



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

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 hasta el 30 de junio de 2026, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sita en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México, o al 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>FACTOR IX DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA HUMANA RECOMBINANTE (ADNr)</p> <p>Presentación estéril, liofilizada, que contiene glicoproteínas estrechamente relacionadas que tienen la misma secuencia de aminoácidos (415 aminoácidos) que la Ala 148 alélica, la cual es un análogo natural al factor IX de la coagulación derivado del plasma. Es una glicoproteína de cadena sencilla con características estructurales y funcionales similares a las del factor IX endógeno.</p> <p>Puede contener sales tampón y/o estabilizadores no proteicos.</p> <p>Contenido: mínimo 150 UI/mL Potencia: 200 a 360 IU/mg de proteína.</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*																																																							
<p>YNSCKLEEFVQGNLERECMEFKCSFEAREVTEENTERTTEFWKQYVDGDQ CESNPCLNGGCKDDINSYECWCPFGFEGKNCELDVTGKNGRCEQFCK NSADNKVVCSTEGYRLAENQKSCEPAVPTPCGRVSVSQTSLTRAEAVFP DVDYVNSTEAETILDNITQSTQSFNDFTRVVGGEDAKPGQFPWQVVLNGK VDAFCGGSVNEKWIVTAAHCVETGVKITVWAGEHNIEE TEHTEQKRNVIRIPIHHNYNAANKYNHDIALLELDEPLVLSYVTPICIA DK EYTNIFLKFSGYVSGWRVTHKORSALVLQYLRVPLVDRATCLRSTKFTI YNNMFCAGFHEGGRDSCQGDSSGPHVTEVEGTSFLTGIISWGEECA MKGK YGIYTKVSRVYVNWKEKTKLT</p> <p>Figura 1. Secuencia de aminoácidos del Factor IX de la Coagulación</p> <p>Tabla 1. Secuencia de aminoácidos del Factor IX de la Coagulación.</p> <table border="0"> <tr><td>YNSGKLEEFV</td><td>QGNLERECME</td><td>EKCSFEARE</td><td>VFENTERTTE</td><td>40</td></tr> <tr><td>FWKQYVDGDQ</td><td>CESNPCLNGG</td><td>SKDDINSYE</td><td>CWCPFGFEGK</td><td>80</td></tr> <tr><td>NCELDVTCNI</td><td>KNGRCEQFCK</td><td>NSADNKWCS</td><td>CTEGYRLAEN</td><td>120</td></tr> <tr><td>QKSCEPAVPF</td><td>PCGRVSVSQT</td><td>SKLTRAEAVF</td><td>PVDYVNSTE</td><td>160</td></tr> <tr><td>AETILDNITQ</td><td>STQSFNDFTR</td><td>VVGGEDAKPG</td><td>QFPWQVVLNG</td><td>200</td></tr> <tr><td>KVDAFCGGSV</td><td>VNEKWIVTAA</td><td>HCVETGVKIT</td><td>VWAGEHNIEE</td><td>240</td></tr> <tr><td>TEHTEQKRNV</td><td>IRIPIHHNYN</td><td>AAINKYNHDI</td><td>ALLELDEPLV</td><td>280</td></tr> <tr><td>LNSYVTPICI</td><td>ADKEYTNIFL</td><td>KFGSGYVSGW</td><td>GRVFIKGRSA</td><td>320</td></tr> <tr><td>LVLQYLRVPL</td><td>VDRATCLRST</td><td>KFTIYNNMFC</td><td>AGFHEGGRDS</td><td>360</td></tr> <tr><td>CQGDSSGPHV</td><td>TEVEGTSFLT</td><td>GIISWGEECA</td><td>MKGKGIYTK</td><td>400</td></tr> <tr><td>VSRVYVNWKE</td><td>KTKLT</td><td></td><td></td><td>415</td></tr> </table>	YNSGKLEEFV	QGNLERECME	EKCSFEARE	VFENTERTTE	40	FWKQYVDGDQ	CESNPCLNGG	SKDDINSYE	CWCPFGFEGK	80	NCELDVTCNI	KNGRCEQFCK	NSADNKWCS	CTEGYRLAEN	120	QKSCEPAVPF	PCGRVSVSQT	SKLTRAEAVF	PVDYVNSTE	160	AETILDNITQ	STQSFNDFTR	VVGGEDAKPG	QFPWQVVLNG	200	KVDAFCGGSV	VNEKWIVTAA	HCVETGVKIT	VWAGEHNIEE	240	TEHTEQKRNV	IRIPIHHNYN	AAINKYNHDI	ALLELDEPLV	280	LNSYVTPICI	ADKEYTNIFL	KFGSGYVSGW	GRVFIKGRSA	320	LVLQYLRVPL	VDRATCLRST	KFTIYNNMFC	AGFHEGGRDS	360	CQGDSSGPHV	TEVEGTSFLT	GIISWGEECA	MKGKGIYTK	400	VSRVYVNWKE	KTKLT			415		
YNSGKLEEFV	QGNLERECME	EKCSFEARE	VFENTERTTE	40																																																					
FWKQYVDGDQ	CESNPCLNGG	SKDDINSYE	CWCPFGFEGK	80																																																					
NCELDVTCNI	KNGRCEQFCK	NSADNKWCS	CTEGYRLAEN	120																																																					
QKSCEPAVPF	PCGRVSVSQT	SKLTRAEAVF	PVDYVNSTE	160																																																					
AETILDNITQ	STQSFNDFTR	VVGGEDAKPG	QFPWQVVLNG	200																																																					
KVDAFCGGSV	VNEKWIVTAA	HCVETGVKIT	VWAGEHNIEE	240																																																					
TEHTEQKRNV	IRIPIHHNYN	AAINKYNHDI	ALLELDEPLV	280																																																					
LNSYVTPICI	ADKEYTNIFL	KFGSGYVSGW	GRVFIKGRSA	320																																																					
LVLQYLRVPL	VDRATCLRST	KFTIYNNMFC	AGFHEGGRDS	360																																																					
CQGDSSGPHV	TEVEGTSFLT	GIISWGEECA	MKGKGIYTK	400																																																					
VSRVYVNWKE	KTKLT			415																																																					
<p>Puentes disulfuro: 18-23, 51-62, 56-71, 73-82, 88-99, 95-109, 111-124, 132-289, 206-222, 336-350, 361-389</p> <p>Sitios de glicosilación: Ser-53, Ser-61, Asn-157, Thr-159, Asn-167, Thr-169</p>																																																									



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Residuos modificados:</p> <ul style="list-style-type: none"> E (4-carboxiGlu): 7, 8, 15, 17, 20, 21, 26, 27, 30, 33, 36, 40 D ((3R)-3-hidroxiAsp): 64 S (O³-fosfoSer): 68, 158 Y (O⁴-sulfoTyr): 155 		
<p>C₂₀₅₃H₃₁₁₆N₅₅₈O₆₇₄S₂₆ Peso molecular aproximado 46548.2 Da</p>		
<p>El factor IX (ADNr) de la coagulación humana se produce en células de mamíferos mediante tecnología recombinante del ADN. El método de preparación está diseñado para mantener la integridad funcional del factor IX y minimizar su potencial de trombogenicidad. No se añaden antibióticos o antimicrobianos.</p>		
<p>BIOFÁRMACO</p>		
<p>Previo a la liberación, las siguientes pruebas deben llevarse a cabo en cada lote del producto.</p>		
<p>Proteínas derivadas de células del hospedero. El límite será aprobado por la Autoridad Regulatoria Nacional.</p>		
<p>ADN derivado de células del hospedero y del vector. El límite será aprobado por la Autoridad Regulatoria Nacional.</p>		
<p>Análisis de glicanos. MGA 0241, CLAR. El análisis de glicanos incluye las siguientes etapas:</p>		
<ul style="list-style-type: none"> Liberación de los glicanos utilizando uno de los agentes descritos en la <i>Tabla 4 2</i>, por ejemplo peptidil N-glicosidasa F. 		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<ul style="list-style-type: none"> Marcado de los glicanos con un marcador fluorescente adecuado. 		
<ul style="list-style-type: none"> Análisis de glicanos marcados por cromatografía de líquidos, utilizando una columna altamente resistente al pH y con detector de fluorescencia. 		
<p>Método. Puede usarse el siguiente procedimiento:</p>		
<p>Solución amortiguadora: Disolver 19.53 g de glicina, 1.55 g de histidina y 10.00 g de sacarosa en 1 000 mL de agua. Agregar 50 µL de polisorbato 80 y ajustar a pH 6.8 con ácido clorhídrico.</p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación de prueba con la solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 2 mg/mL. Utilizar 50 µL de esta solución para la liberación de los glicanos y el marcado. Resuspender o diluir el glicano marcado con 200 µL de agua.</p>		
<p>Solución de referencia (a). Diluir el patrón internacional de referencia de factor IX (ADNr) de la coagulación humana con la solución amortiguadora para obtener una concentración de aproximadamente 2 mg/mL. Utilizar 50 µL de esta solución para proceder a la liberación de los glicanos y marcado. Resuspender o diluir el glicano marcado con 200 µL de agua.</p>		
<p>Solución de referencia (b). Utilizar una preparación de referencia del fabricante de factor IX (ADNr) de la coagulación humana, el cual demuestre ser representativo de los lotes probados</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*						
clínicamente y de los lotes utilizados para demostrar la consistencia de la fabricación.								
Diluir con la solución amortiguadora (véase formulación) para obtener una concentración de aproximadamente 2 mg/mL. Utilizar 50 µL de esta solución para proceder a la liberación de los glicanos y marcado. Resuspender o diluir el glicano marcado con 200 µL de agua.								
Solución blanco. Utilizar 50 µL de la solución amortiguadora para proceder a la liberación de los glicanos y marcado. Analizar los glicanos marcados por cromatografía líquida, MGA 0241.								
Precolumna de 10 mm × 4.6 mm, empacada con poliamina con grupos funcionales poli (vinil alcohol) copolímero. Columna de 250 mm × 4.6 mm empacada con poliamina con grupos funcionales poli (vinil alcohol) copolímero de 5 µm; temperatura 50 °C, con velocidad de flujo 0.5 mL/min; el volumen de inyección es de 20 µL utilizando un inyector automático para mantener la temperatura entre 2 y 8 °C; utilizar para la detección un detector de fluorescencia a 330 nm en excitación y a 420 nm en la emisión.								
<i>Tabla 4.2.</i> Ejemplos de agentes enzimáticos de corte.								
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Agente</th> <th>Especificidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="2">Liberación de N-glicanos unidos</td> </tr> <tr> <td>Peptidil-N⁴-(N-acetil-β-</td> <td>Hidrólisis de N⁴-(acetil-β-D-glucosamina)asparagina residual en la que el residuo de</td> </tr> </tbody> </table>	Agente	Especificidad	Liberación de N-glicanos unidos		Peptidil-N ⁴ -(N-acetil-β-	Hidrólisis de N ⁴ -(acetil-β-D-glucosamina)asparagina residual en la que el residuo de		
Agente	Especificidad							
Liberación de N-glicanos unidos								
Peptidil-N ⁴ -(N-acetil-β-	Hidrólisis de N ⁴ -(acetil-β-D-glucosamina)asparagina residual en la que el residuo de							



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>glucosaminil)aspar agina amidasa</p> <p>- Peptidil <i>N</i>-glicosidasa F</p> <p>- Peptidil <i>N</i>-glicosidasa A</p> <p>Manosil-glicoproteína endo-β-<i>N</i>-acetilglucosaminidasa</p> <p>- Endo-β-<i>N</i>-acetilglucosaminidasa F (endo F)</p> <p>- Endo-β-<i>N</i>-acetilglucosaminidasa H (endo H)</p> <hr/> <p>Liberación de O-glicanos unidos</p> <p>Glicopéptido α-<i>N</i>-acetilgalactosaminidasa *</p>	<p>glucosamina puede ser glicosilado posteriormente para ser sustituido por <i>N</i>-acetil-β-D-glucosaminilamina y el péptido que contiene el residuo de aspartato.</p> <p>Liberación de la cadena <i>N</i>-glicano pero no de la cadena del <i>N</i>-glicano que contiene (α1-3)-unido al núcleo de fucosa.</p> <p>Liberación de la cadena <i>N</i>-glicano que contiene (α1-3)-unido al núcleo de fucosa</p> <p>Endohidrólisis de la unidad <i>N</i>, <i>N'</i>-diacetilchitobiosil en glicopéptidos/glicoproteínas pesados de manosa que contienen la estructura [Man(GlcNAc)₂]Asn.</p> <p>Liberación del complejo de manosa y del complejo híbrido de polisacáridos.</p> <p>Liberación del complejo de manosa y de polisacáridos híbridos.</p> <p>Hidrólisis del residuo terminal de D-galactosil-<i>N</i>-acetil-α-D-galactosaminídico</p>	

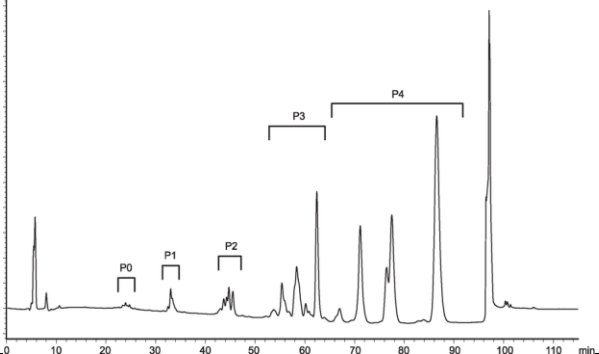


“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*																		
* Esta enzima es de uso limitado debido a que tiene una alta especificidad al sustrato.																				
Fase móvil																				
Fase móvil A. Mezclar agua, ácido acético glacial y acetonitrilo en la siguiente proporción: (1:2:97 v/v/v).																				
Fase móvil B. Mezclar hidróxido de amonio, ácido acético glacial y agua en la siguiente proporción (1:3:96 v/v/v).																				
<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 - 2</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> <tr> <td>2 - 67</td> <td>70→0</td> <td>30→100</td> </tr> <tr> <td>67 - 70</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> <tr> <td>70 - 70.1</td> <td>0→70</td> <td>100→30</td> </tr> <tr> <td>70.1 - 95</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)	0 - 2	70	30	2 - 67	70→0	30→100	67 - 70	0	100	70 - 70.1	0→70	100→30	70.1 - 95	70	30		
Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)																		
0 - 2	70	30																		
2 - 67	70→0	30→100																		
67 - 70	0	100																		
70 - 70.1	0→70	100→30																		
70.1 - 95	70	30																		
Si se observa arrastre de material, realizar una corrida del blanco después de cada inyección. Para la identificación de los picos utilizar el cromatograma de la <i>Figura 2</i> . Identificar los cinco grupos de oligosacáridos correspondientes a P0 neutral, P1 mono-, P2 di-, P3 tri- y P4 oligosacáridos tetrasialilados. Registrar los tiempos de retención de los picos más prominentes de los grupos P0 a P4 y calcular las retenciones relativas de los picos más prominentes en los grupos de P0 a P3 con referencia al pico más prominente en P4 grupo.																				



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Calcular la relación del área del pico tetrasialilado para la solución de prueba utilizando la siguiente expresión:		
$\frac{A_{p4}}{\sum_{j=0}^3 A_{pj}}$		
A _{p4} = área del pico del grupo P4.		
A _{pi} = área del pico de los grupos de P0 a P3.		
		
<p>Figura 2. Cromatograma para la prueba del análisis de glicanos del factor IX (ADNr).</p>		
<p>Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia (a) es cualitativamente similar al cromatograma suministrado con factor IX de la coagulación humana (ADNr); cinco grupos de picos de oligosacáridos correspondientes a P0 neutral, P1 mono-, P2 di-, P3 tri- y P4 oligosacáridos tetrasialilados están presentes; el grupo P4 incluye el pico más alto y P3 el segundo más alto; No se observan picos significativos en las regiones P0 a</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
P4 en el cromatograma obtenido con la solución en blanco.		
<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 más prominentes de los grupos P0 a P3 en el cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponden con los del cromatograma obtenido con la solución de referencia (b); La relación del área del pico tetrasialilado para la solución de prueba se encuentra dentro de los límites autorizados por la autoridad competente.</p>		
<p>ENSAYOS DE IDENTIDAD</p>		
<p>A. La prueba de <i>Potencia</i> se utiliza como ensayo de identidad.</p>		
<p>B. Mapeo peptídico.</p>		
<p>Preparación de referencia del fabricante, ruptura selectiva de las uniones peptídicas.</p>		
<p>Solución A. Disolver 143.3 g de clorhidrato de guanidina, 9.086 g de tris(hidroximetil)aminometano y 0.931 g de edetato sódico en 250 mL de agua y ajustar el pH a 8.0 ± 0.1 con ácido clorhídrico.</p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación a examinarse con la solución amortiguadora para obtener una concentración de aproximadamente 1.5 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia. Preparar al mismo tiempo y de la misma forma que para la solución de</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
prueba pero utilizando factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional.		
<p>Reducción y alquilación. A 67 µL de la solución de prueba añadir 28 µL de agua, 100 µL de solución A y 5µL de una solución al 30.85 g/L de ditiotreitól, mezcla y centrifugar brevemente. Secar sobre atmósfera de nitrógeno e incubar en un baño de agua a 40 °C durante 1 h. Añadir 6.6 µL de una solución al 115.04 g/L recién preparada de ácido yodoacético, mezclar y centrifugar brevemente. Secar sobre atmósfera de nitrógeno e incubar en baño de agua a temperatura ambiente durante 1 h y proteger de la luz. Añadir 5.3 µL de una solución al 30.85 g/L de ditiotreitól y mezclar. Adicionar 188.1 µL de agua.</p>		
<p>Digestión. A la solución reductora preparada previamente, añadir 10 µL de una solución recién preparada de lisil endopeptonasa al 3.4 U/mL, mezclar y centrifugar. Secar sobre atmósfera de nitrógeno e incubar a 30 °C durante 4 h. Mezclar 90 µL de la solución de digestión y 180 µL de una solución al 33.22 g/L de edetato de sodio.</p>		
Llevar a cabo las etapas de reducción/alquilación y de digestión para la solución de referencia de la misma manera que para la solución de prueba.		
Método. MGA 0241, CLAR.		
Columna de 250 mm x 2.1 mm, empacada con gel de sílice octadecil-silano de 5 µm y tamaño de poro de 30 nm; temperatura 25 °C, con velocidad de flujo 0.25 mL/min; el volumen de inyección es de 240 µL; utilizando un inyector automático que		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*									
<p>permita mantener la temperatura entre 2 y 8 °C. Para la detección utilizar un espectrofotómetro a una longitud de onda de 214 nm.</p>											
Fase móvil											
Fase móvil A. Agregar 0.5 mL de ácido trifluoroacético a 1 000 mL de agua y desgasificar;											
Fase móvil B. Mezclar 0.5 mL de ácido trifluoroacético, 50 mL de agua y 950 mL de acetonitrilo para cromatografía y desgasificar.											
Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia es cualitativamente similar a la del cromatograma obtenido con el factor IX de la coagulación humana (ADNr).											
Todos los picos identificados en el cromatograma suministrado con el factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional son visibles en el cromatograma obtenido con la solución de referencia.											
Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde a la del cromatograma obtenido con la solución de referencia; No se observan nuevos picos principales en el cromatograma obtenido con la solución de prueba en comparación con el cromatograma obtenido con la solución de referencia.											
<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 -5</td> <td>97</td> <td>3</td> </tr> <tr> <td>5 - 35</td> <td>97 → 85</td> <td>3 → 15</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)	0 -5	97	3	5 - 35	97 → 85	3 → 15		
Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)									
0 -5	97	3									
5 - 35	97 → 85	3 → 15									



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice		Debe decir		Justificación*
35 - 60	85 → 81	15 → 19		
60 - 81	81 → 74	19 → 26		
81 - 101	74 → 71	26 → 29		
101 -135	71 → 60	29 → 40		
135 - 140	60 → 0	40 → 100		
140 - 150	0	100		
150 - 150.01	0 → 97	100 → 3		
150.01 -190	97	3		
190 - 191	97 → 50	3 → 50		
191 - 251	50	50		
C. Electroforesis en gel de poliacrilamida. Examinar los electroferogramas obtenidos en la prueba de impurezas con masas moleculares que difieren de la del factor IX de la coagulación humana (ADNr).				
Calcular la movilidad relativa (en porcentaje) de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de prueba con referencia a la movilidad de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a), utilizando la siguiente expresión:				
$\frac{M_1 - M_2}{M_2} \times 100$				
Donde:				
M_1 = masa molecular de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de prueba.				
M_2 = masa molecular de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a).				



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de prueba es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (a); La movilidad de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de prueba se encuentra dentro de 10 % correspondiente a la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a).</p>		
<p>ÁCIDO GAMA-CARBOXILGLUTÁMICO (Gla). MGA 0241, CLAR.</p>		
<p>Entre 11.0 y 12.0 moles de Gla por moles de factor IX de la coagulación humana (ADNr).</p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación que debe examinarse con la solución amortiguadora para obtener una concentración de aproximadamente 1 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia. Disolver el contenido de un vial del factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional en la solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 1 mg/mL.</p>		
<p>Solución blanco. Solución amortiguadora. Disuelva 19.53 g de glicina, 1.55 g de histidina y 10.00 g de sacarosa en 1000 mL de agua. Añada 50 µL de polisorbato 80 y ajuste a pH 6.8 con ácido clorhídrico.</p>		
<p>Condiciones del equipo. Requiere el uso de una columna de 5.0 mm × 0.05 m, empacada con resina cromatografía de intercambio iónico fuertemente básica (10 µm); con una velocidad de</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*															
flujo de 0.75 mL/min; el volumen de inyección es de 50 µL, usar un inyector automático manteniendo la temperatura entre 2 y 8 °C; para la detección se utiliza un espectrofotómetro a una longitud de onda de 214 nm.																	
Fase móvil																	
Fase móvil A. Solución con 2.42 g/L de tris(hidroximetil)aminometano, ajustada a pH 9.0 con ácido clorhídrico.																	
Fase móvil B. Solución con 2.42 g/L de tris(hidroximetil)aminometano y 58.45 g/L de cloruro de sodio, ajustada a pH 9.0 con ácido clorhídrico.																	
<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 - 40</td> <td>70 → 60</td> <td>30 → 40</td> </tr> <tr> <td>40 - 49</td> <td>60 → 0</td> <td>40 → 100</td> </tr> <tr> <td>49 - 50</td> <td>0 → 70</td> <td>100 → 30</td> </tr> <tr> <td>50 - 71</td> <td>70</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)	0 - 40	70 → 60	30 → 40	40 - 49	60 → 0	40 → 100	49 - 50	0 → 70	100 → 30	50 - 71	70	30		
Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)															
0 - 40	70 → 60	30 → 40															
40 - 49	60 → 0	40 → 100															
49 - 50	0 → 70	100 → 30															
50 - 71	70	30															
Retención relativa: con referencia al factor IX de la coagulación humana (ADNr) que contiene 12 residuos de Gla por molécula (12 Gla, tiempo de retención = aproximado 25 min); 9Gla=0.60; 10Gla=0.75; 11Gla=0.85.																	
<i>Nota:</i> Especies moleculares que contienen 9 o menos residuos de Gla por molécula del factor IX de la coagulación humana (ADNr) pueden no estar presentes en la preparación.																	
Aptitud del sistema																	



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Solución de referencia:		
Repetibilidad: desviación estándar relativa, máximo 3.0 % del área total del pico debido del factor IX de la coagulación humana (ADNr), realizar 3 inyecciones antes de la corrida; El pico 10Gla es visible y es similar al pico correspondiente en el cromatograma del factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional; Relación pico a valle: mínimo 1.2, donde A_p = altura por encima de la línea base del pico 11Gla, y A_v = altura por encima de la línea base del punto más bajo de la curva que separa este pico del pico 12Gla.		
Resultados. Repetibilidad: desviación estándar relativa, máximo 3 % de la superficie total del pico debido al factor IX de la coagulación humana (ADNr), realizado en 3 inyecciones de la solución de prueba.		
El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde a la del cromatograma obtenido con la solución de referencia.		
Calcular el contenido total de Gla mediante la siguiente expresión:		
$\sum_{i=9}^{12} \frac{A_{pi}}{\text{área bajo la curva}} \times iGla \cdot mol^{-1}$		
Donde:		
A_{pi} : área total bajo la curva en cuestión (9Gla, 10Gla, 11Gla o 12Gla); cualquier hombro que aparece en la parte descendente del pico 12Gla está incluido en el área del pico 12Gla.		
Área total bajo la curva suma de las áreas de los picos de 9Gla 12Gla;		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><i>iGla.mol⁻¹</i>: 9, 10, 11 o 12, que corresponde al número teórico de residuos de Gla por mol del factor IX de la coagulación humana (ADNr) para el pico en cuestión.</p>		
<p>IMPUREZAS Y PROTEÍNAS RELACIONADAS. MGA 0241, <i>Cromatografía de líquidos.</i></p>		
<p>Máximo 0.6% de relacionados con la proteína C. Máximo 1.0% de impurezas totales (todos los picos eluidos no en las posiciones esperadas para el factor IX de la coagulación humana (ADNr) y sus proteínas afines).</p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación de prueba a examinarse con la solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 0.5 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia. Preparar de la misma manera que para la solución de prueba el patrón internacional de factor IX de la coagulación humana (ADNr).</p>		
<p>Condiciones del equipo. Se requiere el uso de una columna de 0.10 m × 4.6 mm, empacada con copolímero de estireno- divinilbenceno (10 µm) con un tamaño de poro de 400 nm; temperatura de prueba 37 °C, velocidad de flujo de 2.0 mL/min, volumen de inyección 100 µL, realizar tres inyecciones; para la detección utilizar un espectrofotómetro a una longitud de onda de 214 nm.</p>		
<p>Fase móvil:</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*															
Fase móvil A: agregar 1 mL de ácido trifluoroacético a 1 000 mL de agua;																	
Fase móvil B: mezclar 1 mL e ácido trifluoroacético, 200 mL de agua y 800 mL de acetonitrilo.																	
<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 - 0.5</td> <td>75</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>0.5 - 30</td> <td>75 → 20</td> <td>25 → 80</td> </tr> <tr> <td>30 - 31</td> <td>20 → 0</td> <td>80 → 100</td> </tr> <tr> <td>31 → 33</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)	0 - 0.5	75	25	0.5 - 30	75 → 20	25 → 80	30 - 31	20 → 0	80 → 100	31 → 33	0	100		
Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)															
0 - 0.5	75	25															
0.5 - 30	75 → 20	25 → 80															
30 - 31	20 → 0	80 → 100															
31 → 33	0	100															
Retención relativa con referencia a la réplica del segundo pico (tiempo de retención = aproximadamente 12 a 14 min) debido al factor IX de la coagulación humana (ADNr): proteína relacionada con A = 0.75; relacionados con la proteína B = 0.78; relacionados con la proteína C = 0.80; relacionados con la proteína D = 0.85; relacionada proteína E = 0.93.																	
Aptitud del sistema. Solución de referencia. El cromatograma obtenido es cualitativamente similar al cromatograma del patrón internacional del factor IX de la coagulación humana.																	
Repetibilidad: desviación estándar relativa máxima 3% del área total del pico del factor IX humana (ADNr) después de realizar tres inyecciones antes del corrimiento; Relación pico a valle: mínimo 1.5, donde A_p = altura por encima de la línea base del pico de la proteína E relacionada y A_v = altura por encima de la línea de base del punto más bajo de la curva que separa este pico																	



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>del pico del factor IX de la coagulación humana (rDNA). Reportar áreas relativas de los picos individuales teniendo en cuenta el área del pico de todo el cromatograma. El por ciento relativo de las áreas de los picos individuales se calculan con la media de las tres inyecciones de la solución de prueba.</p>		
<p>Resultados. El cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde a la del cromatograma obtenido con la solución de referencia, excepto que los picos menores, que son debido a las impurezas, pueden estar ausentes en el cromatograma obtenido con la solución de prueba.</p>		
<p>IMPUREZAS CON MASAS MOLECULARES DIFERENTES AL DEL FACTOR IX DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA HUMANA (ADNR). MGA 0311. <i>Electroforesis en gel de poliacrilamida.</i></p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación que debe examinarse con la solución amortiguadora para obtener una concentración de aproximadamente 1 mg/mL.</p>		
<p>Resultados. El cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde a la del cromatograma obtenido con la solución de referencia, excepto que los picos menores, que son debido a las impurezas, pueden estar ausentes en el cromatograma obtenido con la solución de prueba.</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Solución de referencia (a). Diluir la solución de referencia del factor IX de la coagulación humana (ADNr) con la solución amortiguadora para obtener una concentración de aproximada de 1 mg/mL.		
Solución de referencia (b). Mezclar 0.01 mg/mL de solución de albúmina bovina en la solución amortiguadora.		
Solución de referencia (c). Una solución de marcadores de peso molecular adecuado para la calibración de los geles de poliacrilamida-SDS en el intervalo de 5 a 200 kDa.		
Amortiguador de muestra. Amortiguador concentrado de SDS-PAGE para condiciones reductoras contiene ditiotreitól como agente reductor.		
Tratamiento de la muestra. Incubar en un baño de agua durante 5 min.		
Para cada gel, utilice 1 carril con solución de referencia (b), 2 carriles con solución de referencia (c), 2 carriles con el amortiguador reductor como blanco y al menos 1 carril con solución de referencia reducida (a); utilizar el resto de los carriles para soluciones de prueba reducidos; detección de bandas por tinción Coomassie.		
Identificación de bandas. Factor de coagulación IX humana (ADNr) tiene una masa molecular aproximadamente de 55 kDa, y las bandas de proteínas relacionadas con pesos moleculares de 54 kDa, 44 kDa, 29-32 kDa, 27 kDa, y 14 kDa están presentes.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Aptitud del sistema. Se obtiene un fondo claro después de la decoloración; la banda en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (b) es claramente visible; todas las bandas esperadas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (c) son visibles; las bandas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (c) están claramente separadas; ninguna banda es visible en los carriles en blanco.</p>		
<p>Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de ensayo es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (a); ninguna banda adicional en el electroferograma obtenido con la solución de prueba tiene una intensidad mayor que la banda en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (b).</p>		
<p>IMPUREZAS CON MASAS MOLECULARES MAYORES AL DEL FACTOR IX DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA HUMANA (ADNr). MGA 0241. <i>Cromatografía de Exclusión por tamaño.</i></p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación que debe examinarse con la solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 400 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia. Diluir el factor IX de la coagulación humana (ADNr) solución de referencia con la solución amortiguadora para obtener una concentración aproximada de 400 mg/mL.</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Solución de resolución. Disolver el contenido de un vial del factor IX de la coagulación ADNr en el buffer de formulación para obtener una concentración aproximada de 400 µg/mL.</p>		
<p>Desalar y concentrar la preparación a ser examinada usando un procedimiento validado. Reconstituir el material recuperado en un buffer 0.1 M fosfato pH 8.0 hasta obtener una concentración de 400 µg/mL. A 500 µL de la solución agregar 1.4 µL de solución de glutaraldehído a 250 mg/mL. Mezclar a 37°C durante 120 min.</p>		
<p>Solución blanco. Solución amortiguadora.</p>		
<p>Columna de 300 mm x 7.8 mm, fase estacionaria: gel de sílice hidrofílico de 5 µm para el fraccionamiento de las proteínas globulares en el intervalo de peso molecular relativo de 10 000 a 500 000.</p>		
<p>Velocidad de flujo 1.0 mL/min, volumen de inyección 50 µL. Realizar tres inyecciones utilizando un inyector automático a una temperatura entre 2 y 8 °C. Utilizar un espectrofotómetro a 214 nm. Tiempo de retención del factor IX de la coagulación humana (ADNr) aproximadamente de 9 min.</p>		
<p>Fase móvil. Disolver 7.80 g de fosfato de sodio dibásico y 8.77 g de cloruro de sodio en 1 000 mL de agua. Ajustar el pH a 7.00 ± 0.05 con ácido fosfórico.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia es cualitativamente</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
similar al cromatograma suministrado con el factor IX de la coagulación humana (ADNr) estándar internacional		
Relación pico a valle:		
mínimo 1.5, donde Ap = altura por encima de la línea base del pico debido a las especies de alto peso molecular y Av = altura por encima de la línea de base del punto más bajo de la curva que separa este pico del pico del factor IX de la coagulación humana (ADNr) en el cromatograma obtenido con la solución de resolución.		
Calcular el área relativa (en porcentaje) de la suma de los picos con tiempos de retención menores al factor IX de la coagulación humana (ADNr), con referencia al área del pico debido al factor IX de la coagulación humana (ADNr).		
Cualquier hombro que observe en la parte descendente del pico del factor IX de la coagulación humana (ADNr) se incluye en su área.		
Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde a la del cromatograma obtenido con la solución de referencia.		
Máximo 1.3 % en la suma total de los picos eluidos antes del pico principal.		
CONTENIDO MICROBIANO. MGA 0571, APÉNDICE VII. Máximo 10 CFU/mL.		
ENDOTOXINAS BACTERIANAS. MGA 0316. La preparación a examinar contiene máximo 1 IU/100 IU de actividad de factor IX.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
ENSAYO. La actividad biológica específica de la sustancia se determina antes de la adición de cualquier estabilizador proteico.		
POTENCIA. MPB 0380. La potencia estimada es del 80 % a 125 % de la potencia indicada. El intervalo de confianza (IC = 0.95) de la potencia estimada es de 80 % a 120 %.		
PROTEÍNA. MGA 0241, <i>Cromatografía de exclusión por tamaño.</i> Realizar como se describe en la prueba de impurezas con pesos moleculares mayores que al del factor IX de la coagulación humana (ADNr) con las siguientes modificaciones. Preparar diluciones por triplicado de la solución de prueba.		
Solución de referencia. Diluir factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional con la solución amortiguadora para obtener una concentración de 1 mg/mL. Diluir esta solución para preparar una curva estándar de 5 concentraciones diferentes (100 g/mL, 200 mg/mL, 400 mg/mL, 600 mg/mL, 800 mg/mL). Realizar la regresión lineal con la curva estándar entre el área de los picos y la concentración de proteína.		
Aptitud del sistema: (además de lo descrito en la prueba de impurezas con masas moleculares mayores que la del factor IX de la coagulación humana (ADNr) considerar lo siguiente: El coeficiente de correlación (r ²) calculado para la curva estándar no debe ser menor de 0.995.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Calcular la concentración de proteínas de cada réplica de la preparación para ser examinada usando la curva estándar y el contenido asignado en el factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional.		
CONSERVACIÓN. En un recipiente hermético, bajo condiciones aprobadas.		
MEDICAMENTO BIOTECNOLÓGICO		
DESCRIPCIÓN		
Preparación estéril, liofilizada de glicoproteínas estrechamente relacionadas, que tienen la misma secuencia de aminoácidos (415 aminoácidos) que el análogo de forma alélica Ala 148 de origen natural (factor IX de coagulación derivado del plasma). La preparación está destinada a la inyección intravenosa.		
Potencia: 80 por ciento a 125 por ciento de la potencia indicada en la etiqueta cuando se determina utilizando las condiciones descritas en <i>Ensayo</i> .		
El polvo para solución inyectable de factor IX de coagulación humano (ADNr) cumple con la monografía sobre preparaciones parenterales y con los siguientes requisitos adicionales.		
PRODUCCIÓN. El polvo para solución inyectable del factor IX de coagulación humano (ADNr) se prepara a partir de la solución concentrada de factor IX de coagulación humano (ADNr). La solución concentrada se diluye con un tampón de formulación que contiene excipientes como histidina, sacarosa, glicina y polisorbato 80. Esta		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>preparación se pasa a través de un filtro retentivo de bacterias y se distribuye asépticamente en el contenedor final y se liofiliza. Los contenedores se cierran al vacío o bajo un gas inerte. Cuando se utilicen excipientes distintos de los mencionados anteriormente, deberá confirmarse su compatibilidad con las pruebas descritas a continuación.</p>		
<p>IDENTIDAD.</p>		
<p>A. Cumple con los límites establecidos en el ensayo de potencia.</p>		
<p>B. Electroforesis en gel de poliacrilamida</p>		
<p>Examinar los electroferogramas obtenidos en la prueba de impurezas con masas moleculares que difieren de la del factor IX de la coagulación humana (ADNr). Calcular la movilidad relativa (en porcentaje) de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de prueba con respecto a la movilidad de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a), utilizando la siguiente expresión:</p>		
$\frac{M_1 - M_2}{M_2} \times 100$		
<p>Dónde:</p>		
<p>M1= masa molecular de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de prueba.</p>		
<p>M2 = masa molecular de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a).</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de prueba es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (a); La movilidad de la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de prueba se encuentra dentro del 10 % correspondiente a la banda principal en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a).</p>		
<p>ENSAYOS:</p>		
<p>Reconstituir el liofilizado tal como se indica en la etiqueta inmediatamente antes de llevar a cabo la identificación y los análisis (excepto los de solubilidad y agua)..</p>		
<p>Buffer de formulación: Disolver 19.53 g de glicina, 1.55 g de histidina, y 10.00g de sacarosa en 1000 mL de agua R. Añade 50 uL de polisorbato 80 y ajusta el pH a 6.8 con ácido clorhídrico</p>		
<p>ASPECTO DE LA SOLUCIÓN. Después de la reconstitución, la solución es transparente e incolora, sin partículas visibles.</p>		
<p>SOLUBILIDAD. A un vial de la preparación a examinar, agregue el volumen del diluyente indicado en la etiqueta a la temperatura recomendada. La preparación se disuelve completamente con agitación suave en 5 min.</p>		
<p>pH. El límite está aprobado por la autoridad competente.</p>		
<p>PROTEÍNAS RELACIONADAS. MGA 0241, Cromatografía de líquidos.</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*															
Solución de prueba. Diluir la preparación de prueba a examinarse con el buffer de formulación para obtener una concentración aproximada de 0.5 mg/mL.																	
Solución de referencia. Preparar de la misma manera que para la solución de prueba el patrón internacional de factor IX de la coagulación humana (ADNr).																	
Condiciones del equipo. Se requiere el uso de una columna de 0.10 m de largo x 4.6 mm de diámetro, empacada con copolímero de estireno-divinilbenceno (10 µm) con un tamaño de poro de 400 nm; temperatura de prueba 37°C, velocidad de flujo de 2.0 mL/min, volumen de inyección 100 µL, realizar al menos tres inyecciones; para la detección utilizar un espectrofotómetro a una longitud de onda de 214 nm.																	
Fase móvil:																	
Fase móvil A: agregar 1 mL de ácido trifluoroacético a 1 000 mL de agua;																	
Fase móvil B: mezclar 1 mL de ácido trifluoroacético, 200 mL de agua y 800 mL de acetonitrilo.																	
<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 - 0.5</td> <td>75</td> <td>25</td> </tr> <tr> <td>0.5 - 30</td> <td>75→20</td> <td>25→80</td> </tr> <tr> <td>30- 31</td> <td>20→0</td> <td>80→100</td> </tr> <tr> <td>31 - 33</td> <td>0</td> <td>100</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)	0 - 0.5	75	25	0.5 - 30	75→20	25→80	30- 31	20→0	80→100	31 - 33	0	100		
Tiempo (min)	Fase móvil A (% V/V)	Fase móvil B (% V/V)															
0 - 0.5	75	25															
0.5 - 30	75→20	25→80															
30- 31	20→0	80→100															
31 - 33	0	100															



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
Retención relativa con respecto al segundo pico del doble pico debido al factor IX de la coagulación humana (ADNr) (tiempo de retención = aproximadamente 12 a 14 min):		
• proteína relacionada A = aproximadamente 0.75;		
• proteína relacionada B = aproximadamente 0.78;		
• proteína relacionada C = aproximadamente 0.80;		
• proteína relacionada D = aproximadamente 0.85;		
• proteína relacionada E = aproximadamente 0.93.		
Aptitud del sistema. Solución de referencia. El cromatograma obtenido es cualitativamente similar al cromatograma del patrón internacional del factor IX de la coagulación humana. Repetibilidad: desviación estándar relativa máxima de 3% del área total del pico correspondiente al factor IX humano (ADNr) después de realizar tres inyecciones antes de efectuar la corrida.		
Relación pico a valle: mínimo 1.2, donde A_p = altura por encima de la línea base del pico de la proteína E relacionada y A_v = altura por encima de la línea de base del punto más bajo de la curva que separa este pico del pico del factor IX de la coagulación humana (rDNA).		
Reportar áreas relativas de los picos individuales teniendo en cuenta el área del pico de todo el cromatograma. El porcentaje relativo de las áreas de los picos individuales se calculan con la media de las tres inyecciones de la solución de prueba. Los picos que corresponden a las proteínas relacionadas A y D no siempre están presentes.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Resultados. El cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde al cromatograma obtenido con la solución de referencia, excepto que los picos menores, que son debido a las impurezas, pueden estar ausentes en el cromatograma obtenido con la solución de prueba.</p>		
<p>Proteína relacionada C. Máximo 0.6%.</p>		
<p>IMPUREZAS CON MASAS MOLECULARES DIFERENTES A LA DEL FACTOR IX DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA HUMANA (ADNr). MGA 0311. <i>Electroforesis en gel de poli(acrilamida utilizando un gel de gradiente.</i></p>		
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación que debe examinarse con el buffer de formulación para obtener una concentración de aproximadamente 1 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia (a). Diluir solución de referencia de factor IX de la coagulación humana (ADNr) con el buffer de formulación para obtener una concentración de aproximada de 1 mg/mL.</p>		
<p>Solución de referencia (b). Mezclar 0.01 mg/mL de solución de albúmina bovina en el buffer de formulación.</p>		
<p>Solución de referencia (c). Una solución de marcadores de peso molecular adecuado para la calibración de los geles de poli(acrilamida)-SDS en el intervalo de 5 a 200 kDa. Para cada gel, utilice 1 carril con solución de referencia (b), 2 carriles con solución de referencia (c), 2 carriles con el amortiguador reductor como blanco y al menos 1 carril con solución de referencia reducida (a);</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
utilizar el resto de los carriles para soluciones de prueba reducidos. La detección de bandas se realiza por tinción con azul de Coomassie.		
Identificación de bandas. Factor de la coagulación IX humana (ADNr) tiene una masa molecular aproximadamente de 55 kDa, y las bandas de proteínas relacionadas con pesos moleculares de 54 kDa, 44 kDa, 29-32 kDa, 27 kDa y 14 kDa están presentes.		
Aptitud del sistema. Se obtiene un fondo claro después de la decoloración; la banda en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (b) es claramente visible; todas las bandas esperadas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (c) son visibles; las bandas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (c) están claramente separadas; ninguna banda es visible en los carriles en blanco.		
Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de ensayo es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (a); ninguna banda adicional en el electroferograma obtenido con la solución de prueba tiene una intensidad mayor que la banda en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (b).		
IMPUREZAS CON MASAS MOLECULARES MAYORES A LA DEL FACTOR IX DE LA COAGULACIÓN SANGUÍNEA HUMANA (ADNr). MGA 0241. Cromatografía de Exclusión por tamaño.		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Solución de prueba. Diluir la preparación que debe examinarse con el buffer de formulación para obtener una concentración aproximada de 400 g/mL.</p>		
<p>Solución de referencia. Diluir el factor IX de la coagulación humana (ADNr) estándar internacional con el buffer de formulación para obtener una concentración aproximada de 400 g/mL.</p>		
<p>Solución de resolución. Diluir el factor IX de la coagulación humana (ADNr) estándar internacional con el buffer de formulación para obtener una concentración aproximada de 400 g/mL. Desalar y concentrar la preparación que será examinada utilizando un método validado. Reconstituye el material recuperado en un buffer de fosfatos 0.1 M pH 8 para obtener una concentración de 400 g/mL. A 500 L de esta solución, adicionar 1.4 L de una solución de glutaraldehído a 250 mg/L. Mezclar e incubar a 37 °C durante 120 min. Incubar un volumen de la solución de referencia a 50 °C durante 120 min en un vial de HPLC. Después de la incubación, colocar el envase inmediatamente en el inyector automático e iniciar el análisis cromatográfico.</p>		
<p>Solución blanco. Buffer de formulación.</p>		
<p>Precolumna: -l = 0.04 m y d = 6 mm -fase estacionaria: gel de sílice hidrofílico de 5 µm para la separación de proteínas globulares en el intervalo de peso molecular relativo de 10 000 a 500 000. Columna: -l = 0.3 m y d = 7.8 mm</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Velocidad de flujo 1.0 mL/min, volumen de inyección 50 µL. Realizar tres inyecciones utilizando un inyector automático a una temperatura entre 2 y 8 °C. Utilizar un espectrofotómetro a 214 nm. Tiempo de retención del factor IX de la coagulación humana (ADNr) aproximadamente de 9 min.</p>		
<p>Fase móvil. Disolver 7.10 g de fosfato de sodio dibásico y 8.77 g de cloruro de sodio en 1 000 mL de agua. Ajustar el pH a 7.00 ± 0.05 con ácido fosfórico.</p>		
<p>Aptitud del sistema. El cromatograma obtenido con la solución de referencia es cualitativamente similar al cromatograma suministrado con el factor IX de la coagulación humana (ADNr) estándar internacional;</p>		
<p>Relación pico a valle: mínimo 2, donde A_p = altura por encima de la línea base del pico debido a las especies de alto peso molecular y A_v = altura por encima de la línea base del punto más bajo de la curva que separa este pico del pico del factor IX de la coagulación humana (ADNr) en el cromatograma obtenido con la solución de resolución.</p>		
<p>Calcular el área relativa (en porcentaje) de la suma de los picos con tiempos de retención menores al factor IX de la coagulación humana (ADNr), con referencia al área del pico debido al factor IX de la coagulación humana (ADNr). Cualquier hombro que observe en la parte descendente del pico del factor IX de la coagulación humana (ADNr) se incluye en su área.</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde a la del cromatograma obtenido con la solución de referencia. Máximo 1.8 % en la suma total de los picos eluidos antes del pico principal.</p>		
<p>FACTOR IX DE COAGULACIÓN HUMANO ACTIVADO (ADNr). Diluir la preparación reconstituida que se va a examinar con solución tampón de tris(hidroximetil)aminometano pH 7,5 R para obtener una concentración de factor IX de coagulación humano. (ADNr) de 20 UI / mL. Para cada una de las diluciones, el tiempo de coagulación no es inferior a 150 s.</p>		
<p>OSMOLALIDAD. El límite es aprobado por la autoridad competente.</p>		
<p>CONTENIDO DE AGUA. Máximo 2%.</p>		
<p>ESTERILIDAD. MGA 0381. Cumple los requisitos.</p>		
<p>ENDOTOXINAS BACTERIANAS: menos que 1 IU /100 IU de la actividad del factor IX.</p>		
<p>ENSAYO. La actividad biológica específica de la sustancia se determina antes de la adición de cualquier estabilizador proteico.</p>		
<p>POTENCIA. MPB 0380. La potencia estimada es del 80 % a 125 % de la potencia indicada. El intervalo de confianza (IC = 0.95) de la potencia estimada es de 80 % a 120 %.</p>		
<p>PROTEÍNA. MGA 0241, Cromatografía de exclusión por tamaño. Realizar como se describe en la prueba de impurezas con pesos moleculares mayores que al del factor IX de la coagulación</p>		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
humana (ADNr) con las siguientes modificaciones. Preparar diluciones por triplicado de la solución de prueba.		
Solución de referencia. Diluir factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional con el buffer de formulación para obtener una concentración de 1 mg/mL. Diluir esta solución para preparar una curva estándar de 5 concentraciones diferentes (100 g/mL, 200 g/mL, 400 g/mL, 600 g/mL, 800 g/mL). Realizar la regresión lineal con la curva estándar entre el área de los picos y la concentración de proteína.		
Aptitud del sistema: (además de lo descrito en la prueba de impurezas con masas moleculares mayores que la del factor IX de la coagulación humana (ADNr) considerar lo siguiente:		
El coeficiente de correlación (r^2) calculado para la curva estándar no debe ser menor de 0.995. Calcular la concentración de proteínas de cada réplica de la preparación para ser examinada usando la curva estándar y el contenido asignado en el factor IX de la coagulación humana (ADNr) patrón internacional.		
ALMACENAMIENTO		
En recipiente hermético, protegido de la luz, a una temperatura de 2 ° C a 8 ° C.		
ETIQUETADO		
La etiqueta dice:		



“2026, Año de Margarita Maza Parada”

Dice	Debe decir	Justificación*
<ul style="list-style-type: none"> -el contenido de factor IX en unidades internacionales por mililitro y en Unidades Internacionales por miligramo de proteína; -el nombre de cualquier excipiente y sustancia añadida; -la composición y el volumen del líquido que se utilizará para la reconstitución. 		

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

CONSULTA