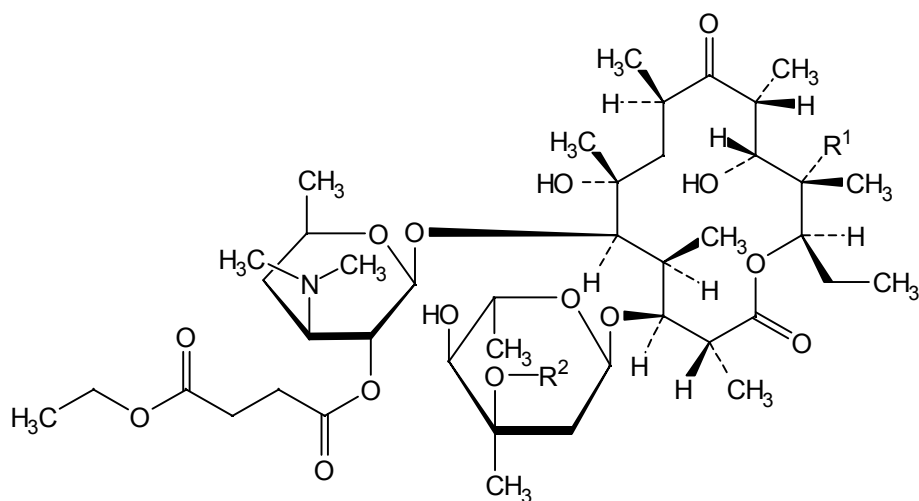


ERYTHROMYCINI ETHYLSUCCINAS

RZ¹:0274

Erythromycin-ethylsukcinát



Ethylsukcinát	Sumární vzorec	M_r	R ¹	R ²
erythromycinu A	C ₄₃ H ₇₅ NO ₁₆	862,06	OH	CH ₃
erythromycinu B	C ₄₃ H ₇₅ NO ₁₅	846,06	H	CH ₃
erythromycinu C	C ₄₂ H ₇₃ NO ₁₆	848,03	OH	H

DEFINICE

Je to směs ethylsukcinátů erythromycinu.

Hlavní složka. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6- {[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-2-*O*-(4-ethoxy-4-oxobutanoyl)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy}-1-oxacyklotetradekan-2,10-dion (erythromycin A-2"-ethylsukcinát).

Semisyntetický produkt odvozený z fermentačního produktu získaného za použití mikroorganismu *Streptomyces erythreus*.

Obsah:

- součet obsahů erythromycinů A, B a C, vyjádřeno jako ethylsukcináty: 93,0 % až 102,0 % (bezvodá látka);
- erythromycin B-ethylsukcinát: nejvýše 5,0 % (bezvodá látka);
- erythromycin C-ethylsukcinát: nejvýše 5,0 % (bezvodá látka).

¹ Text byl zezávacněn Výborem pro farmaceutika a farmaceutickou péči Rady Evropy v souladu s Úmluvou pro vypracování Evropského lékopisu rozhodnutím AP-CPH (17) 1 od 1. května 2017.

VLASTNOSTI

Vzhled. Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, je hygroskopický.

Rozpustnost. Prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v ethanolu bezvodém a v methanolu.

ZKOUŠKY TOTOŽNOSTI

Infračervená absorpční spektrofotometrie (2.2.24).

Porovnání. S *erythromycin-ethylsukcinátem CRL*.

ZKOUŠKY NA ČISTOTU

Příbuzné látky. Kapalinová chromatografie (2.2.29).

Hydrolyzační roztok. Roztok *hydrogenfosforečnanu draselného R* (20 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 8,0.

Zkoušený roztok. 0,115 g se rozpustí ve 25 ml *methanolu R*, přidá se 20 ml hydrolyzačního roztoku, promíchá se, nechá se stát nejméně 12 h při teplotě místnosti; zředí se hydrolyzačním roztokem na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 40,0 mg *erythromycinu A CRL* se rozpustí v 10 ml *methanolu R* a zředí se hydrolyzačním roztokem na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *erythromycinu B CRL* a 10,0 mg *erythromycinu C CRL* se rozpustí v 50 ml *methanolu R*, přidá se 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se hydrolyzačním roztokem na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 2 mg *N-demethylerythromycinu A CRL* se rozpustí ve 20 ml porovnávacího roztoku (b).

Porovnávací roztok (d). 3,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a hydrolyzačního roztoku na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 40 mg *erythromycinu A CRL* se nejprve 3 h zahřívá při 130 °C, pak se rozpustí v 10 ml *methanolu R* a zředí se hydrolyzačním roztokem na 20 ml.

Kolona:

- *rozměry:* délka 0,25 m, vnitřní průměr 4,6 mm;
- *stacionární fáze:* styrendivinybenzen-kopolymer R (8 µm) o velikosti pórů 100 nm;
- *teplota:* 70 °C; kolona a nejméně 1/3 spojovací kapiláry před kolonou se udržuje na této teplotě ve vodní lázni.

Mobilní fáze. K 50 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (35 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 8,0, se přidá 400 ml *vody R*, 165 ml *terc-butylalkoholu R* a 30 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

Průtoková rychlost. 2,0 ml/min.

Detekce. Spektrofotometrický detektor, 215 nm.

Nástřik. 200 µl; zkoušený roztok a porovnávací roztoky (a), (c), (d) a (e).

Doba záznamu. Pětinásobek retenčního času erythromycinu A; počátek integrace po eluci hydrolyzačního píku.

Relativní retence vztažená k erythromycinu A (retenční čas asi 15 min). Hydrolyzační pík méně než 0,3; nečistota B asi 0,45; erythromycin C asi 0,5; nečistota C asi 0,9; nečistota G asi 1,3; nečistota D asi 1,4; nečistota F asi 1,5; erythromycin B asi 1,8; nečistota E asi 4,3.

Test způsobilosti, porovnávací roztok (c):

– *rozlišení:* nejméně 0,8 mezi píkem nečistoty B a píkem erythromycinu C a nejméně 5,5 mezi píkem nečistoty B a píkem erythromycinu A.

Limity:

– *korekční faktory:* pro výpočet obsahů se plochy píků následujících nečistot vynásobí odpovídajícími korekčními faktory: 0,09 pro nečistotu E; 0,15 pro nečistotu F; 0,14 pro nečistotu G; k určení píků nečistot E a F se použije chromatogram porovnávacího roztoku (e);

– *jakákoliv nečistota:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (3,0 %);

– *celkový obsah nečistot:* nejvýše 1,67násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (5,0 %);

– *limit zanedbatelnosti:* 0,02násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,06 %).

Volný erythromycin. Kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,250 g se rozpustí v *acetonitrilu R1* a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 75,0 mg *erythromycinu A CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R1* a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *acetonitrilem R1* na 25,0 ml.

Kolona:

– *rozměry:* délka 0,25 m, vnitřní průměr 4,6 mm;

– *stacionární fáze:* silikagel pro chromatografii oktylsilylovaný R (5 µm);

– *teplota:* 30 °C.

Mobilní fáze. Směs objemových dílů *acetonitrilu R1* a roztoku obsahujícího *dihydrogenfosforečnan draselný R* (3,4 g/l) a *triethylamin R* (2,0 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 3,0, (35 + 65).

Průtoková rychlost. 1 ml/min.

Detekce. Spektrofotometrický detektor, 195 nm.

Nástřik. 20 µl.

Doba záznamu. Dvojnásobek retenčního času erythromycinu A (retenční čas asi 8 min) pro porovnávací roztok a dvojnásobek retenčního času erythromycin-ethylsukcinátu (retenční čas asi 24 min) pro zkoušený roztok.

Limit:

– *volný erythromycin:* nejvýše plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (6,0 %).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky. Jako rozpouštědlo se použije roztok *imidazolu R* (100 g/l) v *methanolu bezvodém R*.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

STANOVENÍ OBSAHU

Kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví těsně před použitím (kromě zkoušeného roztoku).*

Roztok A (hydrolyzační roztok). 11,5 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 8,0 a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

Rozpouštěcí směs. Směs objemových dílů *methanolu R* a roztoku A (40 + 60).

Zkoušený roztok. 11,5 mg se rozpustí ve 2,5 ml *methanolu R*. Přidají se 2 ml roztoku A, promíchá se a nechá se stát při teplotě místnosti nejméně 12 h. Zředí se roztokem A na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 40,0 mg *erythromycinu A CRL* se rozpustí v 10,0 ml *methanolu R* a zředí se roztokem A na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *erythromycinu B CRL* a 10,0 mg *erythromycinu C CRL* se rozpustí v 50,0 ml *methanolu R* a zředí se roztokem A na 100,0 ml.

Kolona:

– *rozměry:* délka 0,25 m, vnitřní průměr 4,6 mm;

– *stacionární fáze:* *organokřemičitý amorfní polymer okta-decylsilylovaný s vloženými polárními vazbami s odstíněnými silanolovými skupinami R* (3,5 µm);

– *teplota*: 65 °C; může být potřebné přehřát mobilní fázi, což lze provést například prodloužením vstupní kapiláry v kolonovém termostatu na 30 cm.

Mobilní fáze:

- *mobilní fáze A*: směs objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 R7*, *acetonitrilu R1* a *vody R* (5 + 35 + 60);
- *mobilní fáze B*: směs objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 R7*, *vody R* a *acetonitrilu R1* (5 + 45 + 50).

Čas (min)	Mobilní fáze A (% V/V)	Mobilní fáze B (% V/V)
0– t_R	100	0
t_R –($t_R + 2$)	100 → 0	0 → 100
($t_R + 2$)–($t_R + 15$)	0	100

t_R = retenční čas erythromycinu B stanovený takto: nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b) a eluuje se mobilní fází A

Průtoková rychlost. 1,0 ml/min.

Detekce. Spektrofotometrický detektor, 210 nm.

Automatický dávkovač. Nastaví se na 4 °C.

Nástřik. 200 μ l.

Test způsobilosti, porovnávací roztok (a):

- *faktor symetrie*: nejvýše 2,0 pro pík erythromycinu A;
- *opakovatelnost*: relativní směrodatná odchylka je nejvýše 1,0 % po šesti nástřicích.

Obsah erythromycinu A ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) v procentech se vypočítá za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Obsahy erythromycinu B ($C_{37}H_{67}NO_{12}$) a erythromycinu C ($C_{36}H_{65}NO_{13}$) v procentech se vypočítají za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

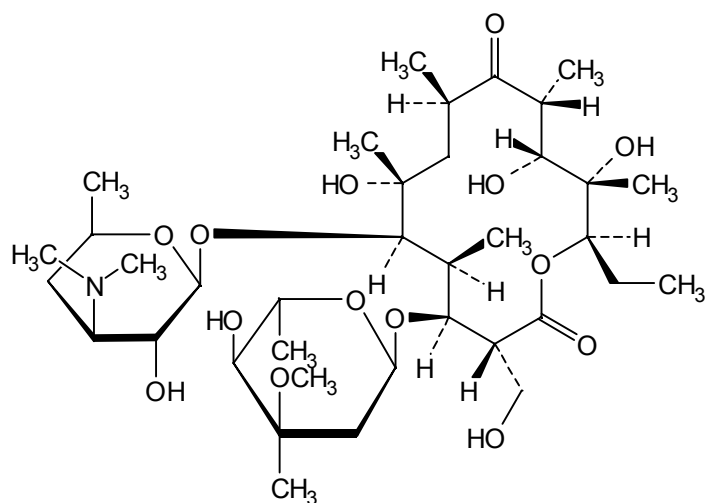
Výsledky se vyjádří jako erythromycin A-ethylsukcinát, erythromycin B-ethylsukcinát a erythromycin C-ethylsukcinát vynásobením obsahu erythromycinu A v procentech faktorem 1,1744, obsahu erythromycinu B v procentech faktorem 1,1783 a obsahu erythromycinu C v procentech faktorem 1,1777.

Pro výpočet obsahu erythromycin-ethylsukcinátu se použije součet obsahů erythromycinů A, B a C, vyjádřených jako ethylsukcináty, jak je uvedeno výše.

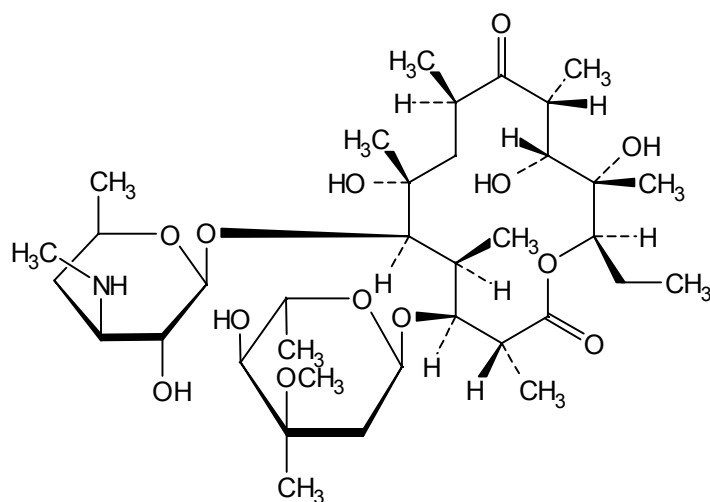
SKLADOVÁNÍ

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

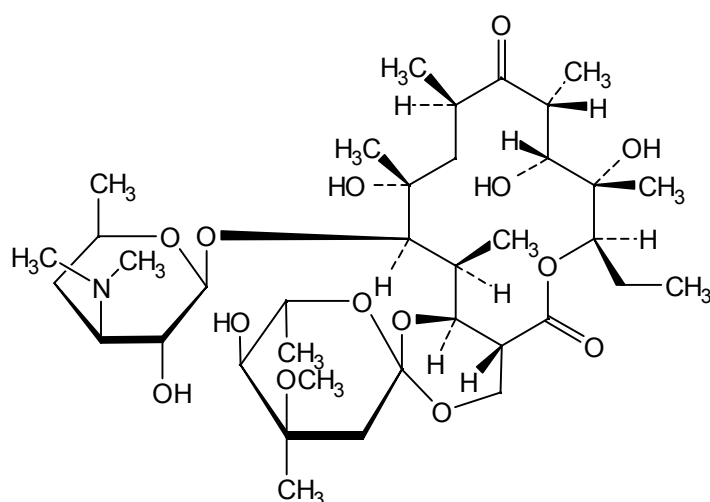
NEČISTOTY



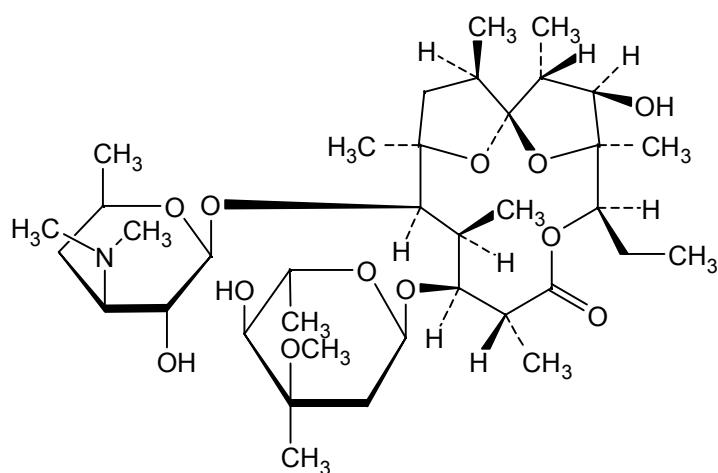
- A. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-5,7,9,11,13-pentamethyl-6-{[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xyllo-hexopyranosyl]oxy}-1-oxacyklotetradekan-2,10-dion (erythromycin F),



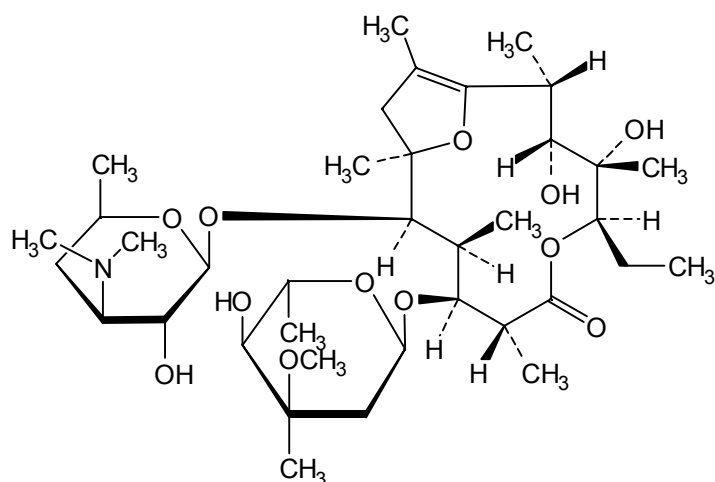
- B. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-{[3,4,6-trideoxy-3-(methylamino)- β -*D*-xyllo-hexopyranosyl]oxy}-1-oxacyklotetradekan-2,10-dion (3''-*N*-demethylerythromycin A),



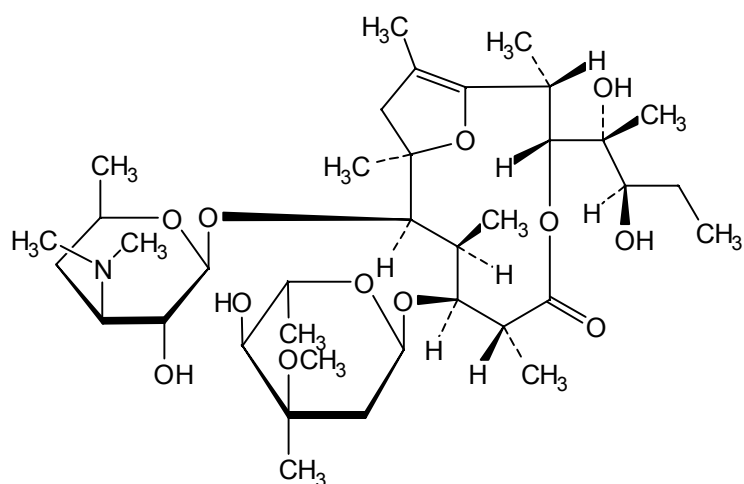
C. (2*S*,4*aR*,4'*R*,5'*S*,6'*S*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*,14*R*,15*R*,16*S*,16*aS*)-7-ethyl-5',8,9,14-tetrahydroxy-4'-methoxy-4',6',8,10,12,14,16-heptamethyl-15-{[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy} hexadekahydro-5*H*,11*H*-spiro[[1,3]dioxino[5,4-*c*][1]oxacyklotetradecin-2,2'-pyran]-5,11-dion (erythromycin E),



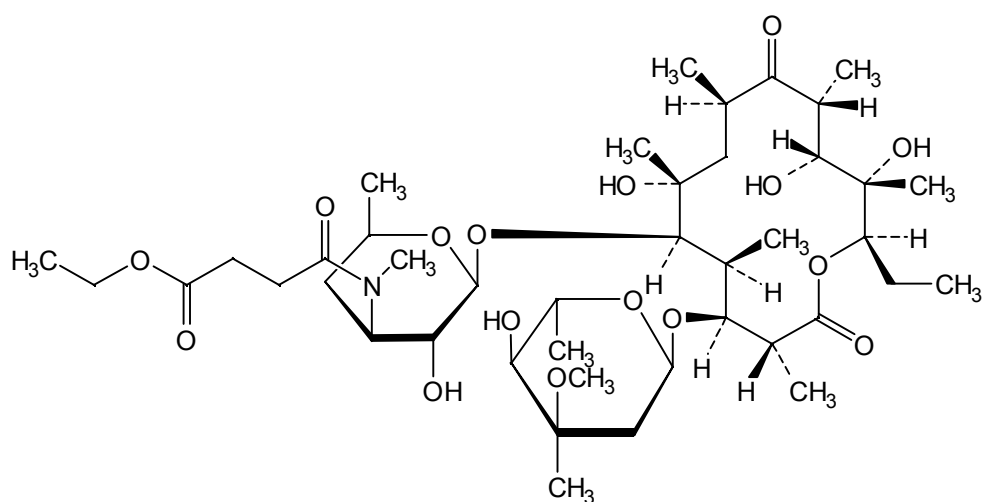
D. (1*S*,2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,11*R*,12*R*,14*R*)-9-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3-hydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-{[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy}-6,15,16-trioxatricyklo[10.2.1.1^{1,4}]tetradekan-7-on (anhydroerythromycin A),



E. (2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,11*R*,12*R*)-9-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3,4-dihydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-{[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy}-6,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadec-1(14)-en-7-on (enolether erythromycinu A),



F. (2*R*,3*R*,6*R*,7*S*,8*S*,9*R*,10*R*)-7-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-3-[(1*R*,2*R*)-1,2-dihydroxy-1-methylbutyl]-2,6,8,10,12-pentamethyl-9-{[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy}-4,13-dioxabicyclo[8.2.1]tridec-1(12)-en-5-on (enolether pseudoerythromycinu A),



G. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-{[3,4,6-trideoxy-3-[(4-ethoxy-4-oxobutanoyl)methylamino]- β -*D*-xyl-o-hexopyranosyl]oxy}-1-oxacyklotetradekan-2,10-dion (3''-*N*-demethyl-3''-*N*-propanoylerythromycin A).