

CZU: 547.832.1:[543.42+543.544]

## METODE FIZICO-CHIMICE APLICATE ÎN ANALIZA INDOCIANINEI VERDE

Tatiana ZUGRAV<sup>1</sup>, Daniela MUNTEANU<sup>2</sup>, Ecaterina MAZUR<sup>3</sup>,  
Gheorghe ANGHELICI<sup>1</sup>, Vladimir VALICA<sup>2,3</sup>, Livia UNCU<sup>2,3</sup>\*

*<sup>1</sup>Catedra de chirurgie nr. 2, <sup>2</sup>Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică, <sup>3</sup>Centrul de dezvoltare a medicamentelor; Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova*

Autor corespondent\*: [livia.uncu@usmf.md](mailto:livia.uncu@usmf.md)

**Introducere.** Indocianina verde (ICV) este un colorant fluorescent aprobat clinic și utilizat pe scară largă în imagistica medicală, în special pentru evaluarea fluxului sanguin, a funcției hepatice și a limfaticelor. Datorită capacității sale de a se lega rapid de proteinele plasmatică și de a emite fluorescență în domeniul apropiat de infraroșu (NIR), ICV oferă o penetrare profundă în țesuturi, fiind ideală pentru diagnosticul neinvaziv și pentru monitorizarea în timp real a unor proceduri chirurgicale. Totuși, analiza și caracterizarea sa precisă necesită metode fizico-chimice riguroase, care pot asigura o evaluare detaliată a stabilității, a concentrației și a parametrilor de fluorescență. În această lucrare, sunt prezentate metode fizico-chimice avansate utilizate în analiza ICV, inclusiv spectroscopia UV-Vis, spectroscopia de fluorescență, cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) și analiza prin microscopia confocală. Aceste tehnici permit o investigare aprofundată a comportamentului ICV în diverse medii, aspecte esențiale pentru aplicabilitatea sa clinică și stabilitatea sa în formulările farmaceutice [1].

**Scopul lucrării.** Scopul acestui studiu a fost investigarea și sintetizarea principalele metode fizico-chimice aplicate în analiza ICV, un colorant organic cu aplicații extinse în diagnosticare medicală.

**Material și metode.** A fost efectuată o analiză bibliografică extensivă a articolelor și lucrărilor de referință, disponibile în baze de date științifice precum PubMed, ScienceDirect și IEEE Xplore (39 de articole indexate ISI), axându-se pe publicațiile din ultimii zece ani. Criteriile de selecție a literaturii au inclus relevanța și actualitatea metodelor fizico-chimice utilizate în analiza ICV, fiind excluse din studiu sursele învechite sau care nu conțineau date experimentale suficiente.

**Rezultate.** Pe baza literaturii de specialitate, s-au analizat avantajele și limitările tehnicilor de spectroscopie, cromatografie și microscopie avansată utilizate pentru evaluarea proprietăților structurale, spectrale și de stabilitate ale ICV, în vederea optimizării utilizării acesteia în practica medicală și cercetare. Metoda spectroscopică UV-Vis este una dintre cele mai frecvent utilizate pentru analiza ICV, permițând determinarea concentrației și evaluarea stabilității acesteia. Studii recente evidențiază importanța stabilirii unei lungimi de undă optime pentru maximizarea sensibilității detecției, de regulă în jurul a 800 nm, specifică indocianinei. ICV este un compus fluorescent, iar metoda fluorimetrică este utilă pentru cuantificarea sa la concentrații scăzute. Fluorescența intensă a acestui colorant în condiții de lumină apropiată de infraroșu permite aplicarea metodei în contexte biologice, inclusiv în diagnosticare și imagistică in vivo. Cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC) este o tehnică valorificată pentru separarea și identificarea indocianinei în diverse matrice, inclusiv fluide biologice. S-a demonstrat că utilizarea coloanelor C18 și a detecției UV sau fluorimetrice oferă o separare rapidă și eficientă. În ultimii ani, s-au dezvoltat metode electrochimice pentru caracterizarea redox a ICV. Aceste metode sunt utile în elucidarea mecanismului de

degradare al ICV în condiții oxidative și pentru evaluarea stabilității în prezența diferitelor excipienți. Spectroscopia de masă (MS) este folosită pentru identificarea precisă a masei moleculare și a eventualelor produși de degradare, permite detectarea eventualelor impurități și fragmentarea structurală specifică.

**Concluzii** Studiul a demonstrat valoarea analizei bibliografice în consolidarea metodologiilor. Metodele spectroscopice și cromatografice sunt utilizate pentru o caracterizare completă a ICV, oferind atât informații cantitative, cât și calitative. Spectroscopia UV-Vis și fluorimetria sunt metode accesibile și sensibile pentru monitorizarea concentrației și stabilității colorantului, în timp ce HPLC și MS oferă o evaluare detaliată a purității și a compoziției structurale.

**Cuvinte cheie:** indocianină verde, HPLC, spectroscopie UV-Vis, fluorimetrie.

### Bibliografie.

1. Khalafi, Shayan, Cristina Botero Fonnegra, Ana Reyes, and Vanessa W. Hui. 2024. „Developments in the Use of Indocyanine Green (ICG) Fluorescence in Colorectal Surgery” *Journal of Clinical Medicine* 13, no. 14: 4003. <https://doi.org/10.3390/jcm13144003>

CZU: 547.832.1:[543.42+543.544]

## PHYSICAL-CHEMICAL METHODS APPLIED IN THE ANALYSIS OF INDOCIAN GREEN

Tatiana ZUGRAV<sup>1</sup>, Daniela MUNTEANU<sup>2</sup>, Ecaterina MAZUR<sup>3</sup>,  
Gheorghe ANGHELICI<sup>1</sup>, Vladimir VALICA<sup>2,3</sup>, Livia UNCUCU<sup>2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Surgery no. 2, <sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry and Toxicology,

<sup>3</sup>Drug Development Center, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

Corresponding author\*: [livia.uncu@usmf.md](mailto:livia.uncu@usmf.md)

**Introduction.** Indocyanine green (ICG) is a clinically approved fluorescent dye widely used in medical imaging, especially for assessing blood flow, liver function, and lymphatic systems. Due to its ability to rapidly bind to plasma proteins and emit fluorescence in the near-infrared (NIR) range, ICG provides deep tissue penetration, making it ideal for non-invasive diagnosis and real-time monitoring during surgical procedures. However, its precise analysis and characterization require rigorous physico-chemical methods to ensure a detailed evaluation of its stability, concentration, and fluorescence parameters. This paper presents advanced physico-chemical methods used in the analysis of indocyanine green, including UV-Vis spectroscopy, fluorescence spectroscopy, high-performance liquid chromatography (HPLC), and confocal microscopy analysis. These techniques allow in-depth investigation of ICG's behavior in various media, essential for its clinical applicability and stability in pharmaceutical formulations [1].

**Aim of the study.** The purpose of this study was to investigate and synthesize the primary physico-chemical methods applied in the analysis of ICG, an organic dye with extensive applications in medical diagnostics.

**Material and methods.** An extensive bibliographic analysis was conducted, focusing on relevant articles and reference works available in scientific databases such as PubMed, ScienceDirect, and IEEE Xplore (39 ISI-indexed articles), primarily from the past decade. Literature selection criteria included the relevance and current application of physico-chemical methods used in the analysis of ICG, excluding outdated sources or those lacking sufficient experimental data.

**Results.** Based on the specialized literature, the advantages and limitations of spectroscopy, chromatography, and advanced microscopy techniques for evaluating the structural, spectral, and stability properties of indocyanine green were analyzed, aiming to optimize its use in medical practice and research. UV-Vis spectroscopy is one of the most frequently used methods for analyzing ICG, allowing determination of concentration and assessment of stability. Recent studies highlight the importance of establishing an optimal wavelength to maximize detection sensitivity, typically around 800 nm, specific to indocyanine. ICG is a fluorescent compound, and fluorimetry is useful for quantifying it at low concentrations. The intense fluorescence of this dye under near-infrared light conditions enables its application in biological contexts, including diagnostics and in vivo imaging. High-performance liquid chromatography (HPLC) is a valued technique for the separation and identification of ICG in various matrices, including biological fluids. Using C18 columns and UV or fluorimetric detection has demonstrated rapid and efficient separation. In recent years, electrochemical methods have been developed for redox characterization of indocyanine. These methods are useful in elucidating the degradation mechanism of ICG under oxidative conditions and for assessing stability in the presence of various excipients. Mass spectrometry (MS) is used for accurate identification of molecular mass and potential degradation products, enabling detection of possible impurities and specific structural fragmentation.

**Conclusions.** The study demonstrated the value of bibliographic analysis in consolidating methodologies. Spectroscopic and chromatographic methods are employed for a comprehensive characterization of ICG, providing both quantitative and qualitative information. UV-Vis spectroscopy and fluorimetry are accessible and sensitive methods for monitoring the concentration and stability of the dye, while HPLC and MS offer a detailed evaluation of purity and structural composition.

**Key words:** indocyanine green, HPLC, UV-Vis spectroscopy, fluorimetry.

#### **Bibliography.**

1. Khalafi, Shayan, Cristina Botero Fonnegra, Ana Reyes, and Vanessa W. Hui. 2024. „Developments in the Use of Indocyanine Green (ICG) Fluorescence in Colorectal Surgery” *Journal of Clinical Medicine* 13, no. 14: 4003. <https://doi.org/10.3390/jcm13144003>

#### **Authors' ORCID**

Tatiana Zugrav <https://orcid.org/0000-0002-5205-5471>

Ecaterina Mazur <https://orcid.org/0000-0003-0725-8410>

Gheorghe Anghelici <https://orcid.org/0000-0003-1063-2802>

Vladimir Valica <https://orcid.org/0000-0002-1068-5504>

Livia Uncu <https://orcid.org/0000-0003-3453-2243>