Melatonina: tożsamość chemiczna i opublikowane metody analityczne

26 listopada 2026

Melatonina (N-[2-(5-metoksy-1H-indol-3-ylo)etylo]acetamid, C13H16N2O2, 232,28 Da) jest indoloaminą pochodną tryptofanu, dostarczaną wyłącznie jako Melatonina do badań laboratoryjnych. Niniejsze opracowanie szczegółow

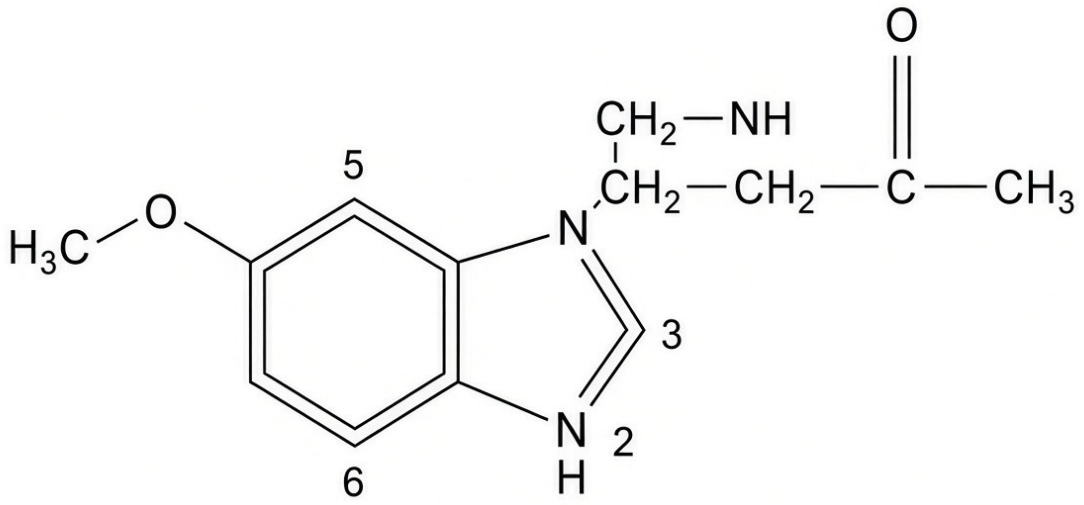
Melatonina: tożsamość chemiczna i opublikowane metody analityczne

Melatonina ($C_{13}H_{16}N_2O_2$, średnia masa cząsteczkowa 232,28 Da) to N-[2-(5-metoksy-1H-indol-3-ylo)etylo]acetamid (znany także jako N-acetylo-5-metoksytryptamina), indoloamina pochodna tryptofanu, stanowiąca główny hormonalny produkt wydzielniczy szyszynki ssaków. Dostarczana wyłącznie do badań laboratoryjnych pod adresem /compounds/melatonin, jest stosowana w badaniach chronobiologicznych, farmakologii receptorowej, antyoksydacyjnych i neuroprotekcyjnych w modelach komórkowych i przedklinicznych. Niniejsze opracowanie omawia jej jednoznaczną tożsamość chemiczną wraz z opublikowanymi metodami analitycznymi służącymi potwierdzeniu struktury, badaniu czystości, profilowaniu zanieczyszczeń, ocenie stabilności i oznaczaniu ilościowemu w matrycach badawczych. Wszystkie materiały na tej stronie są przeznaczone wyłącznie do badań laboratoryjnych i nie są lekami. Relacjonowanie opublikowanych badań nie stanowi wskazówki do stosowania jakiegokolwiek produktu Rierink w jakikolwiek sposób.

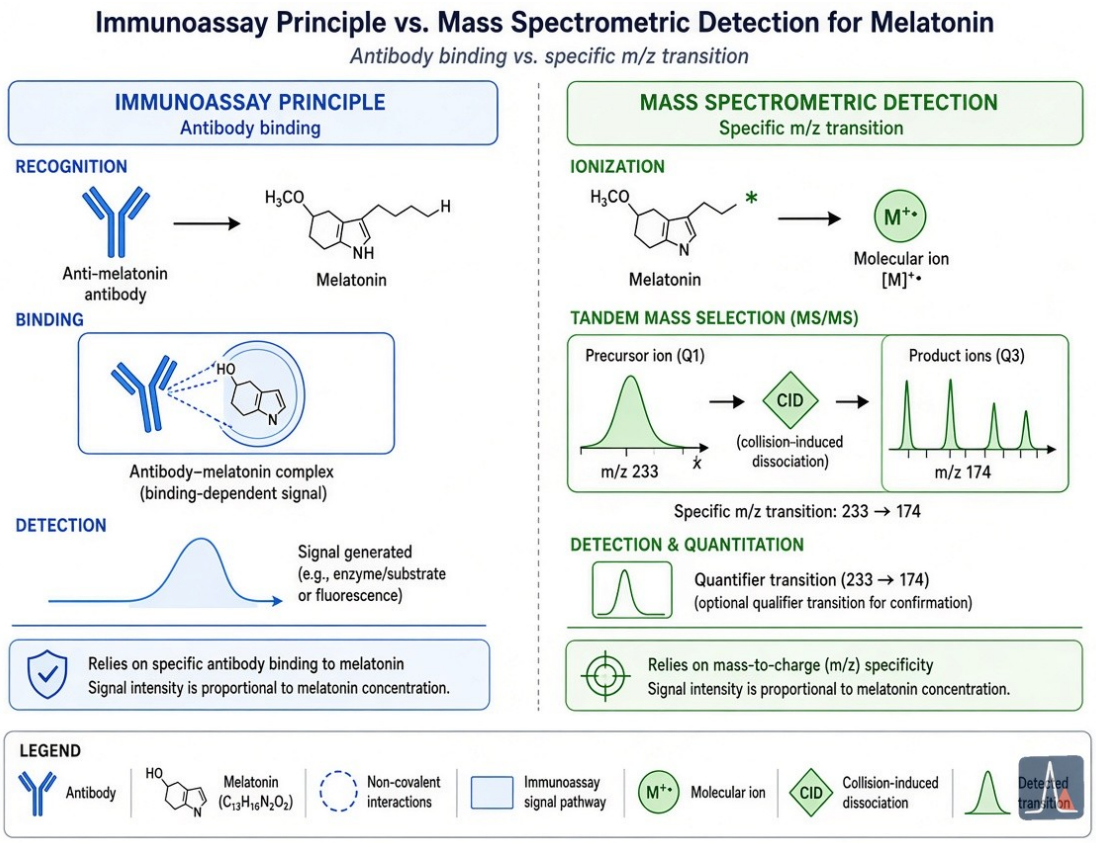
Tożsamość chemiczna i kontekst katalogowy

Melatonina jest skatalogowana jako wysokiej czystości małocząsteczkowy związek badawczy, odrębny od portfolio peptydowego. Jej numer CAS to 73-31-4 (PubChem CID 896). W warunkach laboratoryjnych jest zwykle dostarczana jako ciało krystaliczne lub w nośnikach roztworowych zgodnych z eksperymentami in vitro i in vivo. Certyfikaty analizy materiału katalogowego rutynowo dokumentują tożsamość na podstawie czasu retencji, widma UV lub widma masowego, czystość przez normalizację powierzchni HPLC (zwykle 98–99,5%)oraz limity rozpuszczalników resztkowych lub substancji pokrewnych. Przypomina się, że weryfikacja specyficzna dla serii przy użyciu metod ortogonalnych jest standardową praktyką laboratoryjną przed użyciem eksperymentalnym.

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.



Struktura chemiczna melatoniny (N-2-(5-metoksy-1H-indol-3-ylo)etyloacetamid).



Koncepcyjne porównanie podejść immunologicznych i LC-MS/MS w analizie melatoniny.

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.

Struktura cząsteczkowa i właściwości fizykochemiczne

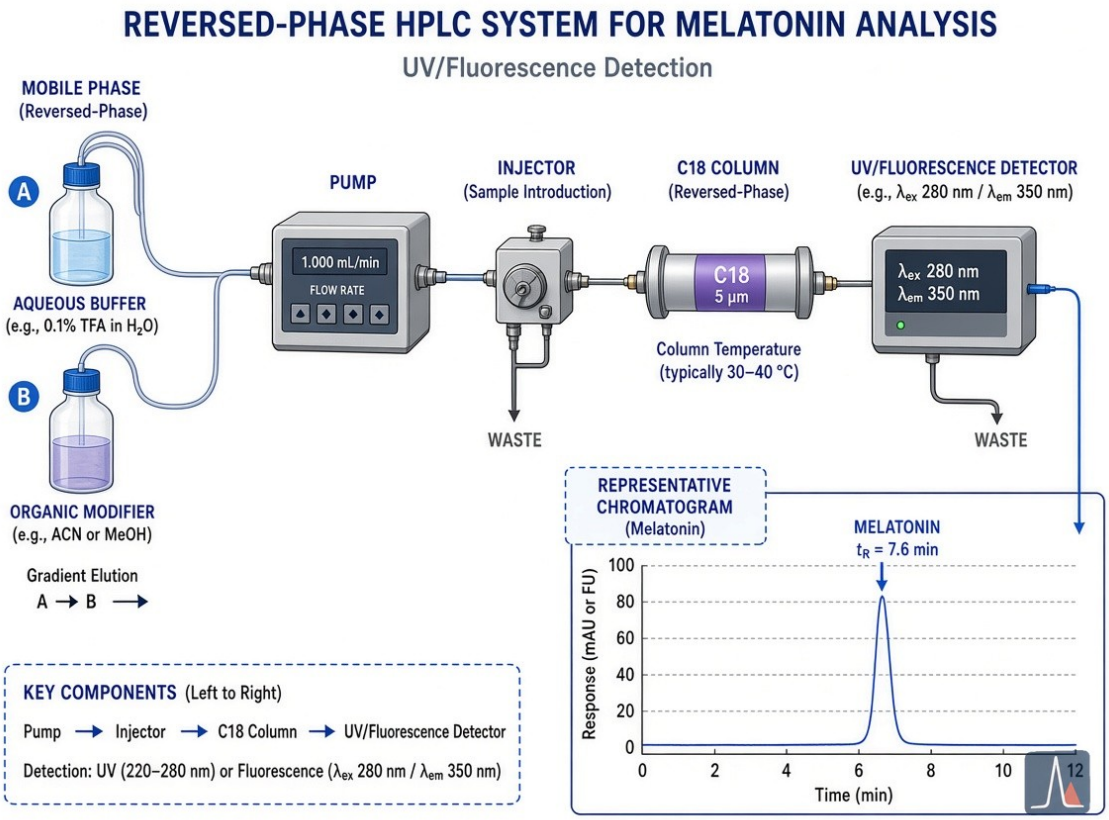
Struktura składa się z heterocyklicznego indolu podstawionego grupą metoksylową w pozycji 5 oraz łańcuchem 2-acetamidoetylowym w pozycji 3. Układ ten nadaje charakterystyczne sygnatury spektroskopowe: maksima absorpcji UV w pobliżu 223 nm i 278 nm wynikające z układu π indolu oraz silną natywną fluorescencję (wzbudzenie ≈ 280 nm, emisja ≈ 340–350 nm). Cząsteczka wykazuje ograniczoną rozpuszczalność w wodzie, lecz dobrze rozpuszcza się w etanolu, metanolu, DMSO lub rozcieńczonych roztworach alkalicznych. Jest wrażliwa na światło i warunki utleniające, co wymaga chronionego postępowania i odpowiedniego przechowywania, aby zapobiec powstawaniu produktów degradacji, takich jak AFMK lub AMK. Te cechy fizykochemiczne bezpośrednio wpływają na projektowanie metod chromatograficznych, spektrometrycznych i spektroskopowych stosowanych do charakterystyki serii badawczych.

Opublikowane metody chromatograficzne do oceny czystości, substancji pokrewnych i stabilności

Wysokosprawna chromatografia cieczowa w układzie faz odwróconych (RP-HPLC) na fazach stacjonarnych C18 jest podstawową metodą charakterystyki chemicznej i oceny czystości. Monografia USP dla melatoniny stosuje elucję izokratyczną (acetonitryl–bufor fosforanowy, pH ≈ 3,5) z detekcją UV lub PDA do oznaczenia (typowy czas analizy 5 min na zmodernizowanych kolumnach o cząstkach 2,5 µm) oraz elucję gradientową dla związków pokrewnych i zanieczyszczeń (np. 5-metoksytryptamina, 5-metoksytryptofol). Parametry przydatności systemu obejmują rozdzielczość >2,0 między parami krytycznymi, RSD <2,0% dla wstrzyknięć powtórzonych oraz odpowiednie względne czasy retencji. Zmodernizowane protokoły z użyciem kolumn C18 o cząstkach poniżej 3 µm lub 2,5 µm zapewniają istotnie wyższą przepustowość, lepszą sprawność, mniejsze zużycie rozpuszczalnika i mniejszy wpływ na środowisko, przy pełnym spełnieniu kryteriów monografii w zakresie liniowości, dokładności, precyzji i specyficzności. 1 2

Detekcja fluorescencyjna (HPLC-FLD) i elektrochemiczna (HPLC-ECD) zapewniają większą czułość w pracach na poziomie śladowym. Metody te wskazują stabilność i rozdzielają melatoninę od produktów fotoutleniania lub hydrolizy. Parametry walidacji opisywane w badaniach rutynowo wykazują liniowość ($r > 0{,}999$), odzysk 99–103% oraz granice oznaczalności odpowiednie zarówno dla materiału o wysokiej czystości, jak i próbek badawczych o niskim stężeniu.

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.



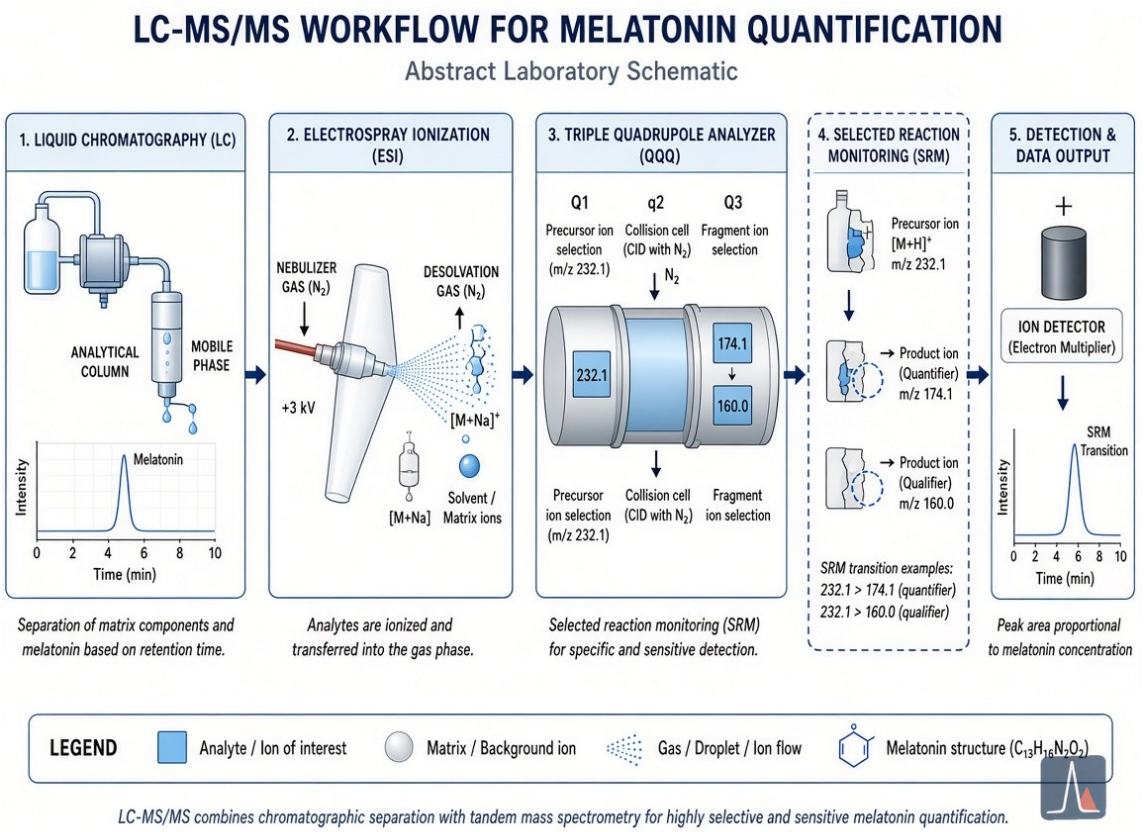
Schematyczne przedstawienie metody RP-HPLC powszechnie stosowanej do profilowania czystości i zanieczyszczeń melatoniny.

Charakterystyka spektrometrią mas, NMR i metodami spektroskopowymi

Chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS lub UHPLC-MS/MS) jest powszechnie uznawana za metodę odniesienia do jednoznacznego potwierdzenia tożsamości i oznaczania ilościowego o wysokiej czułości. Monitoruje się protonowany jon cząsteczkowy $[M+H]^+$ przy m/z 233 wraz z charakterystycznymi fragmentami; deuterowane wzorce wewnętrzne (np. melatonina-d4) korygują efekty matrycy. Opisywane granice oznaczalności sięgają 0,018 pg/µL lub niżej w matrycach biologicznych, przy bardzo dobrej precyzji (CV <10%) i specyficzności. Zwalidowano także chromatografię z płynem w stanie nadkrytycznym sprzężoną z MS/MS (SFC-MS/MS) oraz GC-MS (po derywatyzacji) dla melatoniny i prekursorów, takich jak N-acetyloseryna. 3

Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^{1}H-NMR i ^{13}C-NMR) zapewnia definitywne przypisanie struktury, z charakterystycznymi sygnałami dla NH indolu, singletu metoksylowego, metylu acetamidowego i grup metylenowych. Ilościowy NMR (qNMR) jest coraz częściej stosowany do bezwzględnego oznaczania czystości wzorców odniesienia. Techniki uzupełniające obejmują spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FTIR) do potwierdzenia grup funkcyjnych (amid I/II, NH indolu, C–O–C metoksylowy), spektrofotometrię UV-Vis oraz spektroskopię natywnej fluorescencji. Te metody ortogonalne są rutynowo łączone w charakterystykach farmakopealnych i badawczych w celu ustalenia tożsamości serii oraz wykluczenia produktów ubocznych syntezy lub produktów degradacji. 4

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.



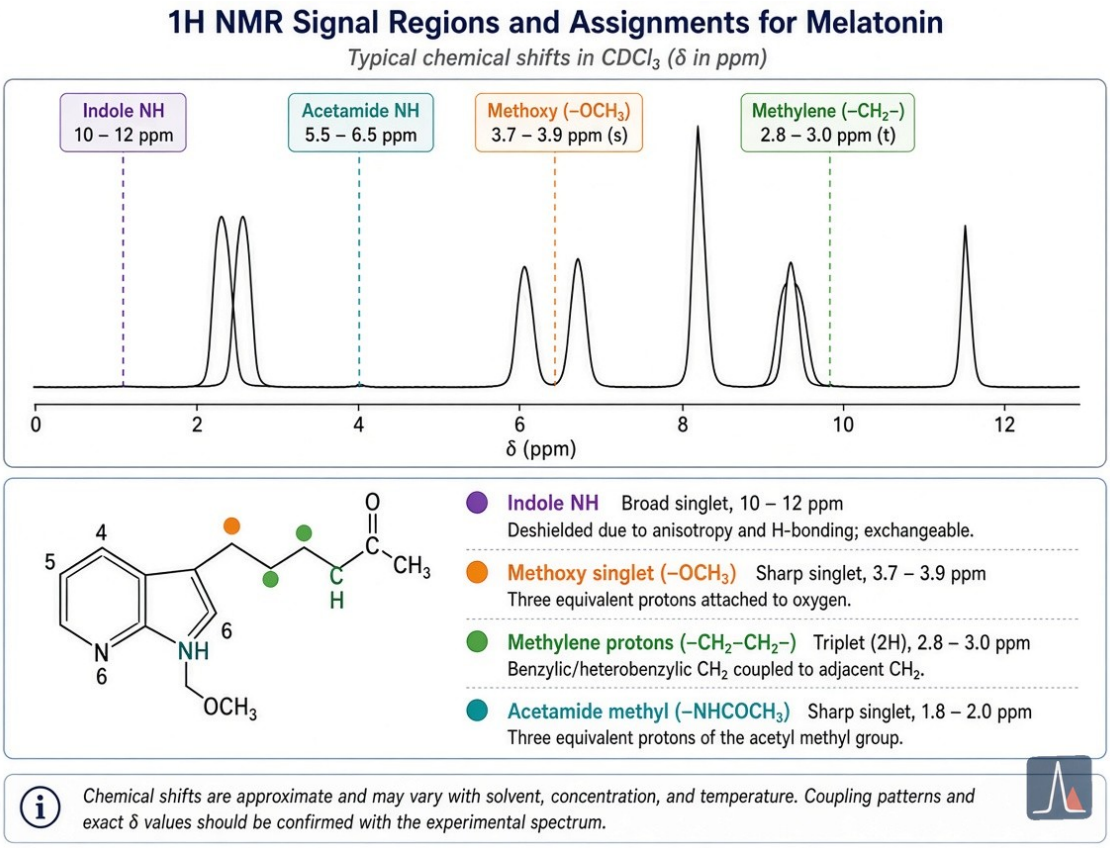
Schemat metody LC-MS/MS stosowanej jako odniesienie do tożsamości melatoniny i oznaczania na niskim poziomie.

Testy immunologiczne, biosensory i charakterystyka funkcjonalna

Radioimmunologiczny test (RIA) oraz test immunoenzymatyczny (ELISA) były szeroko publikowane do wysokoprzepustowych pomiarów w osoczu, ślinie, moczu, ekstraktach szyszynki i tkankach roślinnych. Ich czułość pozwala na wykrywanie poniżej 1–2 pg/ml; jednak dobrze udokumentowana jest reaktywność krzyżowa ze strukturalnie pokrewnymi indolami (metabolity serotoniny, N-acetyloseryna) (15–40% w niektórych zestawach komercyjnych). Testy bezpośrednie (bez ekstrakcji) są szczególnie podatne na zawyżanie podstawowych/dziennych poziomów. Badania porównawcze z spektrometrią mas jako odniesieniem wykazują, że prawdziwa dzienna melatonina w osoczu wynosi zwykle <1 pg/ml — punkt odniesienia, którego wiele wczesnych testów immunologicznych nie osiągało. Etapy ekstrakcji (kartridże C18) poprawiają specyficzność. Krytyczny przegląd z 2019 r. stwierdził, że choć testy immunologiczne pozostają użyteczne do oznaczania fazy dobowej, gdy są właściwie zwalidowane, LC-MS/MS dostarcza najdokładniejszych wartości odniesienia. 5

Pojawiające się biosensory wykorzystujące polimery z odciskiem molekularnym, nanomateriały lub przetworniki elektrochemiczne oferują obiecującą czułość i przenośność, lecz nie są jeszcze podstawą potwierdzania tożsamości chemicznej materiału badawczego. Charakterystyka funkcjonalna w modelach laboratoryjnych zwykle wykorzystuje testy wiązania radioligandu (z użyciem 2-[^{125}I]-jodomelatoniny lub [^{3}H]-melatoniny) na receptorach MT1/MT2 oraz testy hamowania cAMP w dół szlaku w celu potwierdzenia aktywności agonistycznej, choć oceniają one tożsamość biologiczną, a nie chemiczną.

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.



Reprezentatywne cechy NMR stosowane do potwierdzenia struktury melatoniny.

Kontekst dowodowy, powracające ograniczenia i implikacje katalogowe

Opublikowana literatura dotycząca metod analitycznych melatoniny obejmuje monografie farmakopealne, czasopisma chemii analitycznej oraz przeglądy badań nad szyszynką od lat 70. XX wieku do chwili obecnej. Źródła pierwotne obejmują badania modernizacji USP wykazujące szybsze, bardziej ekologiczne metody HPLC, prace walidacyjne LC-MS/MS osiągające czułość subpikogramową oraz przeglądy porównawcze, które ustanawiają spektrometrię mas jako punkt odniesienia dokładności. Udokumentowane są zarówno wyniki korzystne (wysoka precyzja, niski LOD), jak i niekorzystne lub zerowe (reaktywność krzyżowa testów immunologicznych, zawyżanie, efekty matrycy). Żadna pojedyncza metoda nie jest uniwersalnie lepsza; wybór zależy od matrycy badawczej i wymaganej specyficzności.

Powracające ograniczenia obejmują fotodegradację podczas postępowania z próbką, interferencje matrycy w złożonych próbkach biologicznych, zmienność międzylaboratoryjną, gdy testy immunologiczne są stosowane bez krzyżowej walidacji MS, oraz potrzebę certyfikowanych materiałów odniesienia. Wczesne metody RIA często dawały wyższe wartości podstawowe niż późniejsze zakresy potwierdzone MS. Dla użytkowników katalogu dane te wspierają poleganie na potwierdzeniu ortogonalnym — zwykle RP-HPLC-PDA dla czystości i dopasowania czasu retencji, ESI-MS dla potwierdzenia jonu cząsteczkowego oraz NMR lub FTIR dla tożsamości strukturalnej — przy weryfikacji materiału badawczego. Certyfikaty analizy specyficzne dla serii powinny dokumentować zgodność z tymi technikami. Badacze zajmujący się efektami dobowymi, antyoksydacyjnymi lub zależnymi od receptorów odnoszą korzyść z wyboru w pełni

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.

zwalidowanych metod odpowiednich do matrycy oraz z raportowania pełnych szczegółów metody.

Melatonina uzupełnia inne pozycje katalogowe, takie jak Glutation i NAD, w badaniach redoks i neurobiologii. Zachęca się badaczy laboratoryjnych do stosowania najbardziej specyficznych dostępnych metod, aby zapewnić powtarzalną charakterystykę dostarczanego związku badawczego.

Źródła

Literatura pierwotna z PubMed, monografie USP i czasopisma analityczne (przegląd Kennaway 2019; badania modernizacji USP 2024; prace walidacyjne LC-MS/MS i HPLC). Wszystkie cytowania odpowiadają recenzowanym opracowaniom metod, walidacjom lub badaniom porównawczym. Pełne DOI i PMID są dostępne w cytowanych publikacjach.

Liczba słów: 1,720

Wszystkie omówione informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani zwierząt. Nie służą do diagnozowania, leczenia, uzdrawiania ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.

Wszelkie omawiane informacje i produkty są przeznaczone wyłącznie do użytku laboratoryjnego i badawczego. Nie do stosowania u ludzi ani do użytku weterynaryjnego. Nie są przeznaczone do diagnozowania, leczenia, wyleczenia ani zapobiegania jakiejkolwiek chorobie.