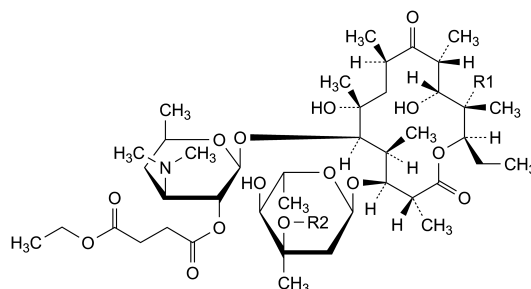


ÉRYTHROMYCINE (ÉTHYLSUCCINATE D')

Erythromycini ethylsuccinas



Erythromycine (éthylsuccinate d')	Formule brute	M_r	R1	R2
A	$C_{43}H_{75}NO_{16}$	862	OH	CH_3
B	$C_{43}H_{75}NO_{15}$	846	H	CH_3
C	$C_{42}H_{73}NO_{16}$	848	OH	H

DÉFINITION

Mélange d'esters d'éthylsuccinate de l'érythromycine.

Composant principal : (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-didésoxy-3-*C*-méthyl-3-*O*-méthyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexaméthyl-6-[[3,4,6-tridésoxy-3-(diméthylamino)-2-*O*-(4-éthoxy-4-oxobutanoyl)- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotétradécane-2,10-dione (2''-(succinate d'éthyle) d'érythromycine A).

Produit hémisynthétique dérivé d'un produit de fermentation obtenu à l'aide d'une souche de *Streptomyces erythreus*.

Teneur :

- somme des érythromycines A, B et C, exprimées en éthylsuccinate : 93,0 pour cent à 102,0 pour cent : (substance anhydre),
- éthylsuccinate d'érythromycine B : au maximum 5,0 pour cent (substance anhydre),
- éthylsuccinate d'érythromycine C : au maximum 5,0 pour cent (substance anhydre).

CARACTÈRES

Aspect : poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche, hygroscopique.

Solubilité : pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, dans l'éthanol anhydre et dans le méthanol.

IDENTIFICATION

Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge (2.2.24).

Comparaison : éthylsuccinate d'érythromycine SCR.

ESSAI

Substances apparentées. Chromatographie liquide (2.2.29).

Solution d'hydrolyse. Solution de *phosphate dipotassique R* à 20 g/L ajustée à pH 8,0 avec de l'*acide phosphorique R*.

Solution à examiner. Dissolvez 0,115 g d'éthylsuccinate d'érythromycine dans 25 mL de *méthanol R*. Ajoutez 20 mL de solution d'hydrolyse, mélangez et laissez reposer à température ambiante pendant au moins 12 h. Complétez à 50,0 mL avec la solution d'hydrolyse.

Solution témoin (a). Dissolvez 40,0 mg d'érythromycine A SCR dans 10 mL de *méthanol R* et complétez à 20,0 mL avec la solution d'hydrolyse.

Solution témoin (b). Dissolvez 10,0 mg d'érythromycine B SCR et 10,0 mg d'érythromycine C SCR dans 50 mL de *méthanol R*. Ajoutez 5,0 mL de solution témoin (a) et complétez à 100,0 mL avec la solution d'hydrolyse.

Solution témoin (c). Dissolvez 2 mg de *N-déméthylérythromycine A SCR* dans 20 mL de solution témoin (b).

Solution témoin (d). Prélevez 3,0 mL de solution témoin (a) et complétez à 100,0 mL avec un mélange à volumes égaux de *méthanol R* et de solution d'hydrolyse.

Solution témoin (e). Dissolvez 40 mg d'érythromycine A SCR, préalablement chauffée à 130 °C pendant 3 h, dans 10 mL de *méthanol R* et complétez à 20 mL avec la solution d'hydrolyse.

Colonne :

– *dimensions :* $l = 0,25 \text{ m}$, $\varnothing = 4,6 \text{ mm}$,

– *phase stationnaire :* copolymère styrène-divinylbenzène R (8 μm)⁽¹⁾ présentant un diamètre de pores de 100 nm,

– *température :* 70 °C, en utilisant un bain-marie pour la colonne et au moins un tiers de la tubulure précédant la colonne.

Phase mobile : à 50 mL d'une solution de *phosphate dipotassique R* à 35 g/L ajustée à pH 8,0 avec de l'*acide phosphorique dilué R*, ajoutez 400 mL d'*eau pour chromatographie R*, 165 mL de *2-méthyl-2-propanol R* et 30 mL d'*acétonitrile R1* et complétez à 1000 mL avec de l'*eau pour chromatographie R*.

Débit : 2,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 215 nm.

Injection : 200 μL de solution à examiner et des solutions témoins (a), (c), (d) et (e).

Enregistrement : 5 fois le temps de rétention de l'érythromycine A ; commencez l'intégration après le pic d'hydrolyse.

Rétention relative par rapport à l'érythromycine A (temps de rétention = environ 15 min) : pic d'hydrolyse = inférieur à 0,3 ; impureté B = environ 0,45 ; érythromycine C = environ 0,5 ; impureté C = environ 0,9 ; impureté G = environ 1,3 ; impureté D = environ 1,4 ; impureté F = environ 1,5 ; érythromycine B = environ 1,8 ; impureté E = environ 4,3.

Conformité du système : solution témoin (c) :

(1) PLRP-S 1000 Å convient.

- 1
2 – *résolution* : au minimum 0,8 entre les pics dus à l'impureté B et à l'érythromycine C
3 et au minimum 5,5 entre les pics dus à l'impureté B et à l'érythromycine A.

4 *Limites* :

- 5 – *facteurs de correction* : pour le calcul des teneurs, multipliez la surface du pic des
6 impuretés suivantes par le facteur de correction correspondant : impureté E = 0,09 ;
7 impureté F = 0,15 ; impureté G = 0,14 ; utilisez le chromatogramme obtenu avec la
8 solution témoin (e) pour identifier les pics dus aux impuretés E et F ;
9
10 – *toute impureté* : au maximum la surface du pic principal du chromatogramme obtenu
11 avec la solution témoin (d) (3,0 pour cent) ;
12 – *total* : au maximum 1,67 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu
13 avec la solution témoin (d) (5,0 pour cent) ;
14 – *limite d'exclusion* : 0,02 fois la surface du pic principal du chromatogramme obtenu
15 avec la solution témoin (d) (0,06 pour cent).

16 **Erythromycine libre.** Chromatographie liquide (2.2.29).

17 *Solution à examiner.* Dissolvez 0,250 g d'éthylsuccinate d'érythromycine dans de
18 l'acétonitrile R1 et complétez à 50,0 mL avec le même solvant.

19 *Solution témoin.* Dissolvez 75,0 mg d'érythromycine A SCR dans de l'acétonitrile R1 et
20 complétez à 50,0 mL avec le même solvant. Prélevez 5,0 mL de solution et complétez à
21 25,0 mL avec de l'acétonitrile R1.
22

23 *Colonne* :

- 24 – *dimensions* : $l = 0,25$ m, $\varnothing = 4,6$ mm,
25 – *phase stationnaire* : gel de silice octylsilylé pour chromatographie R⁽²⁾ (5 μ m),
26 – *température* : 30 °C.

27 *Phase mobile* : mélangez 35 volumes d'acétonitrile R1 et 65 volumes d'une solution
28 contenant 3,4 g/L de phosphate monopotassique R et 2,0 g/L de triéthylamine R,
29 préalablement ajustée à pH 3,0 avec de l'acide phosphorique dilué R.
30

31 *Débit* : 1 mL/min.

32 *Détection* : spectrophotomètre à 195 nm.

33 *Injection* : 20 μ L.

34 *Enregistrement* : 2 fois le temps de rétention de l'érythromycine A (temps de
35 rétention = environ 8 min) pour la solution témoin et 2 fois le temps de rétention de
36 l'éthylsuccinate d'érythromycine (temps de rétention = 24 min) pour la solution à
37 examiner.
38

39 *Limite* :

- 40 – *érythromycine libre* : au maximum la surface du pic principal du chromatogramme
41 obtenu avec la solution témoin (6,0 pour cent).
42

43 **Eau (2.5.12)** : au maximum 3,0 pour cent, déterminé sur 0,300 g d'éthylsuccinate
44 d'érythromycine.

45 Utilisez comme solvant une solution d'imidazole R à 100 g/L dans du méthanol
46 anhydre R.
47

(2) Nucleosil C8 convient.

Cendres sulfuriques (2.4.14) : au maximum 0,3 pour cent, déterminé sur 1,0 g d'éthylsuccinate d'érythromycine.

DOSAGE

Chromatographie liquide (2.2.29). Préparez les solutions (autres que la solution à examiner) immédiatement avant l'emploi.

Solution A (solution d'hydrolyse). Dissolvez 11,5 g de *phosphate dipotassique R* dans 900 mL d'eau R, ajustez à pH 8,0 avec de l'*acide phosphorique dilué R* et complétez à 1000 mL avec de l'eau R.

Mélange de solvants : méthanol R, solution A (40:60 V/V).

Solution à examiner. Dissolvez 11,5 mg d'éthylsuccinate d'érythromycine dans 2,5 mL de méthanol R. Ajoutez 2 mL de solution A, mélangez et laissez reposer à température ambiante pendant au moins 12 h. Complétez à 5,0 mL avec la solution A.

Solution témoin (a). Dissolvez 40,0 mg d'érythromycine A SCR dans 10,0 mL de méthanol R et complétez à 20,0 mL avec la solution A.

Solution témoin (b). Dissolvez 10,0 mg d'érythromycine B SCR et 10,0 mg d'érythromycine C SCR dans 50,0 mL de méthanol R et complétez à 100,0 mL avec la solution A.

Colonne :

- *size* : $l = 0,25$ m, $\varnothing = 4,6$ mm,
- *phase stationnaire* : polymère d'organosilice amorphe octadécylsilylé à groupement polaire intercalé, postgreffé R ($3,5 \mu\text{m}$)⁽³⁾,
- *température* : 65 °C ; un préchauffage de la phase mobile peut être nécessaire, en plaçant, par exemple, 30 cm de la tubulure d'arrivée dans l'étuve.

Phase mobile :

- *phase mobile A* : solution tampon phosphate pH 7,0 R7, acétonitrile R1, eau pour chromatographie R (5:35:60 V/V/V),
- *phase mobile B* : solution tampon phosphate pH 7,0 R7, eau pour chromatographie R, acétonitrile R1 (5:45:50 V/V/V),

Intervalle ⁽⁴⁾ (min)	Phase mobile A (pour cent V/V)	Phase mobile B (pour cent 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 = temps de rétention de l'érythromycine B, déterminé en injectant 20 μL de solution témoin (b) et en éluant avec la phase mobile A

Débit : 1,0 mL/min.

Détection : spectrophotomètre à 210 nm.

Echantillonneur automatique : réglé à 4 °C.

Injection : 200 μL .

Conformité du système : solution témoin (a) :

(3) XTerra RP18 convient.

(4) D_0 (volume de délai utilisé pour le développement de la méthode) = 2,5 mL.

- 1
2 – *facteur de symétrie* : au maximum 2,0 pour le pic dû à l'érythromycine A,
3 – *répétabilité* : au maximum 1,0 pour cent pour l'écart type relatif déterminé sur
4 6 injections.

5
6 Calculez la teneur pour cent en érythromycine A ($C_{37}H_{67}NO_{13}$) en utilisant le
7 chromatogramme obtenu avec la solution témoin (a). Calculez les teneurs pour cent
8 en érythromycine B ($C_{37}H_{67}NO_{12}$) et en érythromycine C ($C_{36}H_{65}NO_{13}$) en utilisant le
9 chromatogramme obtenu avec la solution témoin (b).

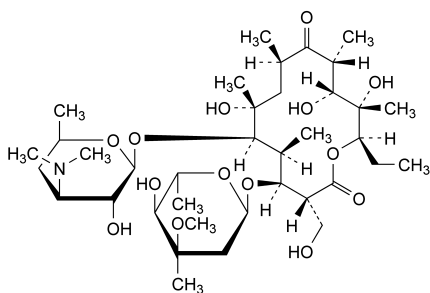
10 Exprimez les résultats en éthylsuccinate d'érythromycine A, éthylsuccinate
11 d'érythromycine B et éthylsuccinate d'érythromycine C en multipliant la teneur pour
12 cent en érythromycine A par 1,1744, la teneur pour cent en érythromycine B par 1,1783
13 et la teneur pour cent en érythromycine C par 1,1777.

14 Pour le calcul de la teneur en éthylsuccinate d'érythromycine, utilisez la somme des
15 érythromycines A, B et C exprimées en éthylsuccinate comme décrit ci-dessus.
16

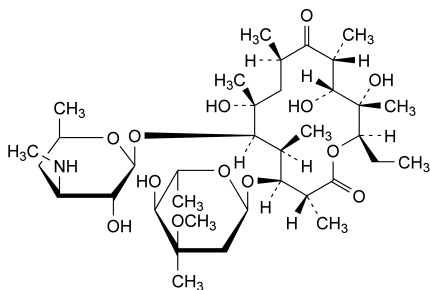
17 CONSERVATION

18 En récipient étanche, à l'abri de la lumière.

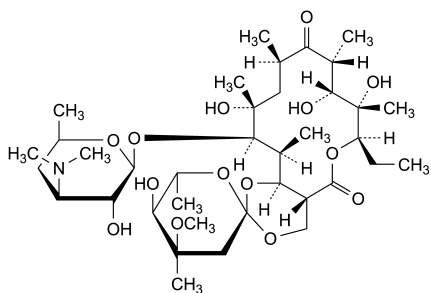
20 IMPURETÉS



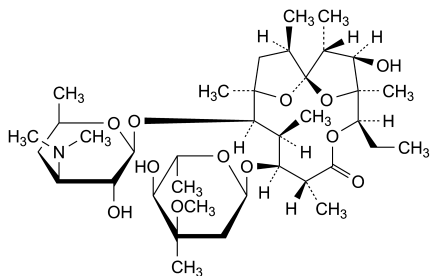
31 A. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-didésoxy-3-*C*-méthyl-3-*O*-méthyl-
32 α-*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-3-(hydroxyméthyl)-
33 5,7,9,11,13-pentaméthyl-6-[[3,4,6-tridésoxy-3-(diméthylamino)-β-*D*-xyllo-
34 hexopyranosyl]oxy]oxacyclotétradécane-2,10-dione (érythromycine F),
35



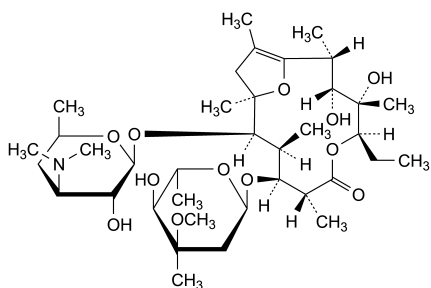
44 B. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-didésoxy-3-*C*-méthyl-3-
45 *O*-méthyl-α-*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-
46 3,5,7,9,11,13-hexaméthyl-6-[[3,4,6-tridésoxy-3-(méthylamino)-β-
47 *D*-xyllo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotétradécane-2,10-dione (3''-*N*-
déméthylérythromycine A),



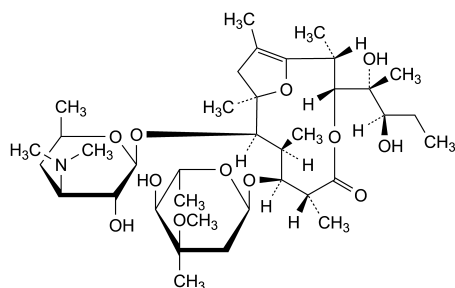
- C. (2S,4aR,4'R,5'S,6'S,7R,8S,9R,10R,12R,14R,15R,16S,16aS)-7-éthyl-5',8,9,14-tétrahydroxy-4'-méthoxy-4',6',8,10,12,14,16-heptaméthyl-15-[[3,4,6-tridésoxy-3-(diméthylamino)- β -D-*xyllo*-hexopyranosyl]oxy]hexadécahydrospiro[5H,11H-1,3-dioxino[5,4-c]oxacyclotétradécin-2,2'-pyrane]-5,11-dione (érythromycine E),



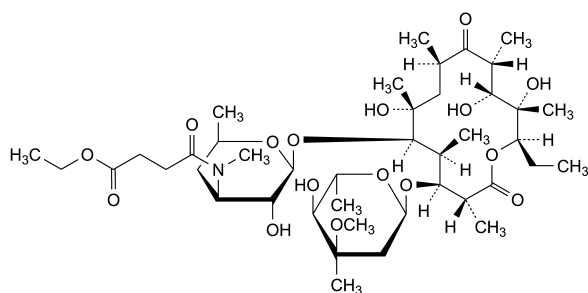
- D. (1S,2R,3R,4S,5R,8R,9S,10S,11R,12R,14R)-9-[(2,6-didésoxy-3-C-méthyl-3-O-méthyl- α -L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-5-éthyl-3-hydroxy-2,4,8,10,12,14-hexaméthyl-11-[[3,4,6-tridésoxy-3-(diméthylamino)- β -D-*xyllo*-hexopyranosyl]oxy]-6,15,16-trioxatricyclo[10.2.1.1^{1,4}]hexadécan-7-one (anhydroérythromycine A),



- E. (2R,3R,4S,5R,8R,9S,10S,11R,12R)-9-[(2,6-didésoxy-3-C-méthyl-3-O-méthyl- α -L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-5-éthyl-3,4-dihydroxy-2,4,8,10,12,14-hexaméthyl-11-[[3,4,6-tridésoxy-3-(diméthylamino)- β -D-*xyllo*-hexopyranosyl]oxy]-6,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadéc-1(14)-én-7-one (éther énolique d'érythromycine A),



- 10 F. (2*R*,3*R*,6*R*,7*S*,8*S*,9*R*,10*R*)-7-[(2,6-didésoxy-3-*C*-méthyl-3-*O*-méthyl- α -*L*-
- 11 *ribo*-hexopyranosyl)oxy]-3-[(1*R*,2*R*)-1,2-dihydroxy-1-méthylbutyl]-2,6,
- 12 8,10,12-pentaméthyl-9-[[3,4,6-tridésoxy-3-(diméthylamino)- β -*D*-*xyl*-
- 13 hexopyranosyl]oxy]-4,13-dioxabicyclo[8.2.1]tridéc-1(12)-én-5-one (éther énolique
- 14 de pseudoérythromycine A),



- 24 G. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-didésoxy-3-*C*-méthyl-3-*O*-
- 25 méthyl- α -*L*-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-éthyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-
- 26 hexaméthyl-6-[[3,4,6-tridésoxy-3-[(4-éthoxy-4-oxobutanoyl)méthylamino]- β -*D*-
- 27 *xyl*-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotétradécane-2,10-dione (3''-*N*-déméthyl-3''-*N*-
- 28 (éthoxysuccinyl)érythromycine A).
- 29