

CZU: 577.175.823.088.3:543.54+615.357

METODE DE ANALIZĂ APLICATE ÎN DOZAREA MELATONINEI**Maximilian GUȘAN¹, Elena DONICI^{1,2}, Natalia SPÎNU¹, Livia UNCUI^{1,2*}***¹Catedra de chimie farmaceutică și toxicologică, ²Centrul de dezvoltare a medicamentelor
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova*Autor corespondent*: livia.uncu@usmf.md

Introducere. Melatonina este un hormon natural sintetizat în principal de glanda pineală, cu un rol foarte important în reglarea ritmului circadian și a ciclului somn-veghe. Datorită proprietăților sale antioxidante, antiinflamatoare și neuroprotectoare, melatonina a câștigat interes nu doar în tratamentul tulburărilor de somn, ci și în diverse afecțiuni neurodegenerative și cardiovasculare. În consecință, monitorizarea precisă a nivelurilor de melatonină în diverse matrice biologice, precum sângele sau urina, este esențială pentru a înțelege mai bine farmacocinetica și efectele terapeutice ale acestui hormon [1]. Metodele de analiză utilizate în dozarea melatoninei, precum cromatografia lichidă de înaltă performanță (HPLC), spectrometria de masă (MS) și tehnicile imunologice, sunt fundamentale pentru evaluarea precisă și reproductibilă a concentrațiilor acestui compus în diferite aplicații clinice și cercetări farmaceutice [2].

Scopul lucrării. Evaluarea bibliografică a celor mai moderne metode de dozare a melatoninei, frecvent utilizate în bioanaliză, controlul calității produselor farmaceutice și a suplimentelor alimentare.

Material și metode. S-a efectuat o cercetare extensivă a literaturii de specialitate privind metodele de dozare a melatoninei, fiind evaluate 47 de surse, cu accent pe tehnicile moderne aplicate în analiza produselor farmaceutice, selectate din bazele de date PubMed, Scopus, și Web of Science, pentru perioada 2014-2024. Au fost utilizate cuvinte-cheie precum „melatonin quantification”, „HPLC melatonin”, „mass spectrometry melatonin” și „analytical methods for melatonin”. Studiile au fost selectate pe baza unor criterii clare: (1) relevanța metodei descrise pentru dozarea melatoninei din produse farmaceutice sau matrice biologice, (2) utilizarea tehnicilor moderne de analiză (HPLC, LC-MS, etc.), și (3) publicarea în reviste cotate ISI sau recunoscute internațional. De asemenea, au fost excluse articolele care nu conțineau date experimentale suficiente sau care descriau metode învechite. Analiza datelor a fost realizată prin compararea tehnologiilor moderne de dozare și evidențierea avantajelor și limitărilor acestora.

Rezultate. Evaluarea articolelor științifice privind metodele de analiză utilizate pentru dozarea melatoninei acoperind o perioadă de 10 ani de cercetări în domeniu, a identificat mai multe tehnici analitice, fiecare cu avantaje și limitări în funcție de contextul experimental sau clinic. Principalele metode utilizate atât pentru analiza produselor farmaceutice, cât și pentru cuantificarea melatoninei în lichide biologice, au fost metodele cromatografice, spectrale și electrochimice. Cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) s-a dovedit a fi cea mai frecvent utilizată (71% din sursele evaluate) datorită sensibilității și specificității ridicate. Majoritatea articolelor au evidențiat că HPLC cu detecție UV sau fluorimetrică este ideală pentru analiza melatoninei în probe biologice, cum ar fi plasma sau saliva. Detecția prin spectrometrie de masă (HPLC-MS) a fost de asemenea explorată, oferind un nivel superior de precizie, în special în studiile farmaceutice și de farmacocinetică. Cromatografia de gaz (GC), în special atunci când este cuplată cu spectrometrie de masă (GC-MS), a fost raportată în câteva studii ca o alternativă eficientă pentru probele care necesită derivatizare prealabilă. Deși este mai puțin utilizată decât HPLC, GC-MS a demonstrat performanțe foarte bune în detecția melatoninei la concentrații scăzute, mai ales în studii de toxicologie. Spectrofotometria

UV și fluorimetria, metode mai simple, au fost descrise în câteva articole, fiind preferate în laboratoarele cu acces limitat la echipamente complexe. Deși au fost apreciate pentru accesibilitate și costuri reduse, limitările lor au inclus sensibilitatea mai scăzută și potențialul de interferență din partea altor compuși din probe. Metodele electrochimice au fost raportate mai rar, dar câteva articole au menționat utilizarea senzorilor electrochimici, inclusiv a biosenzorilor specifici pentru melatonină. Aceste metode s-au dovedit promițătoare în contextul detecției rapide și a analizei în timp real, dar necesită o optimizare suplimentară pentru o aplicabilitate clinică largă.

Concluzii Analizând literatura, s-a observat că metodele cromatografice, în special HPLC-MS, sunt considerate standardul de aur pentru dozarea melatoninei, oferind rezultate reproductibile și precise în studii complexe. Totuși, pentru analizele de rutină sau screening rapid, metodele spectrofotometrice și fluorimetrice continuă să fie relevante datorită simplității și costurilor mai reduse.

Cuvinte cheie: melatonină, dozare, metode de analiză, cromatografie, spectrofotometrie, electrochimie.

Bibliografie.

1. Rzepka-Migut B, Paprocka J. Melatonin-Measurement Methods and the Factors Modifying the Results. A Systematic Review of the Literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Mar 15;17(6):1916. doi: 10.3390/ijerph17061916. PMID: 32183489; PMCID: PMC7142625.
2. Eremia SAV, Albu C, Radu GL, Ion M. Different Extraction Approaches for the Analysis of Melatonin from Cabernet Sauvignon and Feteasca Neagra Wines Using a Validated HPLC-FL Method. *Molecules*. 2023 Mar 19;28(6):2768. DOI: 10.3390/MOLECULES28062768. PMID: 36985741; PMCID: PMC10051364.

CZU: 577.175.823.088.3:543.54+615.357

METHODS OF ANALYSIS APPLIED IN MELATONIN DOSAGE

Maximilian GUȘAN¹, Elena DONICI^{1,2}, Natalia SPÎNU¹, Livia UNCUI^{1,2*}

Department of Pharmaceutical Chemistry and Toxicology, Drug Development Center, State University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”, Republic of Moldova

Corresponding author*: livia.uncu@usmf.md

Introduction. Melatonin is a natural hormone primarily synthesized by the pineal gland, playing a crucial role in regulating the circadian rhythm and the sleep-wake cycle. Due to its antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective properties, melatonin has gained interest not only in the treatment of sleep disorders but also in various neurodegenerative and cardiovascular conditions. Consequently, precise monitoring of melatonin levels in various biological matrices, such as blood or urine, is essential to better understand the pharmacokinetics and therapeutic effects of this hormone [1]. The analytical methods used in melatonin quantification, such as high-performance liquid chromatography (HPLC), mass spectrometry (MS), and immunological techniques, are fundamental for the accurate and reproducible evaluation of melatonin concentrations in various clinical and pharmaceutical research applications [2].

Aim of the study. To conduct a bibliographic review of the most advanced melatonin quantification methods frequently used in bioanalysis, quality control of pharmaceutical products, and dietary supplements.

Material and methods. An extensive literature review was conducted on melatonin quantification methods, evaluating 47 sources with a focus on modern techniques applied in pharmaceutical product analysis, selected from PubMed, Scopus, and Web of Science databases for the period 2014-2024. Key words used included „melatonin quantification,”

„HPLC melatonin,” „mass spectrometry melatonin,” and „analytical methods for melatonin.” Studies were selected based on clear criteria: (1) the relevance of the described method for melatonin quantification in pharmaceutical products or biological matrices, (2) the use of modern analytical techniques (HPLC, LC-MS, etc.), and (3) publication in ISI-indexed or internationally recognized journals. Articles lacking sufficient experimental data or describing outdated methods were excluded. Data analysis was conducted by comparing modern quantification technologies and highlighting their advantages and limitations.

Results. The evaluation of scientific articles covering a 10-year span of research on analytical methods for melatonin quantification identified several analytical techniques, each with advantages and limitations depending on the experimental or clinical context. The main methods used for both pharmaceutical product analysis and melatonin quantification in biological fluids were chromatographic, spectroscopic, and electrochemical methods. High-performance liquid chromatography (HPLC) was found to be the most frequently used (71% of the evaluated sources) due to its high sensitivity and specificity. Most articles highlighted that HPLC with UV or fluorometric detection is ideal for melatonin analysis in biological samples such as plasma or saliva. Mass spectrometry detection (HPLC-MS) was also explored, offering superior precision, especially in pharmaceutical and pharmacokinetic studies. Gas chromatography (GC), particularly when coupled with mass spectrometry (GC-MS), was reported in a few studies as an efficient alternative for samples requiring prior derivatization. Although less commonly used than HPLC, GC-MS showed excellent performance in detecting melatonin at low concentrations, particularly in toxicology studies. UV spectrophotometry and fluorimetry, simpler methods, were described in a few articles, being preferred in laboratories with limited access to complex equipment. Although appreciated for their accessibility and lower costs, their limitations included lower sensitivity and potential interference from other compounds in the samples. Electrochemical methods were reported less frequently, but a few articles mentioned the use of electrochemical sensors, including specific biosensors for melatonin. These methods have shown promise in rapid detection and real-time analysis, but further optimization is required for broader clinical applicability.

Conclusions. Reviewing the literature, it was observed that chromatographic methods, particularly HPLC-MS, are considered the gold standard for melatonin quantification, providing reproducible and precise results in complex studies. However, for routine analysis or rapid screening, spectrophotometric and fluorometric methods remain relevant due to their simplicity and lower costs.

Key words: melatonin, quantification, analytical methods, chromatography, spectrophotometry, electrochemistry

Bibliography.

1. Rzepka-Migut B, Paprocka J. Melatonin-Measurement Methods and the Factors Modifying the Results. A Systematic Review of the Literature. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Mar 15;17(6):1916. doi: 10.3390/ijerph17061916. PMID: 32183489; PMCID: PMC7142625.
2. Eremia SAV, Albu C, Radu GL, Ion M. Different Extraction Approaches for the Analysis of Melatonin from Cabernet Sauvignon and Feteasca Neagra Wines Using a Validated HPLC-FL Method. *Molecules*. 2023 Mar 19;28(6):2768. DOI: 10.3390/MOLECULES28062768. PMID: 36985741; PMCID: PMC10051364.

Authors' ORCID

Elena Donici	https://orcid.org/0000-0001-6862-7449
Natalia Spînu	https://orcid.org/0000-0003-1659-9962
Livia Uncu	https://orcid.org/0000-0003-3453-2243