МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Мелатонин** |  | **ФС** |
| **Мелатонин** |  |  |
| **Melatoninum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
| *N*-[2-(5-Метокси-1*H*-индол-3-ил)этил]ацетамид |
|  |
| C13H16N2O2 | М.м. 232,28 |

Содержит не менее 98,0 % и не более 101,5 % мелатонина C13H16N2O2, в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание.** Белый или почти белый кристаллический порошок.

**Растворимость.** Легко растворим или растворим в метаноле, умеренно растворим в хлороформе и этилацетате,мало или очень мало растворим в воде.

**Подлинность**

*1. ИК-спектроскопия* (ОФС «Спектрометрия в инфракрасной области»). Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске калия бромидом, в области от 4000 до 400 см-1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру стандартного образца мелатонина.

*2. ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика мелатонина на хроматограмме раствора стандартного образца мелатонина (раздел «Количественное определение»).

**Температура плавления.** От 116 до 119 °C (ОФС «Температура плавления», метод 1).

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

*Буферный раствор.* Растворяют 2,45 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой разведенной 10 % до 3,00±0,05. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Растворитель.* Ацетонитрил—вода 20:80.

*Подвижная фаза А (ПФА).* Буферный раствор.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в 30 мл растворителя и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца мелатонина (А).* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают около 25 мг (точная навеска) стандартного образца мелатонина, растворяют в смеси ПФБ—ПФА 20:80 и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца мелатонина (Б).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца мелатонина (А) и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца 5-метокситриптамина.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают около 5 мг (точная навеска) стандартного образца 5-метокситриптамина, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 3,0 мл раствора стандартного образца 5-метокситриптамина и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, 10,0 мл раствора стандартного образца мелатонина (Б) и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца 5-метокситриптамина и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и 1,0 мл раствора стандартного образца мелатонина (Б) и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

5-метокситриптамин: 2-(5-метокси-1*H*-индол-3-ил)этан-1-амин, CAS 608-07-1.

*Хроматографические условия.*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 50 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 1,8 мкм;  |
| Температура колонки | 25 °C; |
| Скорость потока | 1,5 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 225 нм; |
| Объём пробы | 10 мкл; |
| Время регистрации хроматограммы | 36 мин. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–20 | 90 → 70 | 10 → 30 |
| 20–36 | 70 → 30 | 30 → 70 |
| 36–41 | 30 → 90 | 70 → 10 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, стандартный раствор и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Мелатонин – 1 (около 7 мин), 5-метокситриптамин – около 0,3.

*Пригодность хроматографической системы*

На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пиков мелатонина и 5-метокситриптамина должно быть не менее 10.

На хроматограмме стандартного раствора:

- *разрешение (RS)* между пиками 5-метокситриптамина и мелатонина должно быть не менее 10,0;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* мелатонина должен быть не более 2,0;

- *фактор асимметрии* *пика (AS)* 5-метокситриптамина должен быть не более 2,5;

- *относительное стандартное отклонение* площади пиков мелатонина и 5-метокситриптамина должно быть не более 10,0 % (6 введений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пикам мелатонина и 5-метокситриптамина, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание 5-метокситриптамина в субстанции в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50·3∙1}{S\_{0}·a\_{1}·20·10·100}=\frac{S\_{1}·a\_{0}·P∙0,0075}{S\_{0}·a\_{1}} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | − | площадь пика 5-метокситриптамина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика 5-метокситриптамина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца 5-метокситриптамина, мг; |
|  | *P* | − | содержание 5-метокситриптамина в стандартном образце 5-метокситриптамина, %. |

Содержание любой другой примеси в субстанции (*Xi*) в процентах рассчитывают по формуле:

$$X\_{i}=\frac{S\_{i}∙a\_{0}∙P·1∙10∙50}{S\_{0}·a\_{1}·50·100·100}=\frac{S\_{i}·a\_{0}·P}{S\_{0}·a\_{1}·1000} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*i | − | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | − | площадь пика мелатонина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | − | навеска стандартного образца мелатонина, мг; |
|  | *P* | − | содержание мелатонина в стандартном образце мелатонина, %. |

*Допустимое содержание примесей:*

- 5-метокситриптамин – не более 0,15 %;

- любая другая примесь – не более 0,10 %;

- сумма всех примесей – не более 1,0 %.

**Вода.** Не более 0,3 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют около 0,2 г (точная навеска) субстанции.

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы», метод 2, в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

**Количественное определение.** Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси» со следующими изменениями.

*Подвижная фаза (ПФ)*. Ацетонитрил—буферный раствор 200:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают около 25 мг (точная навеска) субстанции и растворяют в 15 мл ПФ и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Раствор стандартного образца мелатонина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл раствора стандартного образца мелатонина (А) (раздел «Родственные примеси») и доводят объём раствора ПФ до метки.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Объём пробы | 5 мкл. |

Хроматографируют раствор стандартного образца мелатонина и испытуемый раствор.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца мелатонина.

- *фактор асимметрии пика (AS)* мелатонина должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика мелатонина должно быть не более 2,0 % (6 введений).

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику мелатонина, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Содержание мелатонина C13H16N2O2 в субстанции в процентах в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество (*X*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P·5∙25·100·100}{S\_{0}·a\_{1}·50·50·5·\left(100-W\right)}=\frac{S\_{1}·a\_{0}·P·100}{S\_{0}·a\_{1}·(100-W)} ,$$

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

**Хранение.** В защищённом от света месте.