

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 4.11.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2010, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de agosto y hasta el 30 de septiembre de 2020, 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. Fax: 5207 6890

Correo electrónico: consultas@farmacoepa.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

MONOGRAFÍA NUEVA

Dice	Debe decir	Justificación*
ETANERCEPT		
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 IgG1 humana. Consiste en dos monómeros de 467 aminoácidos con 29 puentes disulfuro y tiene un peso molecular aparente de aproximadamente 150 kDa. 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.		
<i>Tabla 1. Secuencia de aminoácidos de Etanercept.</i>		
LPAQVAFTPY APEPGSTCRL REYDQTAQM CCSKCSPGQH AKVFCTKTS		
TVCDSCEDST YTQLWNVVPE CLSCGSRCS DQVETQACTR EQNRICRCP		
GWYCALSKQE GCRLCAPLRK CRPGFGVARP GTETSDV VCK PCAPGTFNS		
TSSDTCRPH QICNVAIPG NASMDAVCTS TSPTRSMAPG AVHLPQPVST		
RSQHTQPTPE PSTAPSTSFL LPMGSPPAE GSTGDEPKSC DKHTCPCPC		
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVWVDSHED PEVKFNWYVD		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*												
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYTT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENNN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NWFSCSVMHHE ALHNHYTQKS LSLSPGK														
C ₂₂₂₄ H ₃₄₇₂ N ₆₁₈ O ₇₀₁ S ₃₆ 150 000 Da [185243-69-0]														
BIOFÁRMACO														
DESCRIPCIÓN. Líquido transparente, incolora a amarillo claro o marrón pálido, ligeramente opalescente libre de partículas extrañas.														
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 g de TFA y 2000 mL de agua														
Fase móvil B: mezclar 2 g de TFA, 330 mL de agua y 1320 mL de acetonitrilo.														
<i>Tabla 2. Gradiente para mapeo de péptidos.</i>														
<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 a 5</td> <td>98</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>5 a 125</td> <td>98 → 50</td> <td>2 → 50</td> </tr> <tr> <td>125 a 140</td> <td>50 → 5</td> <td>50 → 95</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Fase móvil A (V/V)	Fase móvil B (V/V)	0 a 5	98	2	5 a 125	98 → 50	2 → 50	125 a 140	50 → 5	50 → 95		
Tiempo (min)	Fase móvil A (V/V)	Fase móvil B (V/V)												
0 a 5	98	2												
5 a 125	98 → 50	2 → 50												
125 a 140	50 → 5	50 → 95												
Solución amortiguadora. Guanidina-Tris, pH 8.3.														
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 de iodoacetamida a una concentración de 185 g/L. Mezclar y dejar reposar por 10 min protegido de la luz.														

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>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. 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>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. Enfriar en baño con hielo por 5- 10 min, luego, adicionar 15.4 µL de una solución fresca 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 solución de referencia 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. 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 X 25 cm. Temperatura de 30 a 35 °C. velocidad de flujo, 0.5 mL/min, volumen de inyección de 200 µL. Temperatura del automuestreador de 2 a 8 °C.</p>		
<p>Aptitud del sistema: el cromatograma obtenido con la solución de referencia es cualitativamente similar al cromatograma proporcionado con Etanercept SRef.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo la solución de referencia y solución de la muestra. Registrar y comparar los cromatogramas.		
C. Enfoque isoeléctrico. MGA 0312, <i>Electroforesis capilar</i> . Las bandas del isoelectroferograma obtenido con la preparación de la muestra, corresponden en posición con las bandas del isoelectroferograma de la preparación de referencia.		
ÁCIDO SIÁLICO. MGA 0241 CLAR.		
Utilizar un método apropiado desarrollado de acuerdo al capítulo general.		
<ul style="list-style-type: none"> - Liberar el ácido siálico por hidrólisis ácida en la preparación a ser examinada. - Etiquetar el ácido siálico liberado con un agente fluorescente, por ejemplo: 1,2-diamino-4,5-metilenodioxibenceno, utilizando un procedimiento adecuado. - 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 1820 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 el ácido siálico liberado utilizando un procedimiento adecuado; por ejemplo, adiciona 15 µL de una solución que contenga 1,2-diamino-4,5-metilendioxibenceno dihidrocloruro 1.6 g/L, 2-mercaptoetanol		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
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.		
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.		
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.		
Solución estándar. Diluir la solución de referencia (b) con agua inyectable para obtener una concentración de 2 ng/µL. Posteriormente, diluir esta solución para preparar una curva estándar con concentraciones en el intervalo de 0.10 - 0.40 ng/µL (6 concentraciones, típicamente 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.40 ng/µL). Analizar el ácido siálico etiquetado por cromatografía de líquidos.		
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 (5µm) con tamaño de poro de 8 nm de 4.6 mm X 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. Tiempo de retención: ácido 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		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*								
<p>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. 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>										
<p>Resultados: El perfil del cromatograma obtenido con la solución de prueba corresponde con el de la solución de referencia (a).</p>										
<p>Límite: 8 a 19 moles de ácido siálico por mol de Etanercept.</p>										
<p>N-GLÚCIDOS. MGA 0241, CLAR.</p>										
<p>Liberar los glúcidos usando uno de los agentes descritos en la <i>tabla 3</i>, por ejemplo: PNGasa F.</p>										
<p><i>Tabla 3.</i> Ejemplos de agentes enzimáticos de escisión</p> <table border="1" data-bbox="128 997 741 1459"> <thead> <tr> <th data-bbox="128 997 396 1029">Agentes</th> <th data-bbox="396 997 741 1029">Especificidad</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="2" data-bbox="128 1029 741 1062">Liberación de <i>N</i>- glicosilación</td> </tr> <tr> <td data-bbox="128 1062 396 1370">Péptido-<i>N</i>⁴-(<i>N</i>-acetil-β-glucosaminil) asparagina amidasa. (EC 3.5.1.52)</td> <td data-bbox="396 1062 741 1370">Hidrólisis de un residuo de asparagina <i>N</i>⁴- (acetil-β-D-glucosaminil) en el cual el residuo de glucosamina puede estar más glicosilado para producir un (sustituto) <i>N</i>-acetil-β-D-glucosaminilamina y un péptido que contiene un residuo de aspartato.</td> </tr> <tr> <td data-bbox="128 1370 396 1459">-Péptido <i>N</i>-glicosidasa F (PNGasa F)</td> <td data-bbox="396 1370 741 1459">Liberación de la cadena <i>N</i>-glicano pero sin la liberación de la cadena <i>N</i>-glicano que</td> </tr> </tbody> </table>	Agentes	Especificidad	Liberación de <i>N</i> - glicosilación		Péptido- <i>N</i> ⁴ -(<i>N</i> -acetil-β-glucosaminil) asparagina amidasa. (EC 3.5.1.52)	Hidrólisis de un residuo de asparagina <i>N</i> ⁴ - (acetil-β-D-glucosaminil) en el cual el residuo de glucosamina puede estar más glicosilado para producir un (sustituto) <i>N</i> -acetil-β-D-glucosaminilamina y un péptido que contiene un residuo de aspartato.	-Péptido <i>N</i> -glicosidasa F (PNGasa F)	Liberación de la cadena <i>N</i> -glicano pero sin la liberación de la cadena <i>N</i> -glicano que		
Agentes	Especificidad									
Liberación de <i>N</i> - glicosilación										
Péptido- <i>N</i> ⁴ -(<i>N</i> -acetil-β-glucosaminil) asparagina amidasa. (EC 3.5.1.52)	Hidrólisis de un residuo de asparagina <i>N</i> ⁴ - (acetil-β-D-glucosaminil) en el cual el residuo de glucosamina puede estar más glicosilado para producir un (sustituto) <i>N</i> -acetil-β-D-glucosaminilamina y un péptido que contiene un residuo de aspartato.									
-Péptido <i>N</i> -glicosidasa F (PNGasa F)	Liberación de la cadena <i>N</i> -glicano pero sin la liberación de la cadena <i>N</i> -glicano que									

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice		Debe decir	Justificación*												
	contiene el enlace α 1-3 unido a la estructura base de la fucosa.														
-Péptido <i>N</i> -glicosidasa F (PNGasa F)	Liberación de la cadena <i>N</i> -glicano que contiene el enlace α 1-3 unido a la estructura base de la fucosa.														
-Manosil-glicoproteína endo- β - <i>N</i> -acetilglucosaminidasa. (EC 3.2.1.96)	Endohidrólisis de la unidad <i>N</i> , <i>N'</i> -diacetilchitobiosil en glucopéptidos/glicoproteínas de alta manosa que contienen la estructura [Man (GlcNac) ₂]Asn.														
-Endo- β - <i>N</i> -acetylglucosaminidasa F (endo F)	Liberación de oligosacáridos de alta manosa, híbridos y complejos.														
-Endo- β - <i>N</i> -acetylglucosaminidasa H (endo H)	Liberación de oligosacáridos híbridos de alta manosa														
Etiquetar los glúcidos liberados con un agente fluorescente descrito en la tabla 2.2.59-2, por ejemplo: 2-aminobenzamida Analizar los glúcidos etiquetados por cromatografía de líquidos usando detección por fluorescencia.															
El siguiente procedimiento es dado como ejemplo:															
Fase móvil A: mezclar 9.8 mL de ácido fórmico anhidro y 500 mL de agua, ajustar a pH 4.0 y diluir a 1000 mL con agua.															
Fase móvil B: acetonitrilo.															
<p><i>Tabla 4.</i> Gradiente de separación de glúcidos.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (min)</th> <th>Fase móvil A (V/V)</th> <th>Fase móvil B (V/V)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 a 2</td> <td>20 → 30</td> <td>80 → 70</td> </tr> <tr> <td>2 a 67.0</td> <td>30 → 52</td> <td>70 → 48</td> </tr> <tr> <td>67.0 a 67.1</td> <td>52 → 80</td> <td>48 → 20</td> </tr> </tbody> </table>		Tiempo (min)	Fase móvil A (V/V)	Fase móvil B (V/V)	0 a 2	20 → 30	80 → 70	2 a 67.0	30 → 52	70 → 48	67.0 a 67.1	52 → 80	48 → 20		
Tiempo (min)	Fase móvil A (V/V)	Fase móvil B (V/V)													
0 a 2	20 → 30	80 → 70													
2 a 67.0	30 → 52	70 → 48													
67.0 a 67.1	52 → 80	48 → 20													

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
67.1 a 73.0 80 20		
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. Etiquetar 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.		
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.		
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.		
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.		
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 X 25 cm. Temperatura de 35 °C.		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>velocidad de flujo, 0.4 mL/min, volumen de inyección de 10 µL. Temperatura del automuestreador de 2 a 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 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). 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). 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>A = suma de las áreas de picos de N-glúcidos neutros B = suma de las áreas de picos de N-glúcidos sializados</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Nota: los picos 2 y 3 son picos separados, pero se integran juntos.</p>		
<p>Límites. Porcentaje de N-glúcidos neutros: cumple las especificaciones del fabricante. Porcentaje de N-glúcidos sialidados: cumple las especificaciones del fabricante.</p>		
<p>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 para cada condición. Correr en geles de 1.0 mm de grosor y con gel de separación de 8 a 16% de acrilamida.</p>		
<p>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 buffer 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. 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.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Solución de referencia (e). Solución de marcadores de masa molecular para calibrar los geles SDS-poliacrilamida en el intervalo de 5-200 kDa.</p> <p>Tratamiento de la muestra. Calentar a 90°-105 °C por 5 min y cargar inmediatamente el gel, esta muestra no es estable después de transcurridos 15 min.</p> <p>Aplicación. 10 µL.</p> <p>Detección. Por tinción con plata.</p> <p>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, 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, 35kDa, 55kDa, 200kDa pueden estar presentes.</p>		
<p>Aptitud del sistema. Las bandas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (a) son claramente visibles;</p> <p>La banda obtenida en el electroferograma obtenido con las soluciones de referencia (b), (c) y (d) es claramente visible;</p> <p>Todas las bandas esperadas en el electroferograma obtenido con la solución de referencia (e) son visibles y claramente separadas.</p>		
<p>Resultados. El electroferograma obtenido con la solución de prueba es similar al electroferograma obtenido con la solución de referencia (a).</p> <p>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).</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>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 08%. Solución A. Disolver 8.8g de cloruro de sodio y 15.6 g de fosfato de sodio monobásico en 900 mL de agua para cromatografía y aforar a 1000 mL con el mismo solvente. Solución B. Disolver 8.75g d cloruro de sodio y 14.2 g de fosfato de sodio dibásico anhidro en 900 mL de agua para cromatografía y aforar a 1000 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 (5µm) 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. 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.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*						
<p>Adecuabilidad del sistema, solución de referencia:</p> <ul style="list-style-type: none"> El cromatograma obtenido es cualitativamente similar al del proporcionado con SRef Etanercept. Resolución, no menos de 1.7 entre los picos de las especies de alto peso molecular y el monómero de Etanercept. Número de platos teóricos. No menor a 3,000 calculados con respecto al pico del monómero de Etanercept. <p>Criterios de aceptación: La suma de los picos eluidos antes del pico principal no debe exceder el 8.0 %.</p>								
<p>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 1950 mL con el mismo solvente; ajustar a pH 7.0 con ácido fosfórico y llevar a 2000 mL con agua. Fase móvil B. Disolver 28.4 g de fosfato de sodio dibásico anhidro en agua y disolver en 1950 mL con el mismo solvente; ajustar a pH 7.0 con ácido fosfórico y llevar a 2000 mL con agua.</p>								
<p><i>Tabla 5. Condiciones cromatográficas.</i></p> <table border="1" data-bbox="128 1052 739 1149"> <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 a 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 a 50	100→ 0	0→ 100		
Tiempo, min	Fase móvil A, % v/v	Fase móvil B, % v/v						
0 a 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. Solución de la muestra. Diluir la muestra de Etanercept en agua hasta obtener una concentración de 2 mg/mL. Condiciones del equipo. 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 X 3.5 cm. Temperatura</p>								

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>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 emitido por el proveedor.</p> <p>Los picos 1 y 3 están claramente separados del pico de Etanercept.</p> <p>Procedimiento. Inyectar al cromatógrafo la solución de referencia y solución de la muestra. Registrar y comparar los cromatogramas.</p> <p>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.</p> <p>Criterios de aceptación.</p> <p>Pico 1, máximo 5%</p> <p>Pico 3, máximo 28%</p> <p>Suma de todos los picos diferentes al pico principal, máximo 30%.</p>		
<p>PROTEÍNAS DERIVADAS DE CÉLULA HOSPEDERA. No más de 100 ppm.</p>		
<p>ADN DERIVADO DE LA CÉLULA HOSPEDERA. No más de 10 ng por dosis.</p>		
<p>CONTENIDO MICROBIANO No más de 1 UFC/mL</p>		
<p>ENDOTOXINAS. MGA 0316. Cumple las especificaciones del fabricante.</p>		
<p>POTENCIA</p> <p>La potencia de Etanercept es determinada por la comparación de diluciones de la preparación de prueba con las diluciones de Etanercept BRP utilizando un ensayo biológico apropiado basado en la acción inhibitoria de Etanercept en la actividad biológica de</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>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>		
<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. Posteriormente, diluye con medio de ensayo para obtener una concentración de trabajo adecuada.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>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). Adiciona 300 μL de medio de ensayo y 300 μL de solución de trabajo de TNFα en lo 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 a 38.0 °C por 30 - 60 min en una incubadora humidificada usando 5 \pm 2 % CO₂.</p>		
<p>Nota: cuando se utilicen placas de 96 pozos, adaptar el volumen de muestra, la solución de prueba de TNFα y el medio de ensayo, según corresponda.</p>		
<p>Preparación de células. Una densidad celular entre 3.0 x 10⁵ y 1.0 x 10⁶ células/mL es adecuada, y la viabilidad celular en no menos del 95 %.</p>		
<p>Plaqueo de solución de prueba, solución de referencia, controles y células: transferir 60 μL de cada preparación a los pozos correspondientes. Mezclar la suspensión celular y adiciona 60 μL a cada pozo. Mezclar el contenido de las placas en un agitador por 5 min. Incubar las placas a 36.0 a 38.0 °C por 2 a 2.5 h en una incubadora humidificada usando 5 \pm 2 % CO₂.</p>		
<p>Nota: cuando se utilicen placas de 96 pozos, adaptar el volumen de muestra, la solución de prueba de TNFα y el medio de ensayo, según corresponda.</p>		
<p>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 μL a cada pozo de las placas de ensayo. Agitar las</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>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 luminiscencia por un período mínimo de 1 s por pozo.</p> <p>Calcular la potencia de la preparación a ser examinada usando el modelo logístico de cuatro parámetros.</p>		
<p>Aptitud del sistema. Relación del valor máximo (control TNFα) al valor mínimo (sólo células) el cual debe ser mayor o igual a 3.0.</p>		
<p>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.</p>		
<p>MEDICAMENTO BIOTECNOLÓGICO</p>		
<p>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 una preparación transparente, incolora a amarillo claro o marrón pálido, libre de partículas.</p>		
<p>CONTENIDO DE PROTEÍNA. MGA 0361. 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 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 Etanercept. Contiene 25 mg o 50 mg de Etanercept por contenedor dosis.</p>		

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

Dice	Debe decir	Justificación*
Contiene de 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 VOLUMEN. 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.