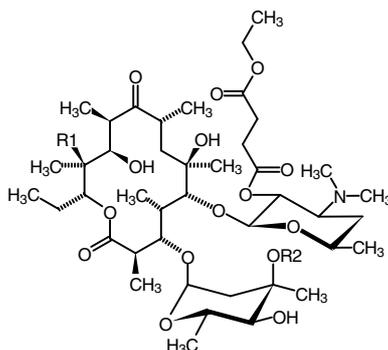




9.0/0274

# Erythromycinethylsuccinat

## Erythromycini ethylsuccinas



Ethylsuccinat von	Summenformel	$M_r$	R1	R2
Erythromycin A	$C_{43}H_{75}NO_{16}$	862	OH	$CH_3$
Erythromycin B	$C_{43}H_{75}NO_{15}$	846	H	$CH_3$
Erythromycin C	$C_{42}H_{73}NO_{16}$	848	OH	H

### Definition

Gemisch der Ethylsuccinatester von Erythromycin

*Hauptkomponente:* (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-Didesoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-tridesoxy-3-(dimethylamino)-2-*O*-(4-ethoxy-4-oxobutanoyl)- $\beta$ -*D*-xylohexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (Erythromycin-A-2''-ethylsuccinat)

Halbsynthetische Substanz, hergestellt aus einer durch Fermentation mit Hilfe eines Stamms von *Streptomyces erythreus* gewonnenen Substanz

#### Gehalt

- Summe der Gehalte an Erythromycin A, B und C, ausgedrückt als Ethylsuccinate: 93,0 bis 102,0 Prozent (wasserfreie Substanz)
- Erythromycin-B-ethylsuccinat: höchstens 5,0 Prozent (wasserfreie Substanz)
- Erythromycin-C-ethylsuccinat: höchstens 5,0 Prozent (wasserfreie Substanz)

### Eigenschaften

*Aussehen:* weißes bis fast weißes, kristallines, hygroskopisches Pulver

*Löslichkeit:* praktisch unlöslich in Wasser, leicht löslich in Aceton, in wasserfreiem Ethanol und in Methanol

## Prüfung auf Identität

IR-Spektroskopie (2.2.24)

*Vergleich:* Erythromycinethylsuccinat CRS

## Prüfung auf Reinheit

**Verwandte Substanzen:** Flüssigchromatographie (2.2.29)

*Hydrolyselösung:* Lösung von Kaliummonohydrogenphosphat R ( $20 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ), die mit Phosphorsäure 85 % R auf einen pH-Wert von 8,0 eingestellt wurde

*Untersuchungslösung:* 0,115 g Substanz werden in 25 ml Methanol R gelöst. Die Lösung wird nach Zusatz von 20 ml Hydrolyselösung gemischt und mindestens 12 h lang bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Mischung wird mit der Hydrolyselösung zu 50,0 ml verdünnt.

*Referenzlösung a:* 40,0 mg Erythromycin A CRS werden in 10 ml Methanol R gelöst. Die Lösung wird mit der Hydrolyselösung zu 20,0 ml verdünnt.

*Referenzlösung b:* 10,0 mg Erythromycin B CRS und 10,0 mg Erythromycin C CRS werden in 50 ml Methanol R gelöst. Die Lösung wird mit 5,0 ml Referenzlösung a versetzt und mit der Hydrolyselösung zu 100,0 ml verdünnt.

*Referenzlösung c:* 2 mg N-Demethylerythromycin A CRS werden in 20 ml Referenzlösung b gelöst.

*Referenzlösung d:* 3,0 ml Referenzlösung a werden mit einer Mischung gleicher Volumteile von Methanol R und Hydrolyselösung zu 100,0 ml verdünnt.

*Referenzlösung e:* 40 mg Erythromycin A CRS werden 3 h lang bei 130 °C erhitzt und anschließend in 10 ml Methanol R gelöst. Die Lösung wird mit der Hydrolyselösung zu 20 ml verdünnt.

### Säule

- Größe:  $l = 0,25 \text{ m}$ ,  $\varnothing = 4,6 \text{ mm}$
- Stationäre Phase: Styrol-Divinylbenzol-Copolymer R ( $8 \mu\text{m}$ ) mit einer Porengröße von 100 nm
- Temperatur: 70 °C unter Verwendung eines Wasserbads für die Säule und für mindestens ein Drittel des Schlauchs, der zur Säule führt

*Mobile Phase:* 50 ml einer Lösung von Kaliummonohydrogenphosphat R ( $35 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ), die mit Phosphorsäure 10 % R auf einen pH-Wert von 8,0 eingestellt wurde, werden mit 400 ml Wasser zur Chromatographie R, 165 ml *tert*-Butanol R und 30 ml Acetonitril R 1 versetzt und mit Wasser zur Chromatographie R zu 1000 ml verdünnt.

*Durchflussrate:*  $2,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

*Detektion:* Spektrometer bei 215 nm

*Einspritzen:* 200 µl; Untersuchungslösung, Referenzlösungen a, c, d und e

*Chromatographiedauer:* 5fache Retentionszeit von Erythromycin A; Integrationsbeginn nach dem Hydrolyse-Peak

*Relative Retention* (bezogen auf Erythromycin A,  $t_R$  etwa 15 min)

- Hydrolyse-Peak: weniger als 0,3
- Verunreinigung B: etwa 0,45
- Erythromycin C: etwa 0,5
- Verunreinigung C: etwa 0,9
- Verunreinigung G: etwa 1,3
- Verunreinigung D: etwa 1,4
- Verunreinigung F: etwa 1,5
- Erythromycin B: etwa 1,8
- Verunreinigung E: etwa 4,3

*Eignungsprüfung:* Referenzlösung c

- Auflösung: mindestens 0,8 zwischen den Peaks von Verunreinigung B und Erythromycin C und mindestens 5,5 zwischen den Peaks von Verunreinigung B und Erythromycin A

*Grenzwerte*

- Korrekturfaktoren: Für die Berechnung der Gehalte werden die Flächen der Peaks folgender Verunreinigungen mit dem entsprechenden Korrekturfaktor multipliziert:
  - Verunreinigung E: 0,09
  - Verunreinigung F: 0,15
  - Verunreinigung G: 0,14
- Zur Identifizierung der Peaks der Verunreinigungen E und F wird das Chromatogramm der Referenzlösung e verwendet.
- Jede Verunreinigung: jeweils nicht größer als die Fläche des Hauptpeaks im Chromatogramm der Referenzlösung d (3,0 Prozent)
- Summe aller Verunreinigungen: nicht größer als das 1,67fache der Fläche des Hauptpeaks im Chromatogramm der Referenzlösung d (5,0 Prozent)
- Ohne Berücksichtigung bleiben: Peaks, deren Fläche kleiner ist als das 0,02fache der Fläche des Hauptpeaks im Chromatogramm der Referenzlösung d (0,06 Prozent)

### **Freies Erythromycin:** Flüssigchromatographie (2.2.29)

*Untersuchungslösung:* 0,250 g Substanz werden in Acetonitril R 1 zu 50,0 ml gelöst.

*Referenzlösung:* 75,0 mg Erythromycin A CRS werden in Acetonitril R 1 zu 50,0 ml gelöst. 5,0 ml Lösung werden mit Acetonitril R 1 zu 25,0 ml verdünnt.

*Säule*

- Größe:  $l = 0,25$  m,  $\varnothing = 4,6$  mm
- Stationäre Phase: octylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie R (5 µm)
- Temperatur: 30 °C

*Mobile Phase:* 35 Volumteile Acetonitril R 1 werden mit 65 Volumteilen einer Lösung gemischt, die Kaliumdihydrogenphosphat R ( $3,4 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) und Triethylamin R ( $2,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) enthält und mit Phosphorsäure 10 % R auf einen pH-Wert von 3,0 eingestellt wurde.

*Durchflussrate:* 1 ml · min<sup>-1</sup>

*Detektion:* Spektrometer bei 195 nm

*Einspritzen:* 20 µl

*Chromatographiedauer:* 2fache Retentionszeit von Erythromycin A ( $t_R$  etwa 8 min) für die Referenzlösung und 2fache Retentionszeit von Erythromycinethylsuccinat ( $t_R$  etwa 24 min) für die Untersuchungslösung

*Grenzwert*

- Freies Erythromycin: nicht größer als die Fläche des Hauptpeaks im Chromatogramm der Referenzlösung (6,0 Prozent)

**Wasser** (2.5.12): höchstens 3,0 Prozent, mit 0,300 g Substanz bestimmt

Als Lösungsmittel wird eine Lösung von Imidazol *R* (100 g · l<sup>-1</sup>) in wasserfreiem Methanol *R* verwendet.

**Sulfatasche** (2.4.14): höchstens 0,3 Prozent, mit 1,0 g Substanz bestimmt

## Gehaltsbestimmung

Flüssigchromatographie (2.2.29)

*Die Lösungen müssen unmittelbar vor Gebrauch hergestellt werden (mit Ausnahme der Untersuchungslösung).*

*Lösung A (Hydrolyselösung):* 11,5 g Kaliummonohydrogenphosphat *R* werden in 900 ml Wasser *R* gelöst. Die Lösung wird mit Phosphorsäure 10 % *R* auf einen pH-Wert von 8,0 eingestellt und mit Wasser *R* zu 1000 ml verdünnt.

*Lösungsmittelmischung:* Methanol *R*, Lösung A (40:60 V/V)

*Untersuchungslösung:* 11,5 mg Substanz werden in 2,5 ml Methanol *R* gelöst. Die Lösung wird mit 2 ml Lösung A versetzt, gemischt und mindestens 12 h lang bei Raumtemperatur stehen gelassen. Diese Lösung wird mit der Lösung A zu 5,0 ml verdünnt.

*Referenzlösung a:* 40,0 mg Erythromycin A *CRS* werden in 10,0 ml Methanol *R* gelöst. Die Lösung wird mit der Lösung A zu 20,0 ml verdünnt.

*Referenzlösung b:* 10,0 mg Erythromycin B *CRS* und 10,0 mg Erythromycin C *CRS* werden in 50,0 ml Methanol *R* gelöst. Die Lösung wird mit der Lösung A zu 100,0 ml verdünnt.

*Säule*

- Größe:  $l = 0,25$  m,  $\varnothing = 4,6$  mm
- Stationäre Phase: nachsilanisierendes, octadecylsilyliertes, amorphes, siliciumorganisches Polymer mit eingebetteten polaren Gruppen *R* (3,5 µm)
- Temperatur: 65 °C; ein Vorwärmen der mobilen Phase kann erforderlich sein, beispielsweise durch Verlegen von 30 cm des Einlassschlauchs in den Ofen.

*Mobile Phase*

- Mobile Phase A: Phosphat-Pufferlösung pH 7,0 *R* 7, Acetonitril *R* 1, Wasser zur Chromatographie *R* (5:35:60 V/V/V)

- Mobile Phase B: Phosphat-Pufferlösung pH 7,0 R 7, Wasser zur Chromatographie R, Acetonitril R 1, (5:45:50 V/V/V)

Zeit (min)	Mobile Phase A (% V/V)	Mobile Phase 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

$t_R$  = Retentionszeit von Erythromycin B, durch Einspritzen von 20  $\mu$ l Referenzlösung b und Eluieren mit der mobilen Phase A bestimmt

Durchflussrate: 1,0 ml · min<sup>-1</sup>

Detektion: Spektrometer bei 210 nm

Autosampler: 4 °C

Einspritzen: 200  $\mu$ l

Eignungsprüfung: Referenzlösung a

- Symmetriefaktor: höchstens 2,0 für den Peak von Erythromycin A
- Wiederholpräzision: höchstens 1,0 Prozent relative Standardabweichung nach 6 Einspritzungen

Der Prozentgehalt an Erythromycin A (C<sub>37</sub>H<sub>67</sub>NO<sub>13</sub>) wird unter Verwendung des Chromatogramms der Referenzlösung a berechnet. Die Prozentgehalte an Erythromycin B (C<sub>37</sub>H<sub>67</sub>NO<sub>12</sub>) und Erythromycin C (C<sub>36</sub>H<sub>65</sub>NO<sub>13</sub>) werden unter Verwendung des Chromatogramms der Referenzlösung b berechnet.

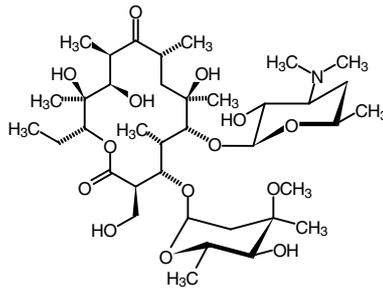
Die Werte für Erythromycin-A-ethylsuccinat, Erythromycin-B-ethylsuccinat und Erythromycin-C-ethylsuccinat werden durch Multiplikation des Prozentgehalts von Erythromycin A mit 1,1744, des Prozentgehalts von Erythromycin B mit 1,1783 und des Prozentgehalts von Erythromycin C mit 1,1777 erhalten.

Für die Berechnung des Gehalts an Erythromycin-ethylsuccinat wird die Summe der Gehalte an Erythromycin A, B und C, ausgedrückt als Ethylsuccinate verwendet, die wie vorstehend beschrieben berechnet wurden.

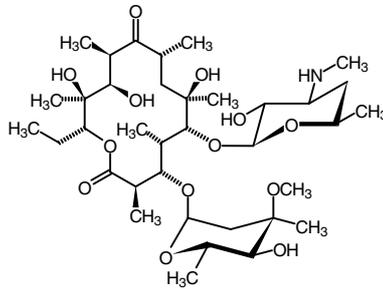
## Lagerung

Dicht verschlossen, vor Licht geschützt

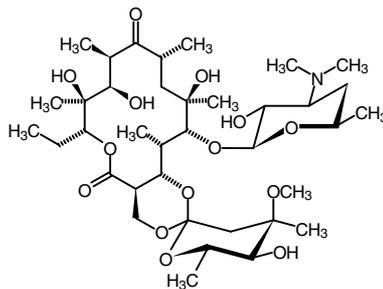
## Verunreinigungen



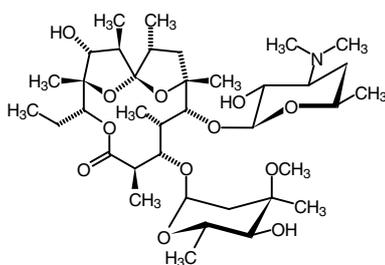
- A. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-Di-desoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-5,7,9,11,13-pentamethyl-6-[[3,4,6-tridesoxy-3-(dimethylamino)- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion  
(Erythromycin F)



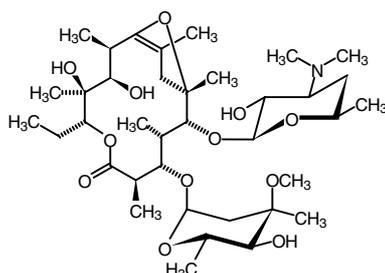
- B. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-Di-desoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-tridesoxy-3-(methylamino)- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion  
(3''-*N*-Demethylerythromycin A)



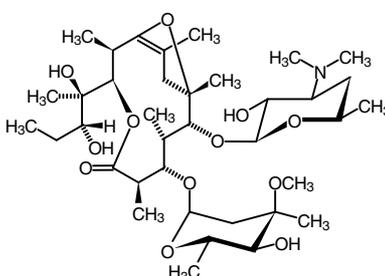
- C. (2*S*,4*aR*,4'*R*,5'*S*,6'*S*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*,14*R*,15*R*,16*S*,16*aS*)-7-Ethyl-5',8,9,14-tetrahydroxy-4'-methoxy-4',6',8,10,12,14,16-heptomethyl-15-[[3,4,6-tridesoxy-3-(dimethylamino)- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]hexadecahydrospiro[5*H*,11*H*-1,3-dioxino[5,4-*c*]-oxacyclotetradecin-2,2'-pyran]-5,11-dion  
(Erythromycin E)



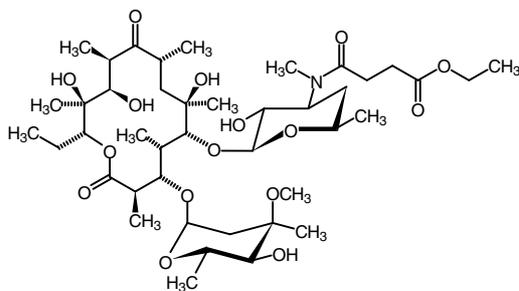
- D. (1*S*,2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,11*R*,12*R*,14*R*)-9-[(2,6-Dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3-hydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]-6,15,16-trioxatricyclo[10.2.1.1<sup>1,4</sup>]hexadecan-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- $\alpha$ -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3,4-dihydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]-6,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadec-1(14)-en-7-on  
(Erythromycin-A-enoether)



- 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- $\alpha$ -*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)- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]-4,13-dioxabicyclo[8.2.1]tridec-1(12)-en-5-on  
(Pseudoerythromycin-A-enoether)



- G. (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-Di-desoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- $\alpha$ -*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]- $\beta$ -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (3''-*N*-Demethyl-3''-*N*-(ethoxysuccinyl)erythromycin A)