МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Эритромицин** |  | **ФС** |
| **Эритромицин** |  |  |
| **Erythromycinum** |  | **Взамен ФС 42-3577-98** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|   |
| Эритромицин A | R=OH | R1=CH3 | C37H67NO13 | [114-07-8] | М.м. 733,9 |
| Эритромицин B | R=H  | R1=CH3 | C37H67NO12 | [527-75-3] | М.м. 717,9 |
| Эритромицин C | R=OH  | R1=H | C36H65NO13 | [1675-02-1] | М.м. 719,9 |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Смесь антибиотиков-макролидов, продуцируемых штаммом Streptomyces erythreus, основным компонентом является эритромицин A: (3R,4S,5S,6R,7R,9R,11R,12R,13S,14R)-7,12,13-Тригидрокси-4-[(2,6-дидезокси-3-C-метил-3-O-метил-α-рибо-L-гексопиранозил)окси]-3,5,7,9,11,13-гексаметил-6-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-ксило-гексопиранозил]окси}-14-этил-1-оксациклотетрадекан-2,10-дион.

Cодержит не менее 93,0 % и не более 102,0 % суммы эритромицинов A, B и C, из них эритромицинов B и C не более 5 % каждого в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество. Содержит не менее 930 мкг/мг и не более 1020 мкг/мг в пересчёте на безводное вещество.

СВОЙСТВА

**Описание.** Белый или светло-жёлтый порошок или бесцветные или светло-жёлтые кристаллы.

\*Гигроскопичен, проявляет полиморфизм.

**Растворимость**. Легко растворим в этаноле 96 %, растворим в метаноле, мало растворим в воде.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1. ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»).

Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца эритромицина A.

Если спектры различаются, по 50 мг субстанции и фармакопейного стандартного образца эритромицина A растворяют отдельно в 1 мл метиленхлорида, упаривают и сушат при температуре 60 °С в течение 3 ч при остаточном давлении не более 0,67 кПа (5 мм. рт. ст.).

Не учитывают полосы поглощения в области от 1980 до 2050 см–1.

*2. Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка*. ТСХ пластинка со слоем силикагеля.

*Подвижная фаза*. Тщательно перемешивают 4 объёма 2-пропанола,
8 объёмов раствора ацетата аммония раствора 15 %, предварительно доведённого до pH 9,6 аммиака раствором концентрированным 25 %, и 9 объёмов этилацетата. После расслаивания смеси используют верхний слой.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10,0 мг субстанции, растворяют в метаноле и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

*Раствор стандартного образца эритромицина А*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца эритромицина A, растворяют в метаноле и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

*Раствор стандартного образца спирамицина*. В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 10 мг фармакопейного стандартного образца спирамицина, растворяют в метаноле и доводят объём раствора до метки тем же растворителем.

На линию старта пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора (10 мкг) и растворов стандартных образцов эритромицина А (10 мкг) и спирамицина (5 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают спиртовым сернокислым раствором анисового альдегида, сушат при температуре 110 °С в течение 5 мин и просматривают в видимом свете.

*Результат.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению, величине и интенсивности окраски должна соответствовать основной зоне адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца эритромицина А и отличаться по положению и окраске от основной зоны адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца спирамицина.

*3. Качественная реакция*. К 5,0 мг субстанции прибавляют 5 мл раствора ксантгидрола и нагревают на водяной бане; появляется красное окрашивание.

*4. Качественная реакция*. Растворяют 10 мг субстанции в 5 мл 25 % хлористоводородной кислоты; через 10–20 мин появляется жёлтое окрашивание.

ИСПЫТАНИЯ

Родственные примеси. Определение проводят методом ВЭЖХ
(ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

*Смесь растворителей*. Метанол—фосфатный буферный раствор pH 7,0 1:3.

*Буферный раствор*. 35,0 г дикалия гидрофосфата растворяют в 900 мл воды, при необходимости доводят pH до 9,0 2 М фосфорной кислотой, и доводят объём раствора водой до 1000 мл.

*Подвижная фаза (ПФ)*. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 50 мл буферного раствора, 400 мл воды, 165 мл
2-метил-2-пропанола, 30 мл ацетонитрила и доводят объём раствора водой до метки.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 40 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора той же смесью до метки.

*Раствор стандартного образца эритромицина A*. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 40 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эритромицина A, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора той же смесью до метки.

*Стандартный раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эритромицина B и 10 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца эритромицина C, растворяют в смеси растворителей и доводят объём раствора той же смесью до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы*. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 5 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца примеси B, растворяют в 20 мл стандартного раствора, прибавляют 1,0 мл раствора стандартного образца эритромицина А и доводят объём раствора стандартным раствором до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 3,0 мл раствора стандартного образца эритромицина A и доводят объём смесью растворителей до метки.

*Раствор для идентификации пиков*. Распределяют 40 мг фармакопейного стандартного образца эритромицина A по дну бюкса тонким (не более 1 мм) слоем, нагревают при температуре 130 °С в течение 4 ч, охлаждают и растворяют в 10,0 мл смеси растворителей.

Примечание

Эритромицин B: (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*S*,13*R*,14*R*)-7,12-дигидрокси-4-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-*рибо*-L-гексопиранозил)окси]-3,5,7,9,11,13-гексаметил-6-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-14-этил-1-оксациклотетрадекан-2,10-дион [527-75-3].

Эритромицин C: (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-7,12,13-тригидрокси-4-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-α-*рибо*-L-гексопиранозил)окси]-3,5,7,9,11,13-гексаметил-6-{[(3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-α-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-14-этил-1-оксациклотетрадекан-2,10-дион [1675-02-1].

Примесь B: (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-7,12,13-тригидрокси-4-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-*рибо*-L-гексопиранозил)окси]-3,5,7,9,11,13-гексаметил-6-{[3,4,6-тридезокси-3-(метиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-14-этил-1-оксациклотетрадекан-2,10-дион [992-62-1].

Примесь E: (2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,11*R*,12*R*)-3,4-дигидрокси-9-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-2,4,8,10,12,14-гексаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]oxy}-5-этил-6,15-диоксабицикло[10.2.1]пентадец-1(14)-ен-7-он [33396-29-1].

Примесь F: (2*R*,3*R*,6*R*,7*S*,8*S*,9*R*,10*R*)-3-[(2*R*,3*R*)-2,3-Дигидроксипентан-2-ил]-7-[(2,6-дидезокси-3-*C*-метил-3-*O*-метил-α-L-*рибо*-гексопиранозил)окси]-2,6,8,10,12-пентаметил-9-{[3,4,6-тридезоакси-3-(диметиламино)-β-D-*ксило*-гексопиранозил]окси}-4,13-диоксабицикло[8.2.1]тридец-1(12)-ен-5-он [105882-69-7].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,6 мм, сополимер стирол-дивинилбензола для хроматографии, 8 мкм, размер пор 100 нм; |
| Температура колонки | 70 °С (термостатируют также не менее 1/3 предшествующего колонке капилляра); |
| Скорость потока | 2,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 215 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл; |
| Время хроматографирования | 5-кратное от времени удерживания основного пика. |

Хроматографируют раствор для идентификации пиков, раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца эритромицина A, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Эритромицин A – 1 (около 15 мин); примесь E – около 4.3; эритромицин B – около 1,8; примесь F – около 1,5; эритромицин C – около 0,5; примесь B – около 0,45.

*Идентификация примесей*. Для идентификации эритромицинов B и C и примеси B используют хроматограммы растворов для проверки разделительной способности хроматографической системы и стандартного раствора, примесей E и F – по хроматограмме раствора для идентификации и относительным временам удерживания соединений.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы:

-*разрешение (R)* между пиками примеси B и эритромицина C должно быть не менее 0,8;

*- разрешение (R)* между пиками примеси B и эритромицина A должно быть не менее 5,5.

*Поправочные коэффициенты*. Для расчёта содержания следующих примесей площади пиков умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь E– 0,09; примесь F– 0,15.

*Допустимое содержание примесей*. На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика любой примеси не должна превышать площадь пика эритромицина A на хроматограмме раствора сравнения (не более 3 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна более чем в 2,3 раза превышать площадь пика эритромицина A на хроматограмме раствора сравнения (не более 7 %).

Не учитывают пики, площадь которых составляет менее 0,02 площади пика эритромицина A на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,06 %), и пики эритромицинов B и C.

**Тиоцианат-ионы**. Не более 0,3 %. Определяют методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

Все растворы готовят непосредственно перед использованием и защищают от света.

*Испытуемый раствор*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в 20 мл метанола, прибавляют 1,0 мл железа(III) хлорида раствора 9 % и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Эталонный раствор (готовят в двух повторностях)*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,1 г предварительно высушенного при температуре 105 °С в течение 1 ч калия тиоцианата, растворяют в метаноле и доводят объём раствора до метки тем же растворителем. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора, прибавляют 1,0 мл 9 % раствора хлорида железа(III) и доводят объём раствора метанолом до метки.

*Раствор сравнения*. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл железа(III) хлорида раствора 9 % и доводят объём раствора метанолом до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и эталонных растворов при длине волны 492 нм относительно раствора сравнения.

*Пригодность системы*. Система считается пригодной, если отношение *S* находится в пределах от 0,985 до 1,015:

,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*1 и *A*2 | − | оптическая плотность эталонных растворов первой и второй повторности, соответственно; |
|  | *a*1 и *a*2 | − | навески калия тиоцианата при приготовлении эталонных растворов первой и второй повторности, соответственно, г. |

Содержание тиоцианат-ионов в субстанции в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$Х=\frac{A∙\left(\frac{a\_{1}}{A\_{1}}+\frac{a\_{2}}{A\_{2}}\right)}{a∙2}∙\frac{58,08∙50∙5∙5∙100}{97,18∙50∙50∙50} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A* | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *a* | − | навеска субстанции, г; |
|  | 58,08 | – | относительная молекулярная масса тиоцианат-иона; |
|  | 97,18 |  | относительная молекулярная масса тиоцианата калия. |

**Вода**. Не более 6,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,2 г (точная навеска) субстанции и в качестве растворителя раствор имидазола в метаноле 0,1 г/мл.

**Сульфатная зола**. Не более 0,2 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1,0 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы**. Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции, с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители**. В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Микробиологическая чистота**. В соответствии с
ОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*1. ВЭЖХ.* Определение проводят в условиях испытания «Родственные примеси».

Содержание эритромицина A C37H67NO13 в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика эритромицина A на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика эритромицина A на хроматограмме раствора стандартного образца эритромицина A; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца эритромицинаA, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей, %; |
|  | *P* | – | содержание эритромицина A в фармакопейном стандартном образце эритромицина A, %. |

Содержание эритромицина B C37H67NO12 и эритромицина C C36H65NO13 в субстанции в процентах (*X*) в пересчёте на безводное и не содержащее остаточных органических растворителей вещество вычисляют по формуле:



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | площадь пика эритромицина B или эритромицина C, соответственно, на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | площадь пика эритромицина B или эритромицина C, соответственно, на хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы; |
|  | *а*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца эритромицина B или эритромицина C, соответственно, мг; |
|  | *W* | – | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей, %; |
|  | *P* | – | содержание эритромицина B или эритромицина C в фармакопейном стандартном образце эритромицина B или эритромицина C, соответственно, %. |

*2. Микробиологический метод.* Определение проводят в соответствии с ОФС «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар».

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.