МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Мелатонин** |  | **ФС.2.1.0459** |
| **Мелатонин** |  |  |
| **Melatoninum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C13H16N2O2 | М.м. 232,28 |
| [73-31-4] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

*N*-[2-(5-Метокси-1*H*-индол-3-ил)этил]ацетамид.

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

СВОЙСТВА

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

**Растворимость.** Растворим в метаноле, умеренно растворим в хлороформе и этилацетате,мало или очень 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 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»).

ИСПЫТАНИЯ

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

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

*Подвижная фаза А (ПФА).* Растворяют 2,45 г калия дигидрофосфата в 900 мл воды и доводят значение рН фосфорной кислотой разведённой 10 % до 3,0, количественно переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1000 мл и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Растворитель (А)*. Ацетонитрил ―Вода 200:800.

*Растворитель (Б).* ПФБ―ПФА 200:800.

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

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора растворителем А до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*.В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца мелатонина и 50 мг (точная навеска) примеси 5-метокситриптамина, растворяют в растворителе А и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем А до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем А до метки.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл раствора сравнения и доводят объём раствора растворителем А до метки.

Примечание

Примесь 1: 5-метокситриптамин: 2-(5-метокси-1*H*-индол-3-ил)этан-1-амин [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, раствор для проверки пригодности хроматографической системы, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Мелатонин – 1 (около 7 мин); примесь 1 – около 0,3.

*Идентификация примесей.* Для идентификации пика примеси 1 используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствор для проверки пригодности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *отношение сигнал/шум (S/N)* для пиков мелатонина и примеси 1 должно быть не менее 10.

На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы:

- *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.

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

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{1}$$ | − | площадь пика 5-метокситриптамина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{0}$$ | − | площадь пика 5-метокситриптамина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | $$a\_{1}$$ | − | 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 вычисляют по формуле:

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | $$S\_{1}$$ | − | площадь пика любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | $$S\_{0}$$ | − | площадь пика мелатонина на хроматограмме стандартного раствора; |
|  | $$a\_{1}$$ | − | навеска субстанции, мг; |
|  | $$a\_{0}$$ | − | навеска стандартного образца мелатонина, мг; |
|  | $$P$$ | − | содержание мелатонина в стандартном образце мелатонина, % |

*Допустимое содержание примесей:*

- примесь 1 – не более 0,15 %;

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

- сумма всех примесей – не более 0,5 %.

Не учитывают пики, содержание каждой из которых менее 0,05 %.

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

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

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,001 %. Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном в испытании «Сульфатная зола», 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).* ПФБ—ПФА 200:800.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 25 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в растворителе Б и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем Б до метки.

*Раствор* *стандартного образца мелатонина.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца мелатонина, растворяют в растворителе Б и доводят объём раствора этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем Б до метки.

Объём вводимой пробы в хроматографическую систему – 5 мкл.

Хроматографируют раствор стандартного образца мелатонина и испытуемый раствор.

Время хроматографирования: двукратное от времени удерживания пика мелатонина (около 2 мин).

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца мелатонина *фактор асимметрии пика (AS)* мелатонина должен быть не более 2,0;

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

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

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S1* | − | площадь пика мелатонина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | − | площадь пика мелатонина на хроматограмме раствора стандартного образца мелатонина; |
|  | $$a\_{1}$$ | − | 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.