentración de 15 mg/mL. A 200 µL de la solución de prueba adicionar 500 µL de solución amortiguadora de guanidina-Tris, pH 8.3 y 7 µL de DTT 154 g/L. Mezclar e incubar a 65 °C por 15 min. Enfríar en baño con hielo por 5 - 10 min, luego, adicionar 15.4 µL de una solución fresca recién preparada de iodoacetamida a una concentración de 185 g/L. Mezclar y dejar reposar por 10 min protegido de la luz. Adicionar 1.4 µL de DTT 154 g/L. Mezclar y dejar reposar por 10 min protegido de la luz. A 97 µL de la solución de prueba reducida, adicionar 903 µL de Tris-HCl 0.1 M, pH 7.5. Adicionar 9.6 µL de N-glicosidasa F (500 000 U/mL) e incubar a 37 °C por 1 h. Adicionar 40 µL de tripsina 1 mg/mL e incubar a 37 °C por 5 h. Posteriormente calentar a 95 °C por 5 min y enfríar en hielo por 5 min. Ajustar a pH 2 con ~30 µL de TFA 150 g/L.</p>		
<p>Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial de Etanercept SRef en agua inyectable para obtener una concentración de 15 mg/mL. A 200 µL de la solución de referencia adicionar 500 µL de solución amortiguadora de guanidina-Tris, pH 8.3 y 7 µL de DTT 154 g/L. Mezclar e incubar a 65 °C por 15 min. Enfríar en baño con hielo por 5-10 min, luego, adicionar 15.4 µL de una solución fresca recién preparada de iodoacetamida a una concentración de 185 g/L. Mezclar y dejar reposar por 10 min protegido de la luz. Adicionar 1.4 µL de</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>DTT 154 g/L. Mezclar y dejar reposar por 10 min protegido de la luz. A 97 µL de solución de referencia reducida, adicionar 903 µL de Tris-HCl 0.1 M, pH 7.5. Adicionar 9.6 µL de <i>N</i>-glicosidasa F (500 000 U/mL) e incubar a 37 °C por 1 h. Adicionar 40 µL de tripsina 1 mg/mL e incubar a 37 °C por 5 h. Posteriormente calentar a 95 °C por 5 min y enfriar en hielo por 5 min. Ajustar a pH 2 con ~30 µL de TFA 150 g/L.</p>		
<p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector UV a 220 nm. Columna (L1) sílica gel modificada con octadecilsilano protegido con tamaño de poro de 10 nm de 3.2 mm × 25 cm. Temperatura de 30 - 35 °C. velocidad de flujo, 0.5 mL/min, volumen de inyección de 200 µL. Temperatura del automuestreador de 2 - 8 °C.</p>		
<p>Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo la solución de referencia y solución de la muestra. Registrar y comparar los cromatogramas.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia es cualitativamente similar al cromatograma proporcionado con Etanercept SRef.</p>		
<p>Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo la solución de referencia y solución de la muestra. Registrar y comparar los cromatogramas.</p>		
<p>C. Enfoque isoelectrico. MGA 0312, Electroforesis capilar. El perfil del isoelectroferograma obtenido con la preparación de la muestra, corresponde en posición con el perfil</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
del isoelectroferograma de la preparación de la referencia.		
ÁCIDO SIÁLICO. Utilizar el método <i>MGA 0241</i> , <i>CLAR</i> o un método previamente desarrollado y validado por el fabricante.		
<ul style="list-style-type: none"> Liberar el ácido siálico por hidrólisis ácida en la preparación a ser examinada. 		
<ul style="list-style-type: none"> Etiquetar el ácido siálico liberado con un agente fluorescente, por ejemplo: 1,2-diamino-4,5-metilenodioxi-benceno, utilizando un procedimiento adecuado. 		
<ul style="list-style-type: none"> Analizar el ácido siálico etiquetado por cromatografía de líquidos utilizando detección por fluorescencia. 		
El siguiente procedimiento es dado como ejemplo:		
Fase móvil. Mezclar 8 mL de acetonitrilo, 500 mL de metanol y 1 820 mL de agua.		
Solución A. Disolver 8.71 g de arginina en 40 mL de agua. Adicionar 0.5 mL de polisorbato 80 a 10 g/L, mezclar y ajustar a pH 7.3 con ácido fosfórico. Diluir a 250 mL con agua.		
Solución de prueba. Diluir la preparación de la muestra con agua para obtener una concentración de 5 mg/mL. Posteriormente diluye con solución A para obtener una concentración de 1 mg/mL. A 50 µL de esta solución adiciona 50 µL de ácido acético glacial 480 g/L e incuba a 90 °C por 65 min. Enfría, centrifuga y evapora hasta secar. Etiqueta		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>el ácido siálico liberado utilizando un procedimiento adecuado; por ejemplo, adiciona 15 µL de una solución que contenga 1,2-diamino-4,5-metilendioxi-benceno dihidrocloruro 1.6 g/L, 2-mercaptoetanol 78.1 g/L y ditionito de sodio 3.1 g/L e incuba a 50 °C por 3 h. Diluye a 1 mL con agua.</p>		
<p>Solución de referencia (a). Disolver el contenido de un vial de Etanercept SRef en agua inyectable para obtener una concentración de 5 mg/mL. Llevar a cabo la liberación y etiquetado de ácido siálico de la misma manera que para la solución de prueba. Diluir a 1 mL con agua.</p>		
<p>Solución de referencia (b). Disolver ácido N-acetilneuramínico en agua inyectable para obtener una concentración de 1 mg/mL. Mezclar 40 µL de la solución, 40 µL de BSA 1 mg/mL y 120 µL de solución A. Usar 50 µL de esta solución para llevar a cabo la liberación y etiquetado de ácido siálico de la misma manera que para la solución de prueba. Diluir con agua para obtener una concentración de 0.01 ug/µL.</p>		
<p>Solución estándar. Diluir la solución de referencia (b) con agua inyectable para obtener una concentración de 2 ng/µL. Posteriormente, diluir esta solución para generar preparar una curva estándar con concentraciones en el intervalo de 0.10–0.40 1.25 – 7.50 ng/µL (6 concentraciones, típicamente 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30,</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>0.40 1.25, 2.50, 3.75, 5.00, 6.25, 7.50 ng/μL. Analizar el ácido siálico etiquetado por cromatografía de líquidos.</p>		
<p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de fluorescencia a 374 nm de excitación y 448 nm de emisión. Columna (L1) sílica gel modificada con octadecilsilano protegido (5 μm) con tamaño de poro de 8 nm de 4.6 mm × 25 cm. Temperatura de 35 °C. velocidad de flujo, 1 mL/min, volumen de inyección de 20 μL. Temperatura del automuestreador de 2 - 8 °C.</p>		
<p>Tiempo de retención. Acido siálico = ~10.5 min. Calcular el contenido de ácido siálico en la preparación a ser examinada usando la curva estándar y el contenido de ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico) en la solución estándar. Reportar la relación molar (número de moles de ácido siálico por mol de Etanercept), usando la masa molar del monómero.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El pico de ácido siálico en el cromatograma obtenido con la solución de referencia (a) es visible y es similar al del proporcionado con Etanercept SRef.</p>		
<p>Repetibilidad. CV máximo de 15 % para el contenido de ácido siálico expresado como relación molar, determinado en 3 inyecciones consecutivas de la solución de referencia (a) R² de la curva estándar es no menos de 0.9995.</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde con el de la solución de referencia (a).		
Límite. 8 a 19 moles de ácido siálico por mol de Etanercept.		
N-GLÚCIDOS. MGA 0241, CLAR.		
Liberar los glúcidos usando uno de los agentes descritos en la <i>Tabla 2</i> , por ejemplo: PNGasa F.		

CONSULTA



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

Dice	Debe decir	Justificación*																
Tabla 2. Ejemplos de agentes enzimáticos de escisión.																		
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%; text-align: center;">AGENTES</th> <th style="width: 70%; text-align: center;">ESPECIFICIDAD</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="2" style="text-align: center;">Liberación de N-glicosilación</td> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>Péptido N⁴-(N-acetil-β-glucosaminil) asparaginaamidasa</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <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 style="vertical-align: top;"> <p>Péptido N-glicosidasa F (PNGasa F)</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>Liberación de la cadena N-glicanopero 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 style="vertical-align: top;"> <p>Péptido N-glicosidasa A (PNGasa A)</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>Péptido N-glicosidasa A (PNGasa A) 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 style="vertical-align: top;"> <p>Manosil-glicoproteína endo β-N-acetilglucosaminidasa.</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>Endohidrólisis de la unidad N,N'-diacetilhitobiosil en glucopéptidos/glicoproteínas de alta manosa que contienen la estructura [Man (GlcNac)₂]Asn.</p> </td> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>Endo β-N-acetylglucosaminidasa F (endo F)</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>Liberación de oligosacáridos de alta manosa, híbridos y complejos.</p> </td> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> <p>Endo β-N-acetylglucosaminidasa H (endo H)</p> </td> <td style="vertical-align: top;"> <p>Liberación de oligosacáridos híbridos de alta manosa.</p> </td> </tr> </tbody> </table>			AGENTES	ESPECIFICIDAD	Liberación de N-glicosilación		<p>Péptido N⁴-(N-acetil-β-glucosaminil) asparaginaamidasa</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>Péptido N-glicosidasa F (PNGasa F)</p>	<p>Liberación de la cadena N-glicanopero sin la liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p>	<p>Péptido N-glicosidasa A (PNGasa A)</p>	<p>Péptido N-glicosidasa A (PNGasa A) Liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p>	<p>Manosil-glicoproteína endo β-N-acetilglucosaminidasa.</p>	<p>Endohidrólisis de la unidad N,N'-diacetilhitobiosil en glucopéptidos/glicoproteínas de alta manosa que contienen la estructura [Man (GlcNac)₂]Asn.</p>	<p>Endo β-N-acetylglucosaminidasa F (endo F)</p>	<p>Liberación de oligosacáridos de alta manosa, híbridos y complejos.</p>	<p>Endo β-N-acetylglucosaminidasa H (endo H)</p>	<p>Liberación de oligosacáridos híbridos de alta manosa.</p>
AGENTES	ESPECIFICIDAD																	
Liberación de N-glicosilación																		
<p>Péptido N⁴-(N-acetil-β-glucosaminil) asparaginaamidasa</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>Péptido N-glicosidasa F (PNGasa F)</p>	<p>Liberación de la cadena N-glicanopero sin la liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p>																	
<p>Péptido N-glicosidasa A (PNGasa A)</p>	<p>Péptido N-glicosidasa A (PNGasa A) Liberación de la cadena N-glicano que contiene el enlace α1-3 unido a la estructura base de la fucosa.</p>																	
<p>Manosil-glicoproteína endo β-N-acetilglucosaminidasa.</p>	<p>Endohidrólisis de la unidad N,N'-diacetilhitobiosil en glucopéptidos/glicoproteínas de alta manosa que contienen la estructura [Man (GlcNac)₂]Asn.</p>																	
<p>Endo β-N-acetylglucosaminidasa F (endo F)</p>	<p>Liberación de oligosacáridos de alta manosa, híbridos y complejos.</p>																	
<p>Endo β-N-acetylglucosaminidasa H (endo H)</p>	<p>Liberación de oligosacáridos híbridos de alta manosa.</p>																	

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

Dice	Debe decir	Justificación*																		
Tabla 3. Ejemplos de agentes fluorescentes y técnicas apropiadas de análisis.																				
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">NOMBRE</th> <th style="text-align: left;">ACRÓNIMO</th> <th style="text-align: left;">TÉCNICAS ANALÍTICAS</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Ácido 2-aminobenzoico</td> <td>2-AA</td> <td>CLAR (MGA 0241) y Espectrometría de masas (MGA 0365)</td> </tr> <tr> <td>2-aminobenzamida</td> <td>2-AB</td> <td>CLAR (MGA 0241) y Espectrometría de masas (MGA 0365)</td> </tr> <tr> <td>2-aminopiridina</td> <td>2-AP</td> <td>CLAR (MGA 0241) y Espectrometría de masas (MGA 0365)</td> </tr> <tr> <td>2-Amino-9(10H)-acridinona</td> <td>AMAC</td> <td>Electroforesis en gel (MGA 0311)</td> </tr> <tr> <td>Ácido trisódico 8-aminopireno-1,3,6-trisulfónico</td> <td>APTS</td> <td>Electroforesis capilar (MGA 0312)</td> </tr> </tbody> </table>			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)	Ácido trisódico 8-aminopireno-1,3,6-trisulfónico	APTS	Electroforesis capilar (MGA 0312)
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)																		
Ácido trisódico 8-aminopireno-1,3,6-trisulfónico	APTS	Electroforesis capilar (MGA 0312)																		
<p>Etiquetar los glúcidos liberados con un agente fluorescente descrito en la <i>Tabla 3</i>, por ejemplo: 2-aminobenzamida.</p> <p>Analizar los glúcidos etiquetados por cromatografía de líquidos usando detección por fluorescencia.</p>																				
<p>El siguiente procedimiento es dado como ejemplo:</p>																				
<p>Fase móvil A. Mezclar 9.8 mL de ácido fórmico anhidro y 500 mL de agua, ajustar a pH 4.0 y diluir a 1 000 mL con agua.</p>																				
<p>Fase móvil B. Acetonitrilo.</p>																				

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

Dice			Debe decir	Justificación*															
<p><i>Tabla 4. Gradiente de separación de glúcidos.</i></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (min)</th> <th>Solución A (v/v)</th> <th>Solución B (v/v)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 - 2</td> <td>20 → 30</td> <td>80 → 70</td> </tr> <tr> <td>2 - 67.0</td> <td>30 → 52</td> <td>70 → 48</td> </tr> <tr> <td>67.0 - 67.1</td> <td>52 → 80</td> <td>48 → 20</td> </tr> <tr> <td>67.1 - 73.0</td> <td>80</td> <td>20</td> </tr> </tbody> </table>			Tiempo (min)	Solución A (v/v)	Solución B (v/v)	0 - 2	20 → 30	80 → 70	2 - 67.0	30 → 52	70 → 48	67.0 - 67.1	52 → 80	48 → 20	67.1 - 73.0	80	20		
Tiempo (min)	Solución A (v/v)	Solución B (v/v)																	
0 - 2	20 → 30	80 → 70																	
2 - 67.0	30 → 52	70 → 48																	
67.0 - 67.1	52 → 80	48 → 20																	
67.1 - 73.0	80	20																	
<p>Solución de prueba. A 4 µL de la preparación a ser examinada (25 mg/mL) adicionar 21 µL de agua, 3 µL de solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.25 M, pH 7.5 y 2 µL de N-glicosidasa F (500 000 U/mL). Mezclar e incubar a 37 °C por 20 - 24 h. Etiqueta los glúcidos liberados con 2-aminobenzamida utilizando un protocolo adecuado. El procedimiento emplea una combinación de agentes optimizados y validados para el etiquetado eficiente de glúcidos y para la subsecuente extracción y recuperación de los glúcidos etiquetados de la reacción. Resuspender o diluir los glúcidos etiquetados en 100 µL de agua.</p>																			
<p>Solución de referencia (a). Disolver el contenido de un vial de Etanercept SRef en agua para obtener una concentración de 25 mg/mL. Llevar a cabo la liberación y etiquetado de glúcidos en la misma forma que la solución de prueba. Resuspender o diluir los glúcidos etiquetados en 100 µL de agua.</p>																			

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Solución de referencia (b). Utilizar una preparación de referencia de Etanercept secundario que muestre ser representativa de lotes utilizados para pruebas clínicas y lotes usados para demostrar consistencia en la producción. Diluir, si es necesario, con agua para obtener una concentración de 25 mg/mL. Llevar a cabo la liberación y etiquetado de glúcidos de la misma manera que para la solución de prueba. Resuspender o diluir los glúcidos etiquetados en 100 µL de agua.</p>		
<p>Blanco. Preparar al mismo tiempo y de la misma forma que para la solución de prueba utilizando agua en vez de la preparación a ser examinada. Analizar los glúcidos etiquetados por cromatografía de líquidos.</p>		
<p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de fluorescencia a 330 nm de excitación y 420 nm de emisión. Columna derivado amida de sílica gel, de 4.6 mm × 25 cm. Temperatura de 35 °C. velocidad de flujo, 0.4 mL/min, volumen de inyección de 10 µL. Temperatura del automuestreador de 2 - 8 °C.</p>		
<p>Identificación de picos. Identificar los 2 grupos de oligosacáridos correspondientes a N-glúcidos neutros (pico 1 a 5) y sializados (picos 6 a 9); registrar el tiempo de retención de cada pico en ambos grupos.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia (a) es similar cualitativamente al cromatograma proporcionado</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>con el Etanercept SRef y los picos 1 a 9 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 prueba corresponde al de la solución de referencia (b).</p>		
<p>Los tiempos de retención de los picos en el cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponden con los de la solución de referencia (b).</p>		
<p>No se observan picos adicionales en el cromatograma obtenido con la solución de prueba en comparación con el de la solución de referencia (b).</p>		
<p>Calcular las áreas relativas de los picos individuales correspondientes a N-glúcidos neutros y sializados con referencia a la suma de las áreas de todos los picos retenidos de glúcidos. Calcular el contenido porcentual de los grupos neutros y sializados, utilizando las siguientes fórmulas:</p>		
$\frac{A}{A+B} \times 100$		
$\frac{B}{A+B} \times 100$		
<p>Donde: A = suma de las áreas de picos de N-glúcidos neutros.</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
B = suma de las áreas de picos de N-glúcidos sialidados.		
Nota: los picos 2 y 3 son picos separados, pero se integran juntos.		
Límites.		
Porcentaje de N-glúcidos neutros: cumple las especificaciones del fabricante.		
Porcentaje de N-glúcidos sialidados: cumple las especificaciones del fabricante.		
IMPUREZAS CON MASAS MOLECULARES DIFERENTES DE LA DE ETANERCEPT. MGA 0311.		
<i>Electroforesis en geles de Poliacrilamida bajo condiciones reductoras y no reductoras.</i>		
Usar soluciones tampón amortiguadoras para cada condición. Correr en geles de 1.0 mm de grosor y con gel de separación de 8-16 % de acrilamida.		
Solución amortiguadora de muestra en condiciones no reductoras. Concentrado SDS-PAGE del buffer de muestra R .		
Solución amortiguadora de muestra en condiciones reductoras. SDS-PAGE concentrado en <i>buffer</i> de muestra para condiciones reductoras R .		
Solución de prueba. Diluir la preparación para ser examinada con agua R para obtener la concentración de 0.2 mg/mL. Mezclar 1 volumen de esta solución y un volumen de la solución amortiguadora de la muestra.		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
Solución de referencia (a). Disolver los contenidos del vial Etanercept SRef en agua R para obtener una concentración de 0.2 mg/mL. Mezclar 1 volumen de la solución y un volumen de la solución amortiguadora de muestra.		
Solución de referencia (b). 0.01 mg/mL de solución de albúmina bovina R.		
Solución de referencia (c). Mezclar 1 volumen de la solución de referencia (b) y 4 volúmenes de la solución amortiguadora R de la muestra concentrada de SDS-PAGE.		
Solución de referencia (d). Mezclar 1 volumen de solución de referencia (b) y 19 volúmenes de solución amortiguadora R de la muestra concentrada de SDS-PAGE.		
Solución de referencia (e). Solución de marcadores de masa molecular para calibrar los geles SDS-poliacrilamida en el intervalo de 5-200 kDa.		
Tratamiento de la muestra. Calentar a 90 °C -105 °C por 5 min y cargar inmediatamente el gel, esta muestra no es estable después de transcurridos 15 min.		
Aplicación. 10 mL µL.		
Detección. Por tinción con plata.		
Identificación de bandas. Condiciones no reductoras: debe estar presente la banda correspondiente a Etanercept con una masa molecular aparente de aproximadamente 150 kDa; proteínas en bandas con masa molecular aparente de aproximadamente 60 kDa, 100 kDa, 120 kDa,		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
225 kDa, 250 kDa pueden estar también presentes.		
Condiciones reductoras. Debe estar presente la banda correspondiente a Etarnecept con una masa molecular aparente de aproximadamente 76 kDa; bandas de proteínas con masa molecular aparente de aproximadamente 25 kDa, 35 kDa, 55 kDa, 200 kDa pueden estar presentes.		
Aptitud del sistema. Las bandas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a) son claramente visibles; La banda obtenida en el electroferograma obtenido con las soluciones de referencia (b), (c) y (d) es claramente visible; Todas las bandas esperadas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (e) son visibles y claramente separadas.		
Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de prueba es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (a).		
El electroferograma obtenido con la solución de prueba no muestra bandas adicionales que sean más intensas que aquellas bandas obtenidas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (d).		
IMPUREZAS DE PESO MOLECULAR MAYORES AL ETANERCEPT. MGA 0241, CLAR.		
Cromatografía de exclusión molecular, utilizar el procedimiento de normalización de áreas.		
Límite. La suma de los picos que eluyen antes del pico principal no debe ser más del 0.8.0 %.		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
Solución A. Disolver 8.8 g de cloruro de sodio y 15.6 g de fosfato de sodio monobásico en 900 mL de agua para cromatografía y aforar a 1 000 mL con el mismo solvente.		
Solución B. Disolver 8.75 g d cloruro de sodio y 14.2 g de fosfato de sodio dibásico anhidro en 900 mL de agua para cromatografía y aforar a 1 000 mL con el mismo solvente.		
Solución de prueba. Diluir la preparación a ser examinada con agua hasta obtener una concentración de 2.5 mg/mL.		
Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial de SRef Etanercept en agua hasta obtener una concentración de 2.5 mg/mL.		
Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de UV a 220 nm. Columna sílica gel hidrofílica para cromatografía (5 µm) con un tamaño de poro de 30 nm y un grado de separación de proteínas globulares de masa relativa entre 10 000 y 1 000 000. Dimensiones de 8 mm × 30 cm.		
Temperatura de 35 °C. Velocidad de flujo, 1.0 mL/min, volumen de inyección de 14 µL, al menos 3 inyecciones. Temperatura del automuestreador de 2 - 8 °C.		
Retención relativa con referencia al monómero de Etanercept (tiempo de retención = alrededor de 7.8 min).		
Agregados = 0.84; Especies de alto peso molecular = 0.89.		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
Cualquier hombro que aparezca en el descenso del pico principal del monómero de Etanercept será incluida su área.		
Fase móvil. Mezclar 220 mL de la solución A y 780 mL de la solución B, y ajustar el pH a 7.2 con solución A o solución B.		
Adecuabilidad del sistema, solución de referencia:		
<ul style="list-style-type: none"> El cromatograma obtenido es cualitativamente similar al del proporcionado con SRef Etanercept. 		
<ul style="list-style-type: none"> Resolución, no menos de 4.7 1.5 entre los picos de las especies de alto peso molecular y el monómero de Etanercept. 		
<ul style="list-style-type: none"> Número de platos teóricos. No menor a 3 000 calculados con respecto al pico del monómero de Etanercept. 		
Criterios de aceptación.		
La suma de los picos eluidos antes del pico principal no debe exceder el 8.0 %.		
PROTEÍNAS RELACIONADAS. MGA 0241, CLAR.		
Fase móvil A. Disolver 28.4 g de fosfato de sodio dibásico anhidro y 475.9 g de sulfato de amonio en agua y disolver en 1 950 mL con el mismo solvente; ajustar a pH 7.0 con ácido fosfórico y llevar a 2 000 mL con agua.		

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

Dice	Debe decir	Justificación*						
<p>Fase móvil B. Disolver 28.4 g de fosfato de sodio dibásico anhidro en agua y disolver en 1 950 mL con el mismo solvente; ajustar a pH 7.0 con ácido fosfórico y llevar a 2 000 mL con agua.</p>								
<p><i>Tabla 5. Condiciones cromatográficas.</i></p> <table border="1" data-bbox="155 526 709 630"> <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>0-50</td> <td>100→ 0</td> <td>0→ 100</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A % (v/v)	Fase móvil B % (v/v)	0-50	100→ 0	0→ 100		
Tiempo (min)	Fase móvil A % (v/v)	Fase móvil B % (v/v)						
0-50	100→ 0	0→ 100						
<p>Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial de SRef de Etanercept en agua para obtener una concentración de 2 mg/mL.</p>								
<p>Solución de la muestra. Diluir la muestra de Etanercept en agua hasta obtener una concentración de 2 mg/mL.</p>								
<p>Condiciones del equipo.</p>								
<p>Cromatógrafo de líquidos equipado con detector de fluorescencia a 278 nm de excitación y 350 nm de emisión. Columna Resina cromatográfica de interacción hidrofóbica (2.5 µm) de 4.6 mm × 3.5 cm. Temperatura de 35 °C. Velocidad de flujo, 1.0 mL/min, volumen de inyección de 5 µL, por triplicado. Temperatura del automuestreador de 10 °C.</p>								
<p>Aptitud del sistema. Retención relativa con el estándar SRef de Etanercept (tiempo de retención = alrededor de 28.5 min): Pico 1= 0.96; pico 3 = 1.12.</p>								
<p>El cromatograma obtenido es cualitativamente similar al cromatograma de SRef de Etanercept</p>								

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

Dice	Debe decir	Justificación*
emitido por el proveedor. Los picos 1 y 3 están claramente separados del pico de Etanercept.		
Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo la solución de referencia y solución de la muestra. Registrar y comparar los cromatogramas.		
Resultados. No se deberán observar picos adicionales en el cromatograma obtenido en la solución de la muestra en comparación con el cromatograma obtenido en la solución de referencia.		
Criterios de aceptación.		
Pico 1, máximo 5 %. Pico 3, máximo 28 %. Suma de todos los picos diferentes al pico principal, máximo 30 %.		
PROTEÍNAS DERIVADAS DE CÉLULA HOSPEDERA.		
No más de 100 ppm.		
ADN DERIVADO DE LA CÉLULA HOSPEDERA.		
No más de 10 ng por dosis.		
LÍMITES MICROBIANOS. MGA 0571. No más de 1 UFC de organismos mesófilos aerobios por mililitro.		
ENDOTOXINAS BACTERIANAS. MGA 0316. Cumple las especificaciones del fabricante.		
pH. MGA 0701. Cumple las especificaciones del fabricante.		
POTENCIA		
La potencia de Etanercept es determinada por la comparación de diluciones de la preparación de		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>prueba con las diluciones de Etanercept BRP SRef utilizando un ensayo biológico apropiado basado en la acción inhibitoria de Etanercept en la actividad biológica de TNFα y lecturas adecuadas para evaluar este efecto inhibitorio.</p>		
<p>El siguiente procedimiento es dado como ejemplo:</p>		
<p>Llevar a cabo un ensayo para determinar apoptosis por medio de la inducción de caspasa 3/7. La potencia se determina con base en la capacidad de Etanercept para inhibir la apoptosis inducida por TNFα en la línea celular U937 (ATCC No. CRL-1593.2) vía la activación de caspasas. Así, las células U937 son incubadas con varias diluciones de las preparaciones de prueba y de referencia de Etanercept en presencia de TNFα. Éstas son incubadas con el reactivo Caspase-Glo 3/7, lo cual resulta en el corte de un sustrato luminigénico, la subsecuente liberación de un sustrato de luciferasa y la generación de una señal luminiscente. La luminiscencia producida es proporcional a la cantidad de actividad de caspasa presente.</p>		
<p>Medio de ensayo. RPMI 1640 con L-alanil-L-glutamina, 6.0 g/L HEPES y suero fetal bovino (7.5 % v/v).</p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación a ser examinada con medio de ensayo para obtener una concentración de 72 ng/mL. Usar esta solución para preparar 11 diluciones adicionales (diluciones seriadas de 1:2 a 1:4 han mostrado ser adecuadas).</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Soluciones de referencia. Reconstituir el contenido de 1 ampula de Etanercept BRP con agua esterilizada para obtener una concentración de 10 000 UI/mL. Posteriormente, diluir con medio de ensayo para obtener una concentración de 144 UI/mL. Usar esta dilución para preparar 11 diluciones adicionales para generar la curva estándar (diluciones seriadas de 1:2 a 1:4 han mostrado ser adecuadas).</p>		
<p>Solución de trabajo de TNFα. Disolver el contenido de un vial de TNFα de acuerdo a las instrucciones del proveedor.</p>		
<p>Posteriormente, diluye con medio de ensayo para obtener una concentración de trabajo adecuada. Como es probable que la actividad biológica de TNFα varíe entre diferentes proveedores y también entre lotes del mismo proveedor, este debe ser controlado mediante el uso de un estándar apropiado (ejemplo: Estándar de la OMS TNFα).</p>		
<p>Método</p>		
<p>Preparación de la placa. Adicionar 600 μL de medio de ensayo en los pozos designados para células (columna 1, filas A - D). Adicionar 300 μL de medio de ensayo y 300 μL de solución de trabajo de TNFα en los pozos designados para los controles TNFα (columna 1, filas E - H). Adicionar 300 μL de las soluciones de prueba o de referencia y 300 μL de solución de trabajo de TNFα en los pozos de muestra (columnas 2 -12, filas A - H). Mezclar en un agitador por 5 min. Incubar a 36.0 - 38.0 $^{\circ}$C por</p>		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
30 - 60 min en una incubadora humidificada usando 5 ± 2 % CO ₂ .		
Nota: cuando se utilicen placas de 96 pozos, adaptar el volumen de muestra, la solución de prueba de TNFa y el medio de ensayo, según corresponda.		
Preparación de células. Una densidad celular entre 3.0×10^5 y 1.0×10^6 células/mL es adecuada, y la viabilidad celular en no menos del 95 %.		
Plaqueo de solución de prueba, solución de referencia, controles y células. Transferir 60 μ L de cada preparación a los pozos correspondientes. Mezclar la suspensión celular y adiciona 60 μ L a cada pozo. Mezclar el contenido de las placas en un agitador por 5 min. Incubar las placas a 36.0 - 38.0 °C por 2 - 2.5 h en una incubadora humidificada usando 5 ± 2 % CO ₂ .		
Nota: cuando se utilicen placas de 96 pozos, adaptar el volumen de muestra, la solución de prueba de TNFa y el medio de ensayo, según corresponda.		
Adición de sistema de ensayo Caspase-Glo 3/7: reconstituir el sistema de ensayo Caspase-Glo 3/7 de acuerdo a las instrucciones del fabricante y adicionar 100 μ L a cada pozo de las placas de ensayo. Agitar las placas, cubiertas con tapas negras, en un agitador de placas por 10 - 15 min. Incubar a temperatura ambiente por 30 - 60 min. Colocar las placas sin tapa en espectrofotómetro (con función de luminiscencia) y leer la		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
luminiscencia por un período mínimo de 1 s por pozo.		
Calcular la potencia de la preparación a ser examinada usando el modelo logístico de cuatro parámetros.		
Aptitud del sistema. Relación del valor máximo (control TNF α) al valor mínimo (sólo células) el cual debe ser mayor o igual a 3.0.		
Resultados. La potencia estimada es no menos que 80 y no más de 140 % relativa a la solución de referencia. Los límites de confianza (P = 0.95) son no menos que 80 y no más que 125 % de la potencia estimada.		
CONSERVACIÓN. En un recipiente hermético a -20 °C.		
MEDICAMENTO BIOTECNOLÓGICO		
DESCRIPCIÓN. El producto liofilizado es de apariencia pulverulenta o de un sólido poroso, frágil de color blanco, libre de partículas. El diluyente es una solución transparente libre de partículas. El producto reconstituido o en presentación líquida corresponde a un líquido transparente, prácticamente incoloro con tonalidades amarillas o cafés.		
CONTENIDO DE PROTEÍNA. MPB 0860. Método de absorción de luz ultravioleta.		
Solución de prueba. Diluir la preparación a examinar con una solución amortiguadora adecuada hasta obtener una concentración de 1.0 mg/mL. Preparar por triplicado.		

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

Dice	Debe decir	Justificación*
Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial de SRef Etanercept en una solución amortiguadora adecuada hasta obtener una concentración de 1.0 mg/mL.		
Mide el espectro de absorbancia desde 250 nm hasta 400 nm. Mide el valor de absorbancia máximo a 280 nm después de la corrección por dispersión de luz a 320 nm. Calcular la concentración de proteína tomando en cuenta el contenido asignado a SRef de Etanercept.		
Contiene 25 mg o 50 mg de Etanercept por contenedor dosis.		
Contiene 90 a 110 % de lo declarado en el marbete.		
OSMOLALIDAD. MGA 0621. Cumple las especificaciones del fabricante.		
ESTERILIDAD. MGA 0381. Cumple los requisitos.		
ENDOTOXINAS BACTERIANAS. MGA 0316. Cumple las especificaciones del fabricante.		
pH. MGA 0701. Cumple las especificaciones del fabricante.		
VARIACIÓN DE VOLÚMEN. MGA 0981. Cumple los requisitos.		
CONSERVACIÓN. Entre 2 y 8 °C.		

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