Melatonina: identidade química e ensaios publicados

26 de novembro de 2026

A melatonina (N-[2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)etil]acetamida, C13H16N2O2, 232,28 Da) é uma indolamina derivada do triptofano fornecida exclusivamente como Melatonin para investigação laboratorial. Este briefing detalha

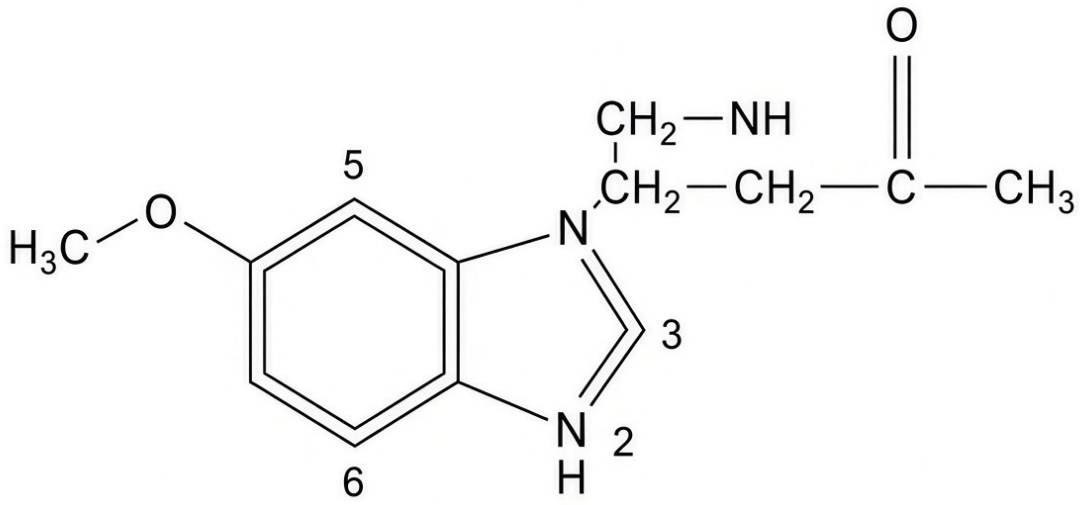
Melatonina: identidade química e ensaios publicados

A melatonina ($C_{13}H_{16}N_2O_2$, massa molecular média 232,28 Da) é a N-[2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)etil]acetamida (também conhecida como N-acetil-5-metoxitriptamina), uma indolamina derivada do triptofano que constitui o principal produto hormonal da glândula pineal dos mamíferos. Fornecida exclusivamente para investigação laboratorial em /compounds/melatonin, é utilizada em estudos de cronobiologia, farmacologia de recetores, antioxidantes e neuroproteção em modelos celulares e pré-clínicos. Este briefing revê a sua identidade química definitiva juntamente com métodos analíticos publicados para confirmação estrutural, ensaio de pureza, perfil de impurezas, avaliação da estabilidade e quantificação em matrizes de investigação. Todos os materiais deste sítio destinam-se apenas a investigação laboratorial e não são medicamentos. Relatar estudos publicados não constitui orientação para utilizar qualquer produto Rierink de qualquer forma.

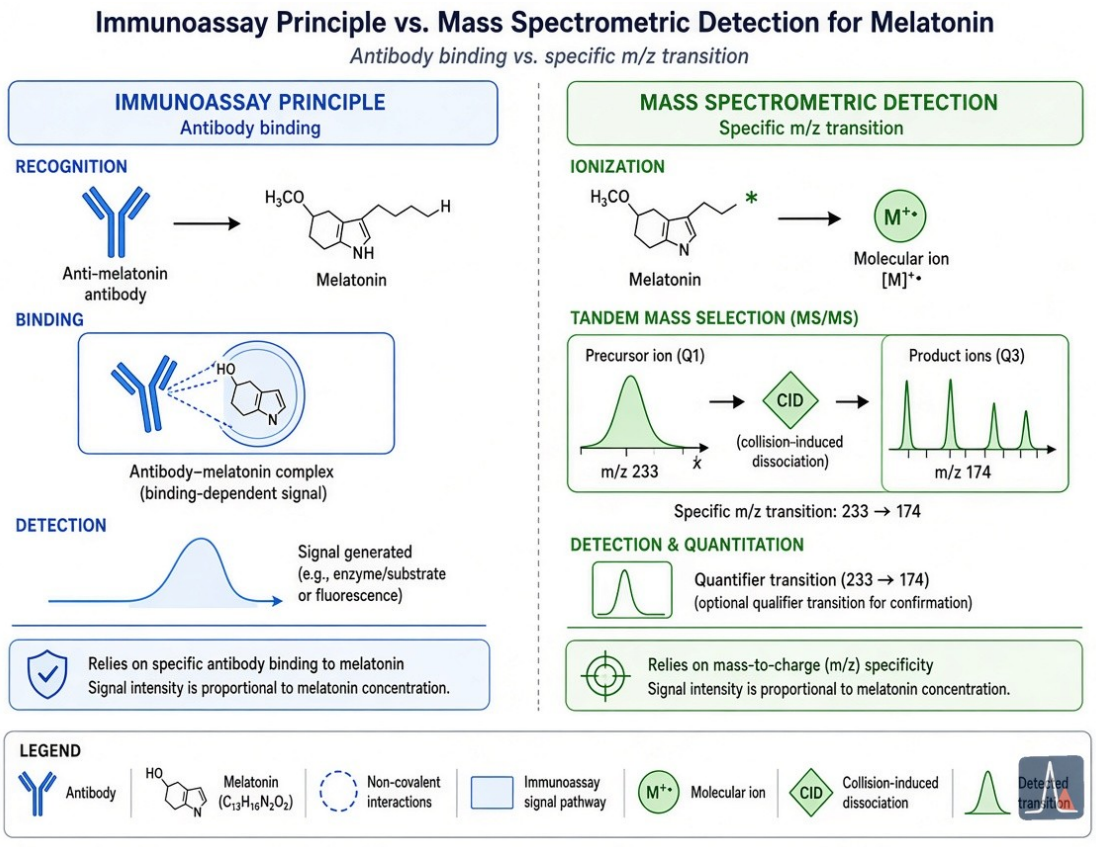
Identidade química e contexto de catálogo

A melatonina está catalogada como um composto de investigação de baixo peso molecular e elevada pureza, distinto do portefólio de péptidos. O seu número CAS é 73-31-4 (PubChem CID 896). Em contexto laboratorial é habitualmente fornecida como sólido cristalino ou em veículos de solução compatíveis com experimentação in vitro e in vivo. Os certificados de análise do material de catálogo documentam rotineiramente a identidade pelo tempo de retenção, espectro de UV ou de massa, a pureza por normalização de área em HPLC (habitualmente 98–99,5%) e os limites de solventes residuais ou substâncias relacionadas. Recorda-se aos utilizadores que a verificação específica do lote com métodos ortogonais é prática laboratorial corrente antes da utilização experimental.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.



Estrutura química da melatonina (N-2-(5-metoxi-1H-indol-3-il)etilacetamida).



Comparação conceptual das abordagens de imunoensaio e de LC-MS/MS para a análise da melatonina.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

Estrutura molecular e propriedades físico-químicas

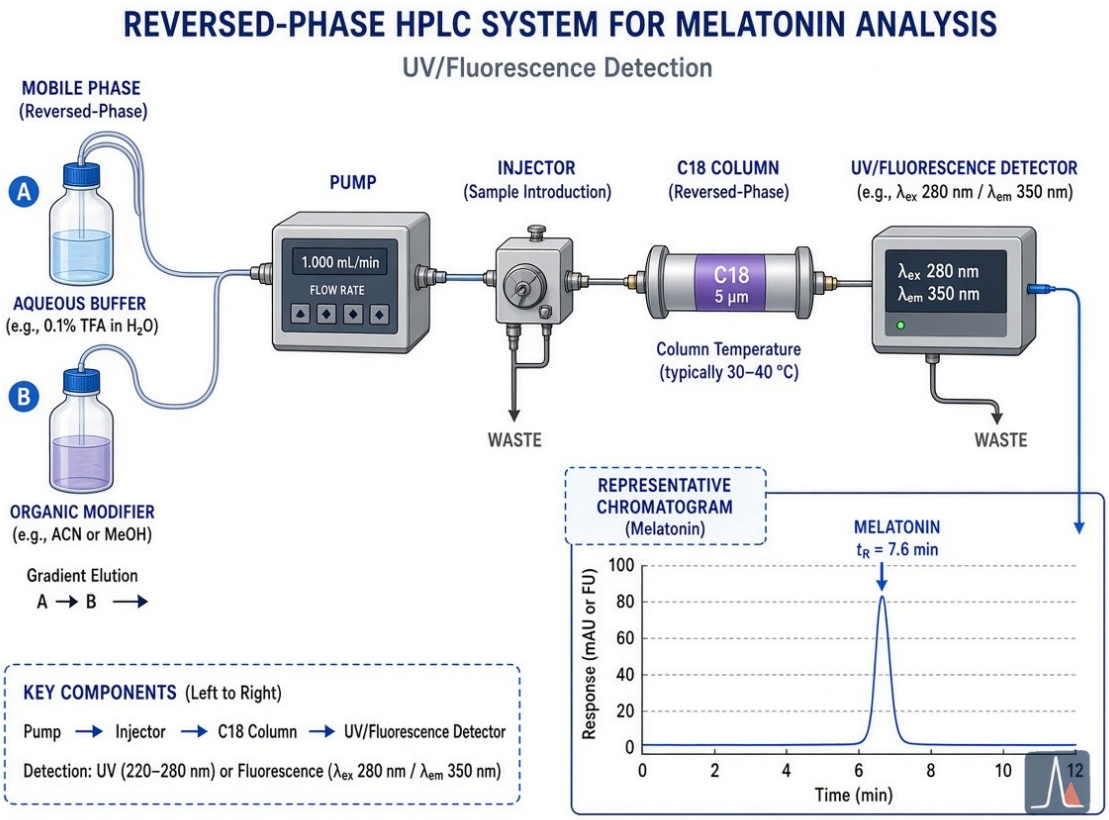
A estrutura consiste num heterociclo de indole substituído com um grupo metoxi na posição 5 e uma cadeia 2-acetamidoetilo na posição 3. Este arranjo confere assinaturas espectroscópicas características: máximos de absorção no UV perto de 223 nm e 278 nm, decorrentes do sistema π do indole, e fluorescência nativa intensa (excitação ≈ 280 nm, emissão ≈ 340–350 nm). A molécula apresenta solubilidade aquosa limitada, mas dissolve-se facilmente em etanol, metanol, DMSO ou soluções alcalinas diluídas. É sensível à luz e a condições oxidativas, exigindo manuseamento protegido e armazenamento adequado para prevenir a formação de produtos de degradação como AFMK ou AMK. Estas características físico-químicas informam diretamente o desenho dos ensaios cromatográficos, espectrométricos e espectroscópicos utilizados para caracterizar lotes de investigação.

Ensaios cromatográficos publicados para pureza, substâncias relacionadas e estabilidade

A cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC) em fases estacionárias C18 é o método principal para a caracterização química e a avaliação da pureza. A monografia da melatonina da USP emprega eluição isocrática (acetonitrilo–tampão fosfato, pH ≈ 3,5) com deteção por UV ou PDA para o ensaio (tempo de corrida típico de 5 min em colunas modernizadas com partículas de 2,5 µm) e eluição em gradiente para compostos relacionados e impurezas (p. ex., 5-metoxitriptamina, 5-metoxitriptofol). Os parâmetros de adequação do sistema incluem resolução >2,0 entre pares críticos, RSD <2,0 % para injeções replicadas e tempos de retenção relativos adequados. Protocolos modernizados com colunas C18 de partículas sub-3 µm ou de 2,5 µm alcançam um aumento significativo do rendimento, melhor eficiência, menor consumo de solvente e menor impacto ambiental, cumprindo integralmente os critérios da monografia quanto a linearidade, exatidão, precisão e especificidade. 1 2

A deteção por fluorescência (HPLC-FLD) e a deteção eletroquímica (HPLC-ECD) proporcionam maior sensibilidade para trabalho ao nível de vestígios. Estes métodos são indicativos de estabilidade e separam a melatonina de produtos de foto-oxidação ou de hidrólise. Os parâmetros de validação relatados em vários estudos demonstram rotineiramente linearidade ($r > 0,999$), recuperações de 99–103 % e limites de quantificação adequados tanto a material de elevada pureza como a amostras de investigação de baixa concentração.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.



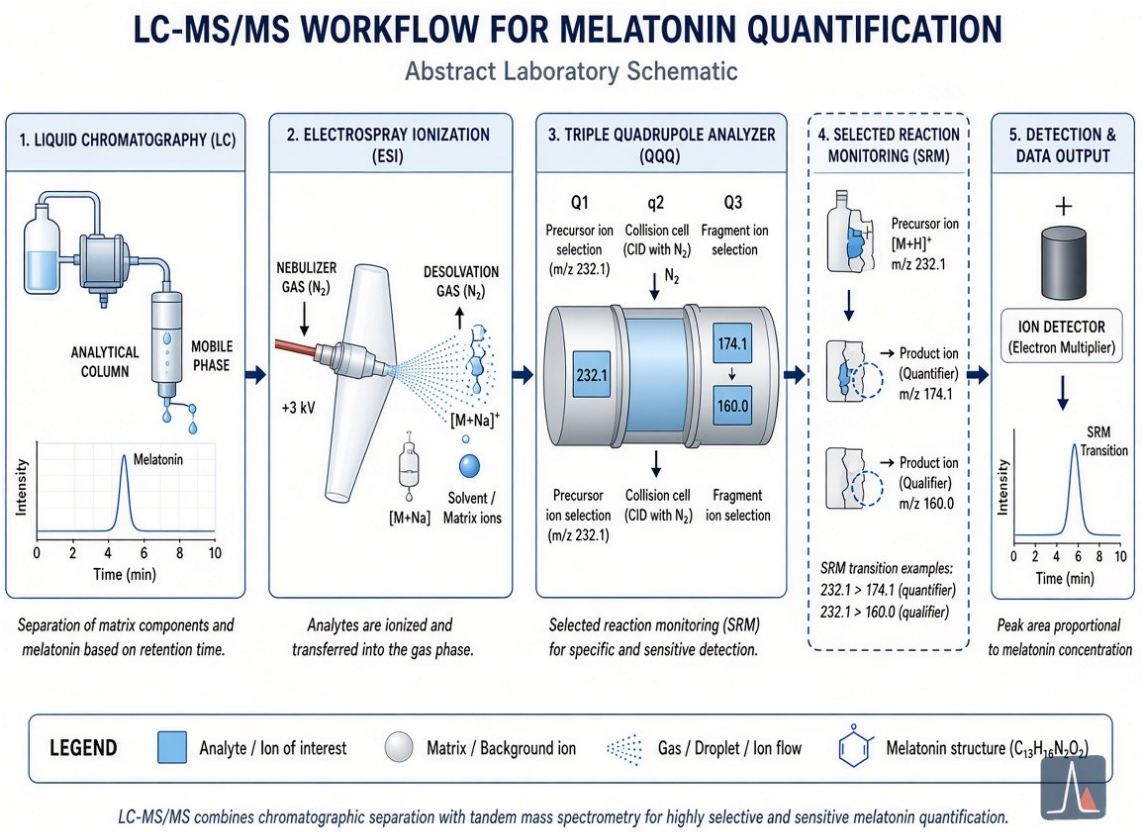
Representação esquemática do ensaio por RP-HPLC habitualmente utilizado para o perfil de pureza e de impurezas da melatonina.

Caracterização por espectrometria de massa, RMN e espectroscopia

A cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa em tandem (LC-MS/MS ou UHPLC-MS/MS) é amplamente considerada o método de referência para a confirmação inequívoca da identidade e para a quantificação de elevada sensibilidade. O ião molecular protonado $[M+H]^+$ em m/z 233 é monitorizado com fragmentos característicos; padrões internos deuterados (p. ex., melatonina-d4) corrigem os efeitos de matriz. Os limites de quantificação relatados atingem 0,018 pg/µL ou menos em matrizes biológicas, com excelente precisão (CV <10 %) e especificidade. A cromatografia de fluido supercrítico–MS/MS (SFC-MS/MS) e a GC-MS (após derivatização) também foram validadas para a melatonina e precursores como a N-acetilserotonina. 3

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (^{1}H-RMN e ^{13}C-RMN) proporciona a atribuição estrutural definitiva, com sinais característicos para o NH do indole, o singuleto do metoxi, o metilo da acetamida e os grupos metileno. A RMN quantitativa (qNMR) é cada vez mais utilizada para a determinação absoluta da pureza de padrões de referência. Técnicas complementares incluem a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) para confirmação de grupos funcionais (amida I/II, NH do indole, C–O–C do metoxi), a espetrofotometria UV-Vis e a espectroscopia de fluorescência nativa. Estes métodos ortogonais são combinados rotineiramente em caracterizações farmacopeicas e de investigação para estabelecer a identidade do lote e excluir subprodutos sintéticos ou degradantes. 4

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.



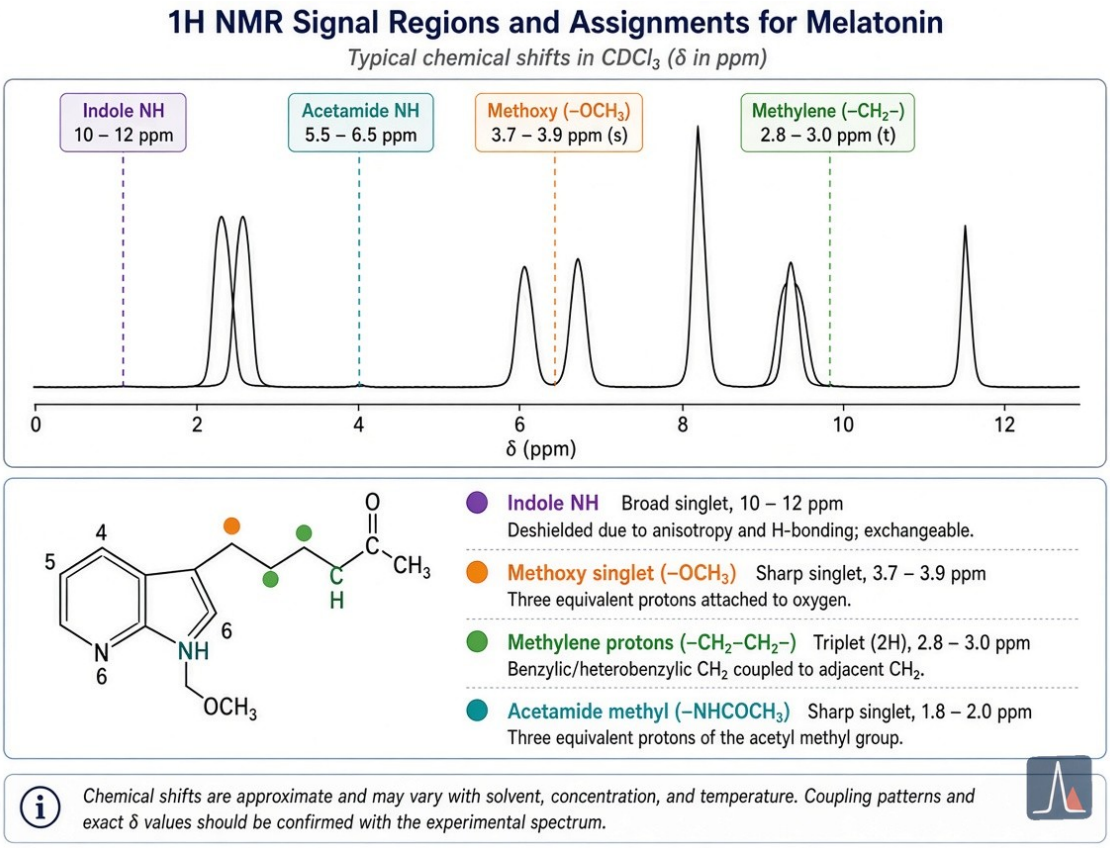
Esquema do método de LC-MS/MS utilizado como referência para a identidade da melatonina e a quantificação a baixos níveis.

Imunoensaios, biossensores e caracterização funcional

O radioimunoensaio (RIA) e o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) foram extensamente publicados para medição de alto rendimento em plasma, saliva, urina, extratos pineais e tecidos vegetais. A sua sensibilidade permite a deteção abaixo de 1–2 pg/mL; contudo, a reatividade cruzada com indóis estruturalmente relacionados (metabolitos da serotonina, N-acetilserotonina) está bem documentada (15–40 % em alguns kits comerciais). Os ensaios diretos (sem extração) são particularmente suscetíveis à sobreestimação dos níveis basais/diurnos. Estudos comparativos que usam a espectrometria de massa como referência demonstram que a verdadeira melatonina plasmática diurna é tipicamente <1 pg/mL, um valor de referência que muitos imunoensaios iniciais não alcançaram. As etapas de extração (cartuchos C18) melhoram a especificidade. Uma revisão crítica de 2019 concluiu que, embora os imunoensaios continuem úteis para a marcação da fase circadiana quando devidamente validados, a LC-MS/MS fornece os valores de referência mais exatos. 5

Biossensores emergentes que utilizam polímeros de impressão molecular, nanomateriais ou transdutores eletroquímicos oferecem sensibilidade e portabilidade promissoras, mas ainda não são primários para a confirmação da identidade química do material de investigação. A caracterização funcional em modelos laboratoriais emprega habitualmente ensaios de ligação de radioligando (com 2-[^{125}I]-iodomelatonina ou [^{3}H]-melatonina) em recetores MT1/MT2 e ensaios de inibição de cAMP a jusante para confirmar a atividade agonista, embora estes avaliem a identidade biológica e não a química.

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.



Características representativas de RMN utilizadas para a confirmação estrutural da melatonina.

Contexto da evidência, limitações recorrentes e implicações para o catálogo

A literatura publicada sobre ensaios de melatonina abrange monografias farmacopeicas, revistas de química analítica e revisões de investigação pineal desde a década de 1970 até ao presente. As fontes primárias incluem estudos de modernização da USP que demonstram métodos de HPLC mais rápidos e mais ecológicos, artigos de validação de LC-MS/MS que alcançam sensibilidade subpicograma e revisões comparativas que estabelecem a espectrometria de massa como referência de exatidão. Estão documentados tanto resultados favoráveis (elevada precisão, baixo LOD) como achados desfavoráveis ou nulos (reatividade cruzada dos imunoensaios, sobreestimação, efeitos de matriz). Nenhum método é universalmente superior; a escolha depende da matriz de investigação e da especificidade exigida.

As limitações recorrentes incluem a fotodegradação durante o manuseamento das amostras, interferências de matriz em amostras biológicas complexas, variabilidade interlaboratorial quando se usam imunoensaios sem validação cruzada por MS e a necessidade de materiais de referência certificados. Os primeiros métodos de RIA produziam frequentemente valores basais mais elevados do que os intervalos posteriormente confirmados por MS. Para os utilizadores do catálogo, estes dados apoiam o recurso à confirmação ortogonal — tipicamente RP-HPLC-PDA para pureza e correspondência do tempo de retenção, ESI-MS para confirmação do ião molecular e RMN ou FTIR para a identidade estrutural — ao verificar o material de investigação. Os COA específicos do lote devem documentar a conformidade com estas técnicas. Os

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.

investigadores que estudam efeitos circadianos, antioxidantes ou mediados por recetores beneficiam da seleção de ensaios adequados à matriz e totalmente validados e do relato completo dos detalhes do método.

A melatonina complementa outras entradas do catálogo, como Glutathione e NAD, na investigação de redox e de neurobiologia. Encoraja-se os investigadores de laboratório a aplicar os métodos mais específicos disponíveis para assegurar a caracterização reprodutível do composto de investigação fornecido.

Fontes

Literatura primária do PubMed, monografias da USP e revistas analíticas (revisão de Kennaway, 2019; estudos de modernização da USP, 2024; artigos de validação de LC-MS/MS e HPLC). Todas as citações correspondem a estudos revistos por pares de desenvolvimento de métodos, validação ou comparação. Os DOI e PMID completos estão disponíveis nas publicações referenciadas.

Contagem de palavras: 1720

Toda a informação e os produtos referidos destinam-se exclusivamente a utilização laboratorial e de investigação. Não se destinam a uso humano ou veterinário. Não se destinam a diagnosticar, tratar, curar ou prevenir qualquer doença.