

INSULINA GLARGINA

SOLUCIÓN INYECTABLE

Definición - La Solución Inyectable de Insulina Glargina es una solución acuosa, estéril y ácida de *Insulina Glargina en Agua para Inyectables*. Debe contener no menos de 95,0 por ciento y no más de 105,0 por ciento de la cantidad declarada de $C_{267}H_{404}N_{72}O_{78}S_6$. La Solución Inyectable de Insulina Glargina debe cumplir los requisitos para *Inyectables en 1050. Formas farmacéuticas* y con las siguientes especificaciones. [NOTA: 100 unidades equivalen a 3,64 mg de insulina glargina.]

Sustancias de referencia - Insulina Glargina SR-FA. Insulina Glargina para la identificación de picos SR-FA (contiene insulina glargina y 0^A -Arg-insulina glargina).

CONSERVACIÓN

En envases herméticos, con cierre de seguridad, apirógenos y estériles. Conservar de 2 a 8 °C. No congelar. Proteger de la luz.

ENSAYOS

Identificación

Examinar los cromatogramas obtenidos en *Valoración*. El tiempo de retención del pico correspondiente a la insulina en el cromatograma obtenido a partir de la *Preparación muestra* se debe corresponder con el de la *Preparación estándar*.

Determinación del pH <250>

Entre 3,5 y 4,5.

Proteínas relacionadas

Sistema cromatográfico, Solución reguladora, Solución A, Solución B, Fase móvil, Solución de resolución y Aptitud del sistema - Proceder según se indica en *Valoración*.

[NOTA: almacenar las soluciones a una temperatura de 2 a 8 °C].

Solución muestra - Emplear la *Preparación muestra* de *Valoración*.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo aproximadamente 5 µL de la *Solución muestra* y registrar las respuestas de todos los picos: la respuesta de ningún pico secundario debe ser mayor a 0,5 % y la suma de las respuestas de todos los picos secundarios no debe ser mayor a 2,0 %.

Impurezas con masa molecular mayor que la Insulina Glargina

Sistema cromatográfico - Examinar por cromatografía de exclusión por tamaño molecular empleando un detector ultravioleta ajustado a 276 nm y dos columnas de acero inoxidable de 30 cm × 8,0 mm, acopladas en serie, con fase estacionaria

constituida por gel de sílice hidrofílico de 5 µm de diámetro con un tamaño de poro de 15 nm, en un grado adecuado para el fraccionamiento de proteínas globulares en el rango de peso molecular de 2.000 a 80.000. El caudal debe ser aproximadamente 0,5 mL por minuto.

Fase móvil - Mezclar 200 mL de ácido acético anhidro, 300 mL de acetonitrilo para cromatografía y 400 mL de agua, ajustar a pH 3,0 con amoníaco concentrado y diluir a 1.000 mL con agua. Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema en 100. Cromatografía*).

Solución muestra - Diluir la Solución Inyectable de Insulina Glargina, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 1,5 mg de insulina glargina por mL.

Solución muestra diluida - Diluir 1,0 mL *Solución muestra* a 100,0 mL con agua. Diluir 3,0 mL de la solución anterior a 20,0 mL con agua.

Solución de resolución - Secar un vial de Insulina Glargina SR-FA a 100 °C durante 1,5 a 3 horas. Disolver el contenido del vial en 1,5 mL de ácido clorhídrico 0,01 M y diluir a 10,0 mL con agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) -

Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención para insulina glargina debe ser de aproximadamente 35 minutos; el factor de asimetría para el pico debido a insulina glargina no debe ser mayor a 2,0; la relación pico/valle *p/v* determinada por la relación entre la altura del pico debido a las proteínas de alto peso molecular *Hp* y la altura del valle de separación entre este pico y el pico correspondiente a insulina glargina *Hv* debe ser mayor o igual a 2,0. Cromatografiar la *Solución muestra diluida* según se indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido debe ser mayor o igual a 10.

Procedimiento - Inyectar en el cromatógrafo 100 µL de la *Solución muestra*, registrar el cromatograma durante al menos 1,8 veces el tiempo de retención del pico debido a insulina glargina [NOTA: el volumen de inyección puede disminuirse si se observa que el pico principal se parte]. Medir las respuestas de los picos: el total de impurezas con un tiempo de retención menor que el de insulina glargina debe ser menor o igual al 0,3 % del área total de los picos; descartar cualquier pico con un tiempo de retención mayor que el del pico debido a la insulina glargina.

Cinc total

Solución madre del estándar de Cinc (10 µg por mL) - Realizar una dilución 1 en 10 de la *Solución de Cinc (100 ppm Zn) (SL)* con agua. [NOTA: preparar inmediatamente antes de su uso].

Soluciones estándar - Preparar soluciones que contengan 0,2; 0,4 y 0,6 µg de cinc por mililitro mediante la dilución de la *Solución madre del estándar (10 µg/mL)* con ácido clorhídrico 0,01 M [NOTA: preparar estas soluciones en el momento de su uso].

Solución muestra - Diluir la *Solución Inyectable* de Insulina Glargina con ácido clorhídrico 0,01 M para obtener una solución que contenga por ejemplo, entre 0,2 y 0,6 µg de cinc por mL.

Procedimiento - Determinar las absorbancias de las *Soluciones estándar* y la *Solución muestra* en la línea de emisión del cinc a 213,9 nm, con un espectrofotómetro de absorción atómica equipado con una lámpara de cinc de cátodo hueco y una llama de acetileno-aire (aproximadamente 2 litros de acetileno y 11 litros de aire por minuto). Graficar las absorbancias de las *Soluciones estándar* en función de la concentración en µg por mL de cinc y determinar la cantidad de cinc en la *Solución muestra*: debe contener entre 27 µg y 33 µg cada 100 unidades de insulina glargina.

Ensayo de endotoxinas bacterianas <330>

Debe contener menos de 80 Unidades de Endotoxina cada 100 unidades de insulina glargina.

Ensayos de esterilidad <370>

Debe cumplir con los requisitos.

VALORACIÓN

Sistema cromatográfico - Emplear un equipo para cromatografía de líquidos con un detector ajustado a 214 nm y una columna de 25 cm × 3,0 mm con fase estacionaria totalmente encapada constituida por octadecilsilano químicamente unido a partículas esféricas de sílice de 4 µm de diámetro. Mantener la temperatura de la columna a 35 °C. El caudal debe ser aproximadamente 0,6 mL por minuto. Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (minutos)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0 - 20	96→83	4→17	Gradiente lineal
20 - 30	83→63	17→37	Gradiente lineal
30 - 40	63→96	37→4	Gradiente lineal
40 - 48	96	4	Re equilibrio

Solución reguladora - Disolver 20,7 g de fosfato dihidrógeno de sodio anhidro en 900 mL de agua, ajustar a pH 2,5 con ácido fosfórico y diluir a 1.000 mL con agua.

Solución A - Disolver 18,4 g de cloruro de sodio en 250 mL de *Solución reguladora*, agregar 250 mL de acetonitrilo y mezclar. Diluir a 1.000 mL con agua. Filtrar y desgasificar.

Solución B - Disolver 3,2 g de cloruro de sodio en 250 mL de *Solución reguladora*, agregar 650 mL de acetonitrilo y mezclar. Diluir a 1.000 mL con agua. Filtrar y desgasificar.

Fase móvil - Emplear mezclas variables de *Solución A* y *Solución B* según se indica en *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100. *Cromatografía*).

[NOTA: Almacenar las siguientes soluciones a una temperatura entre 2 °C y 8°C].

Preparación estándar - Disolver el contenido de un vial de Insulina Glargina SR-FA en 1,5 mL de ácido clorhídrico 0,01 M y diluir a 10,0 mL con agua.

Preparación muestra - Diluir la *Solución Inyectable* de Insulina Glargina, si fuera necesario, con agua para obtener una solución de aproximadamente 1,5 mg de insulina glargina por mL.

Solución de resolución - Disolver el contenido de un vial de Insulina Glargina para identificación de picos SR-FA en 0,3 mL de ácido clorhídrico 0,01M y añadir 1,7 mL de agua.

Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de resolución* y registrar las respuestas de los picos según se indica en *Procedimiento*: el tiempo de retención del pico correspondiente a insulina glargina debe encontrarse entre 18 y 23 minutos; la relación pico/valle *p/v* determinada por la relación entre la altura del pico debido a 0^A-Arg-insulina glargina *Hp* y la altura del valle de separación entre este pico y el pico correspondiente a insulina glargina *Hv* debe ser mayor o igual a 2,0.

Procedimiento - Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 5 µL) de la *Preparación estándar* y la *Preparación muestra* y registrar las respuestas de los picos principales. Calcular la cantidad de C₂₆₇H₄₀₄N₇₂O₇₈S₆ en la *Solución Inyectable* de Insulina Glargina, de acuerdo a la cantidad declarada.

ROTULADO

Indicar en el rótulo la potencia en unidades por de insulina glargina por mL.