

EPR

Primene u farmaciji

BioScope Labs

www.bioscope.ffh.bg.ac.rs

Prof. Miloš Mojović



EPR – osnovni principi

- EPR laboratorija na FFH
- EPR – primena u: fizičkoj hemiji, biologiji, medicini, farmaciji ...

<http://www.bioscope.ffh.bg.ac.rs/eprlab/about-us/>



Izgled aparature za EPR u spektrometriju u X i L oblasti:

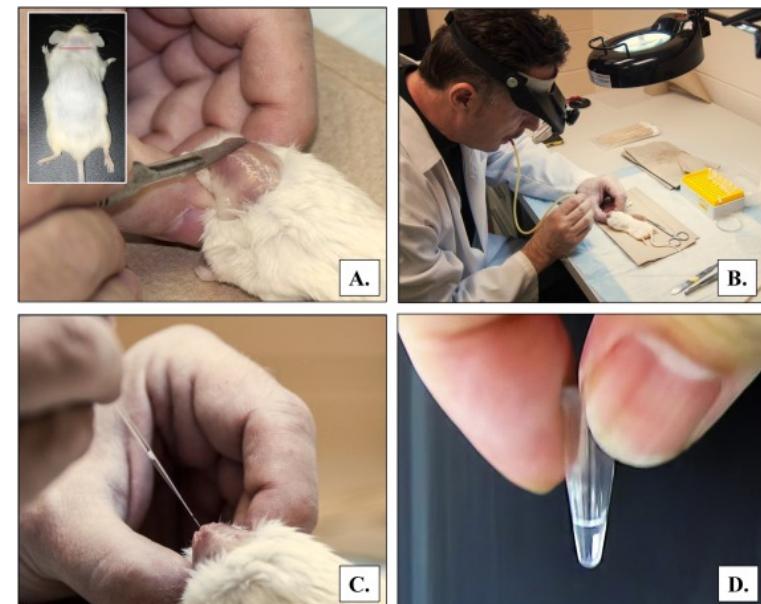
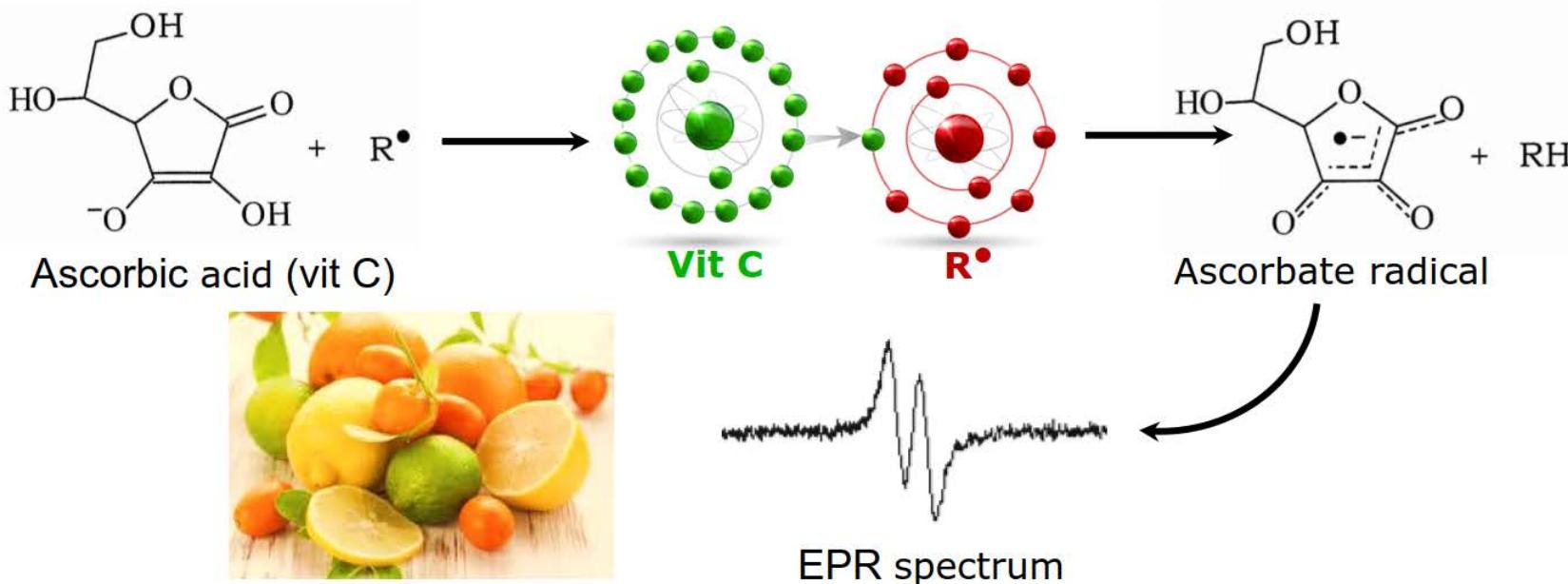
EPR Bruker Biospin Elexsys II E540

- X- (9.5GHz), L-band (1.2GHz)
- Rezonatori
- Različita snimanja: tN₂ (100-350K), tHe (4-100K)
- EPR spektroskopija i imidžing



Šta je EPR?

- Detektujemo nesparene elektrone.
- Slobodni radikali, prelazni metali.
- Jedina poznata tehnika koja direktno detektuje slobodne radikale.

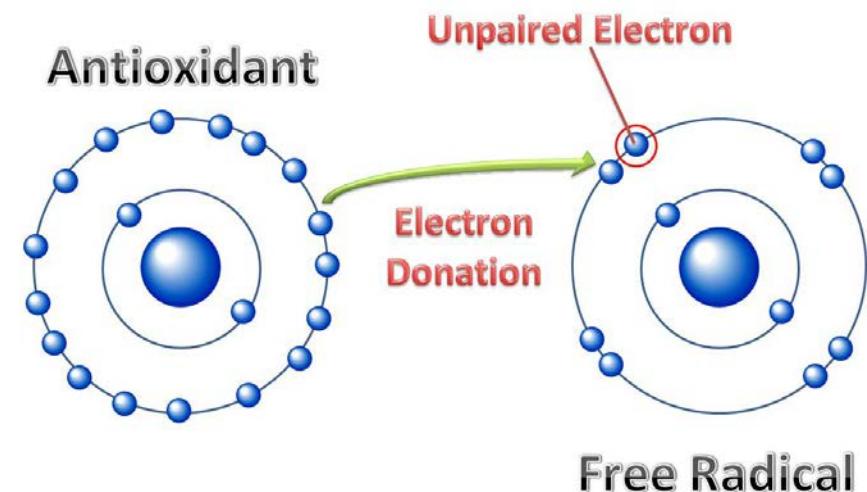




EPR Lab

Slobodni radikali i antioksidansi

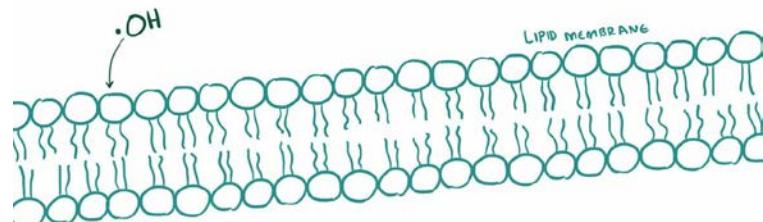
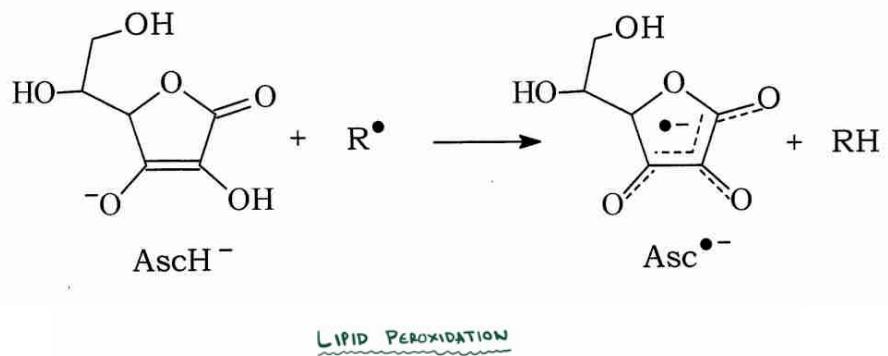
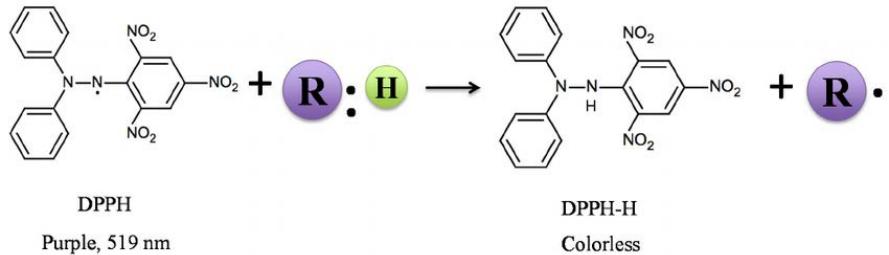
- **Šta su slobodni radikali?**
- Izazivaju oštećenja DNK, proteina, ćel. membrana, povezani sa patofiziološkim stanjima.
- **Da li su slobodni radikali samo štetni?**
- **Šta su antioksidansi?**
- Sprečavaju ili usporavaju oksidaciju drugih molekula uklanjajući slob. radikale.
- Ima ih u biljkama, raznim tradicionalnim lekovima, hemijski ih generišemo ...





EPR metode

Određivanje antioksidativne aktivnosti



- EPR je **jedina pouzdana metoda** za ovu svrhu.
- Druge metode često se baziraju na uklanjanju biološki-irelevantnih radikala (npr. DPPH ili ABTS) kao i puko oslanjanje na analitiku bez konkretnih dokaza o uticaju na ROS ili RNS.
- EPR spektroskopija može:
 1. Odrediti kapacitet AOX da ukloni $\cdot OH$, $\cdot O_2^-$, $\cdot NO$... (generatorski sistemi).
 2. Odrediti kapacitet AOX da ukloni dugoživeće radikale ($CC\cdot$, $Asc\cdot^-$).
 3. Odrediti kapacitet AOX da speči **lipidnu peroksidaciju** u membrani indukovanoj ROS i RNS (primenom lipozoma, micela i cel. kultura).



EPR metode

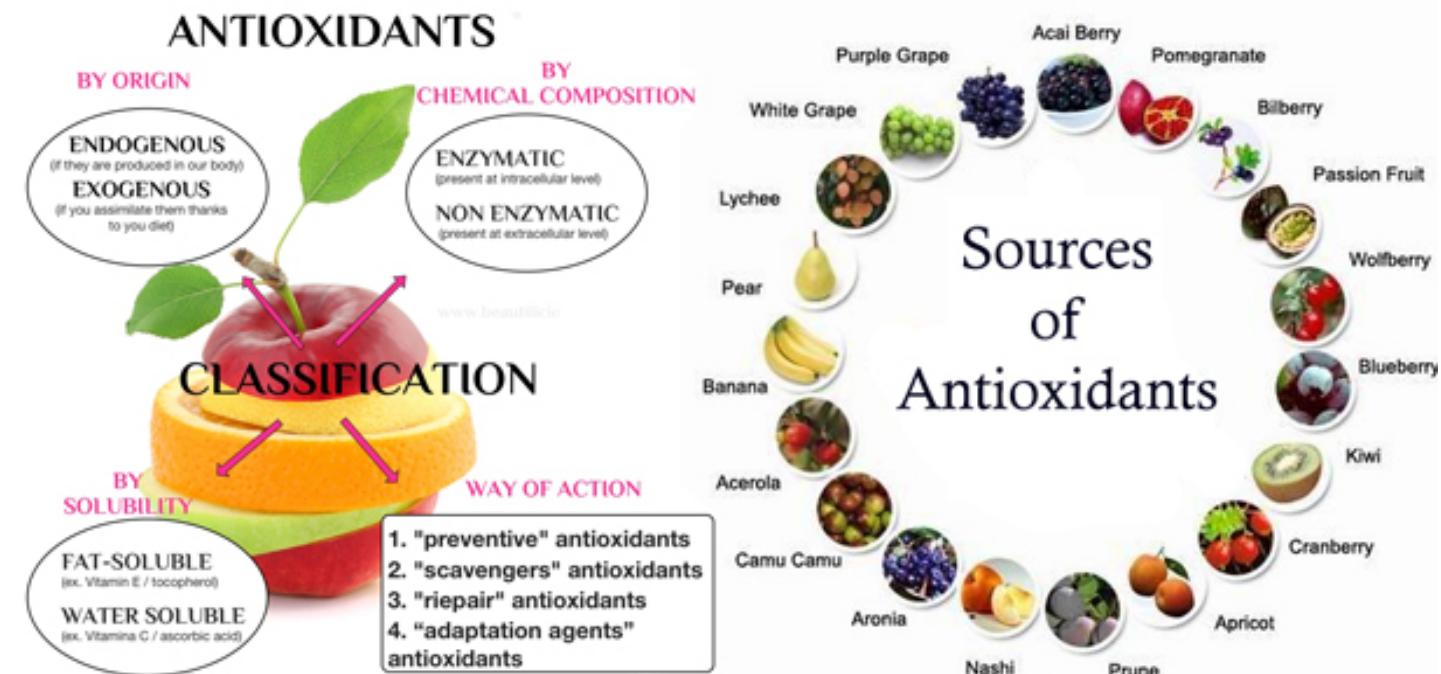
Određivanje AOX kapaciteta vodonerastvornih jedinjenja

Šta raditi sa vodonerastvornim AOX?

- Najbolji AOX su često vodonerastvorni i ovo je problem koji se teško (ili loše) rešava.

- EPR može rešiti i ovaj problem pomoću posebne metode.
- Ova metoda je inače ekskluzivno razrađena u **EPR Lab FFH**.

Nakarada et. al. Liposomal integration method for assessing antioxidative activity of water insoluble compounds toward biologically relevant free radicals: example of avarol, J Liposome Res. 30 (2019) 218-226.





EPR metode

Određivanje AOX kapaciteta za uklanjanje kratkoživećih radikala

EPR spin-trapping

- Oksidativni stres je uzrok mnogih patofizioloških stanja.
- Neke metode su posredne (spektrofluorimetrija). Problemi: ima artefakata.
- EPR može meriti $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2^-$, NO^\cdot (čak i *in vivo*) pomoću spin-trap metode.
- **Princip spin-trap metode:**
- Ovako možemo detektovati ROS intra- i ekstracelularno.

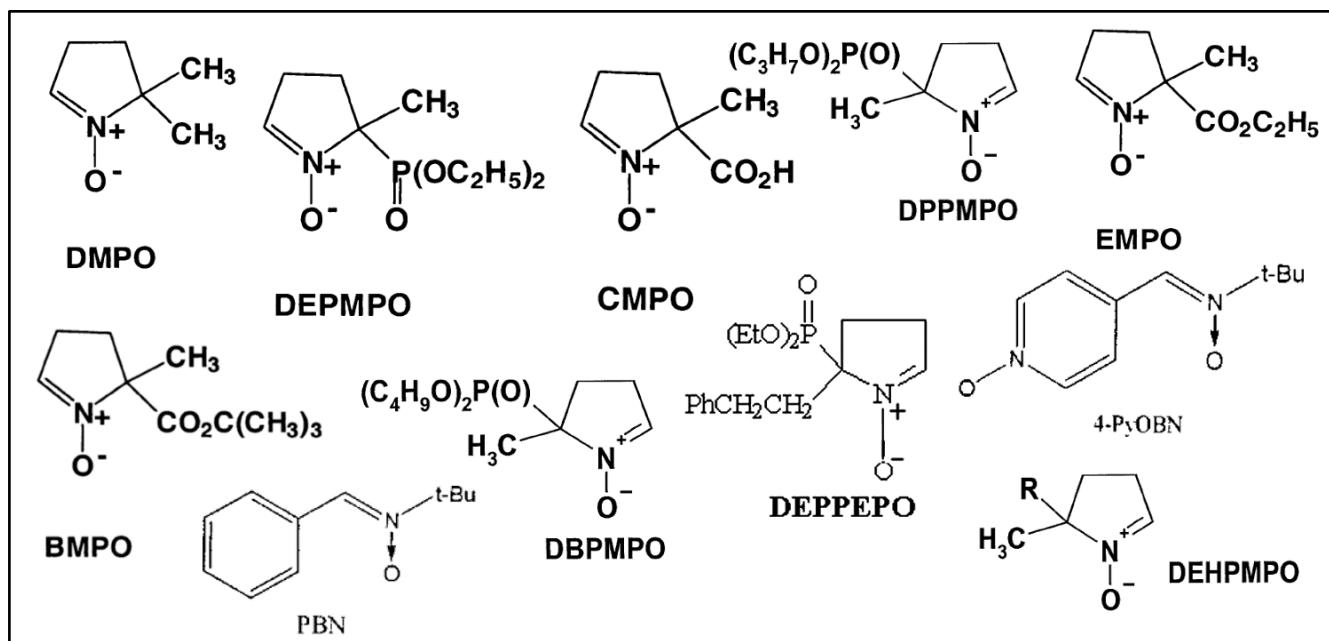




EPR metode

EPR spin-traping

- Šta mora da poseduje jedan dobar spin-trap?
- Spin-trap market?



Problemi:

- Preskupi su.
- Često sadrže nečistoće.
- Degradiraju se na višim T.
- Imaju isuviše složen EPR signal.
- U višim dozama letalni.
- Adukti skloni raspadanju.
- Adukti podložni i redukciji i oksidaciji.
- Složena kinetika.

Benefiti:

- Neprocenjivi.



EPR metode

EPR spin-traping *in vivo?*

Type	Name	Structure	Lipophilicity	Lifetime of O ₂ ^{•-} Products	Detection	Applications
Spin Traps	PBN		10	-	R [•] RO [•]	Detection of R-C[•] in vitro and in vivo.
	POBN		0.15	-		
	DMPO		0.06	0.9 min	OH [•] , O ₂ ^{•-} , R [•] , RO [•]	Cell-free and extracellular detection of OH[•], O₂^{•-}, R[•], S[•].
	EMPO		0.33	10 min		
	DEPMPO		0.16	17 min	OH [•] O ₂ ^{•-} RO ₂ [•] R [•] S [•]	Cell-free and extracellular detection of OH[•], O₂^{•-}, R[•], S[•].
	BMPO		-	23 min		

- Detekcija O₂^{•-} radikala u biosistemima limitirana je sporom kinetikom O₂^{•-} trapovanja ($\sim 55 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
- Biodegradacija adukata (redukcija do HA i oksidacija u sekundarne nitrone).
- Ali, ciklični HA reaguju sa O₂^{•-} 100 puta brže nego trapovi!
- Mogu se takmičiti sa ćelijskim AOX i reagovati sa intraćelijskim O₂^{•-}.
- Neki spicificni HA ...



EPR metode

Tehnika upotrebe hidroksilamina

Type	Name	Structure	Lipophilicity	Lifetime of O ₂ ^{•-} Products	Detection	Applications
Cyclic Hydroxylamines	PP-H		0.005	More than 4 hours in blood plasma, in cells and tissue Can be used <i>in vivo</i> i.p. and i.v. injections	$O_2^{\bullet-}$ ONOOH Aryl-O [•]	Quantitative measurements of extracellular O₂^{•-} and quantification of intracellular O₂^{•-} in cells and tissue samples. <i>In vivo</i> O₂^{•-} detection.
	CAT1-H		0.01			
	CP-H		0.05			
	CM-H		27			
	TMT-H		35			
	TM-H		43			

- Nedostatak specifičnosti HA prevazilazimo korišćenjem inhibitora proizvodnje O₂^{•-} i SOD.
- Bitno je nanelektrisanje probe (katjonska, anjonska, neutralna).
- Bitna je lipofilnost i ćelijska propustljivost za specifičnu probu.
- *Site-specific* O₂^{•-} detekcija sa visokom osetljivošću.
- Neki specifični spin-trapovi ...



EPR metode

EPR spin-trapovi

CDMIO . K

[4-Carboxy-2,2-dimethyl-2H-imidazole-1-oxide . K]

ALX-430-089-M010	10 mg
ALX-430-089-M050	50 mg

Water soluble, **non-cell permeable spin trap**. Stable against reduction by vitamin C and thiols.

DMPIO

[2,2-Dimethyl-4-phenyl-2H-imidazole-1-oxide]

ALX-430-088-M010	10 mg
ALX-430-088-M050	50 mg

Widely used, **cell permeable** and highly sensitive **spin trap**. Alternative to PBN (Prod. No. ALX-430-082). More lipophilic than TMIO (Prod. No. ALX-430-073). Does not trap the superoxide radical.

TMPO

[3,3,5,5-Tetramethyl-pyrroline-N-oxide; M4PO]

ALX-430-084-M100	100 mg
ALX-430-084-M500	500 mg

Solid cell permeable spin trap.

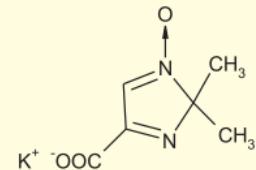
TMIO

[2,2,4-Trimethyl-2H-imidazole-1-oxide]

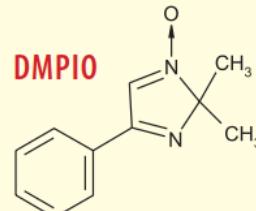
ALX-430-073-M050	50 mg
ALX-430-073-M250	250 mg
ALX-430-073-G001	1 g

Selective, **cell permeable** and non-toxic **spin trap** for peroxy nitrite and secondary O-, C-, S-, and N-centered free radicals.

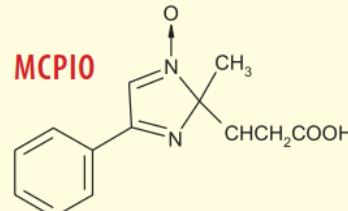
Chemical Structures



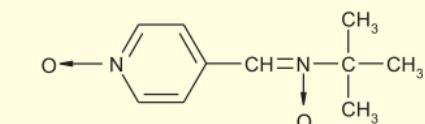
CDMIO . K



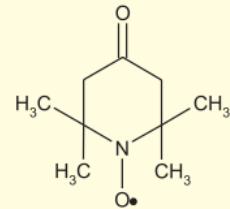
DMPIO



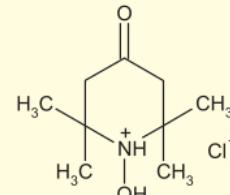
MCPIO



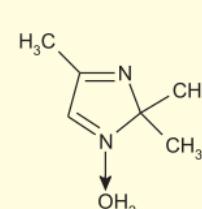
POBN (high purity)



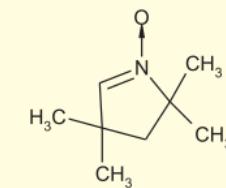
TEMPONE



TEMPONE-H . HCl



TMIO



TMPO

MCPIO

[2-(2-Carboxyethyl)-2-methyl-4-phenyl-2H-imidazole-1-oxide]

ALX-430-083-M010	10 mg
ALX-430-083-M050	50 mg

Cell permeable, stable spin trap. Alternative to PBN (Prod. No. ALX-430-082).

POBN (high purity)

[α -(4-Pyridyl 1-oxide)-N-tert-butylnitronite]

ALX-430-091-M500	500 mg
ALX-430-091-G001	1 g

Cell permeable hydrophilic spin trap for both *in vivo* and *in vitro* studies. Water soluble analog of PBN (Prod. No. ALX-430-082). Low paramagnetic impurities.

TEMPONE-H . HCl

[1-Hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-4-oxo-piperidine . HCl]

ALX-430-071-M010	10 mg
ALX-430-071-M050	50 mg
ALX-430-071-M250	250 mg

Very effective, cell permeable and non-toxic **spin trap** for the detection of superoxide radical and peroxy nitrite.



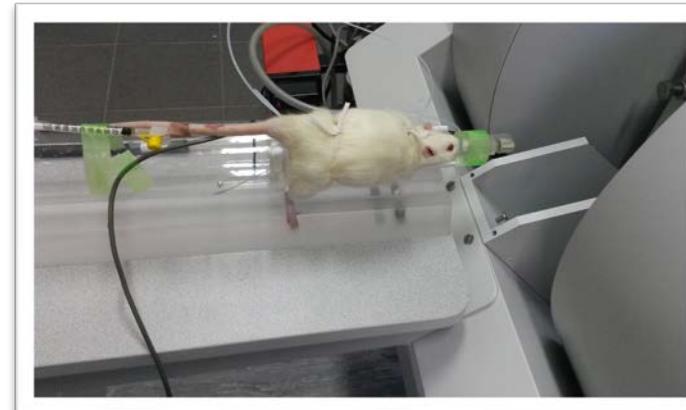
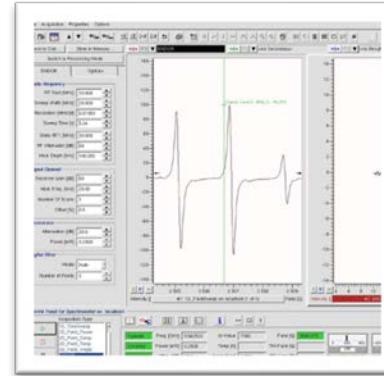
EPR metode

Određivanje antioksidativne aktivnosti *in vivo*

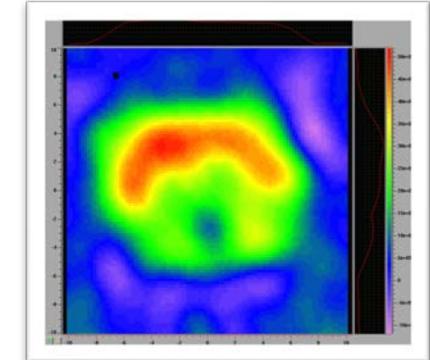
Da li su mogući *in vivo* EPR eksperimenti?

- Da li možemo vizualizovati performanse jednog antioksidansa *in vivo*?
- Možemo, upotrebom kombinovane EPR spektroskopije i imidžinga.
- Koriste se spinske probe ili NO trapovi (za sada).

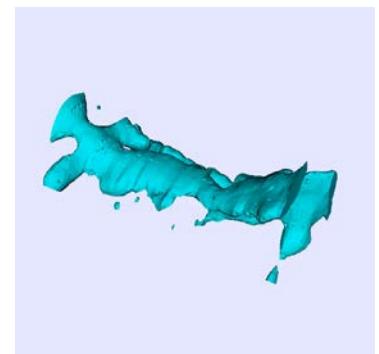
Slobodni radikali *in vivo*
EPR spektroskopija



In vivo EPR merenje



Slobodni radikali *in vivo*
2D EPR imidžing



Slobodni radikali *in vivo*
3D EPR imidžing

- L-band EPR spektroskopija i imidžing.
- Svi eksperimenti sa životinjama moraju se izvoditi u skladu sa domaćim i međunarodnim zakonima “Animal testing regulation laws”.



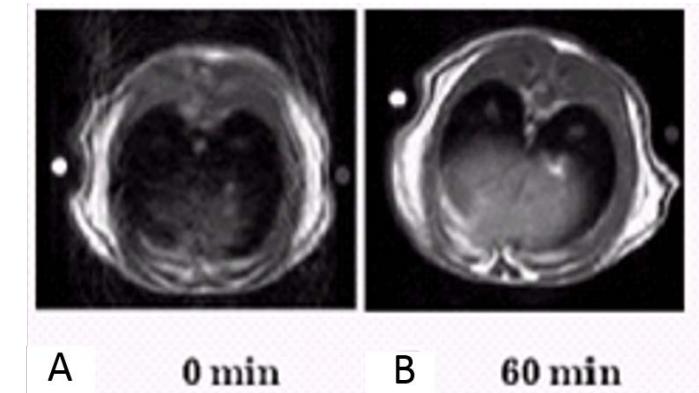
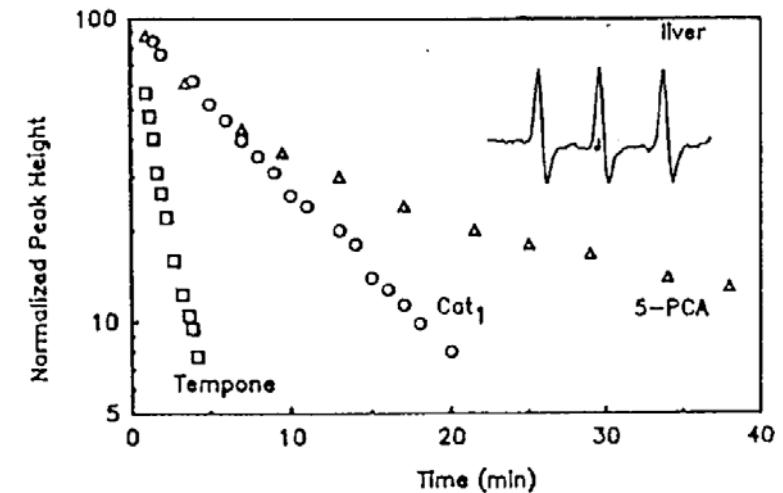
EPR metode

In vivo spektroskopija malih životinja za detekciju NO i ROS



Ispitivanje farmakokinetike nitroksida

- L-band EPR rezonatori u koje smeštamo male životinje.
- EPR signal se smanjuje pod uticajem ispiranja probe ili delovanjem endogenih antioksidanasa.
- Možemo pratiti BBB propustiljnost ili totalni antioksidativni kapacitet tkiva i organa.
- Rezultati se porede sa onima koji se dobijaju kada se aplicira potencijalni lek.
- Paramagnetski efekat nitroksida može istovremeno poslužiti i kao MRI kontrastni agens.



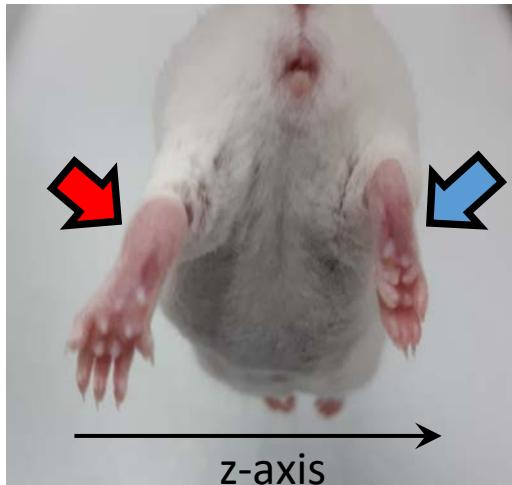


EPR metode

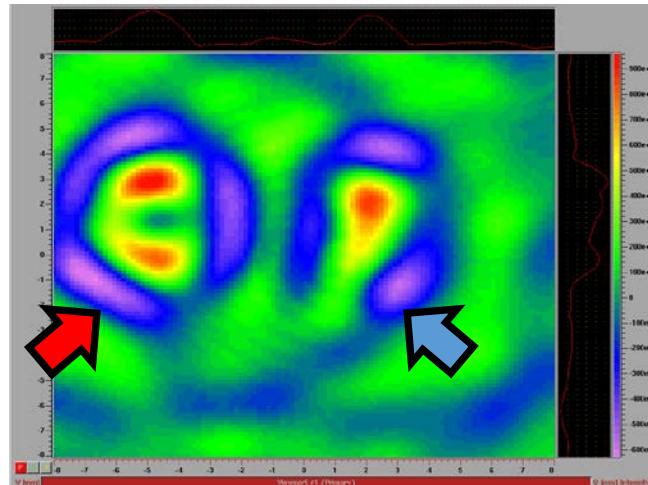
Određivanje efikasnosti antiinfiamatornih lekova *in vivo*

Inflamacija

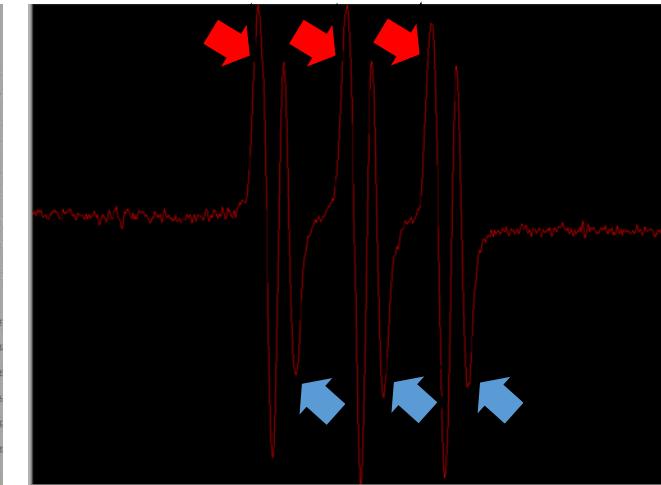
- Indukujemo inflamaciju (npr. pomoću LPS ili lokalno).
- Snima se redukcija signala spinske probe *in vivo* kao posledice poremećenog redoks statusa.
- Može se raditi i EPR spektroskopija i *imaging*.



Miš - 2.5 meseci starosti
(indukovana inflamacija leve noge)



In vivo 2D EPR slika u x-z ravni koja prikazuje inflamiranu i zdravu nogu



In vivo 1D gradijentni EPR spektrum duž z-ose, snimljen posle 10 min



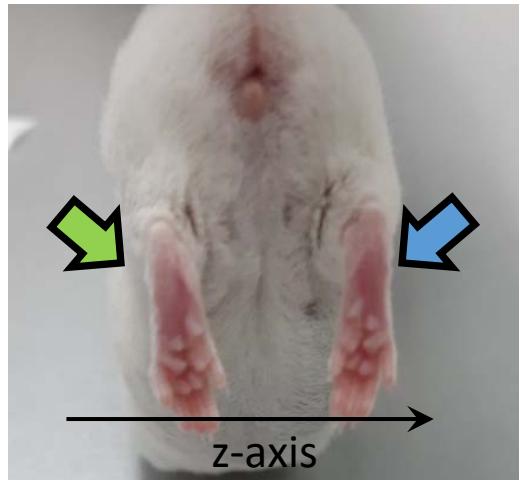
EPR metode

Određivanje efikasnosti antiinflamatornih lekova *in vivo*

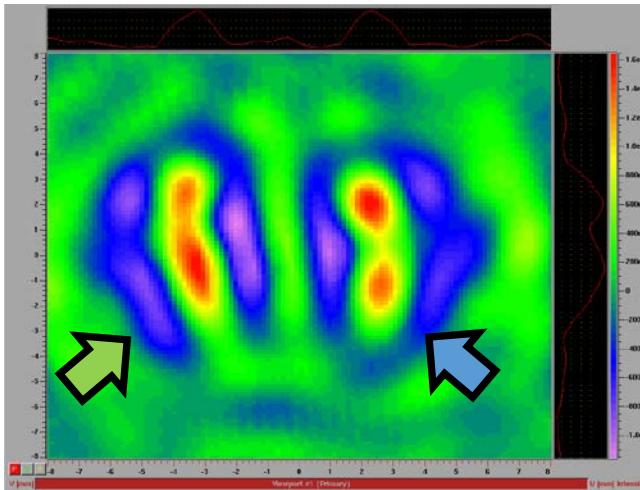


Delovanje antiinflamatornog leka

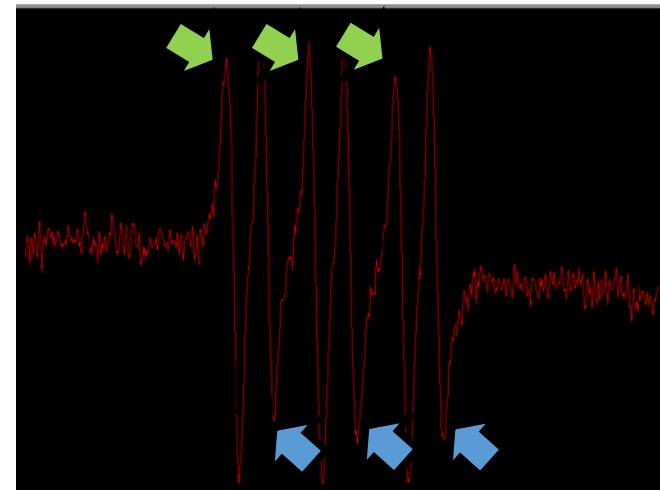
- Tretiramo inflamaciju.
- Snima se redukcija signala spinske probe *in vivo* kao posledice poremećenog redoks statusa.
- Može se raditi i EPR spektroskopija i *imaging*.



Miš - 2.5 meseci starosti
Tretirana inflamirana leva noga



In vivo 2D EPR slika u x-z ravni koja prikazuje tretiranu i zdravu nogu



In vivo 1D gradijentni EPR spektrum duž z-ose, snimljen posle 10 min



EPR metode

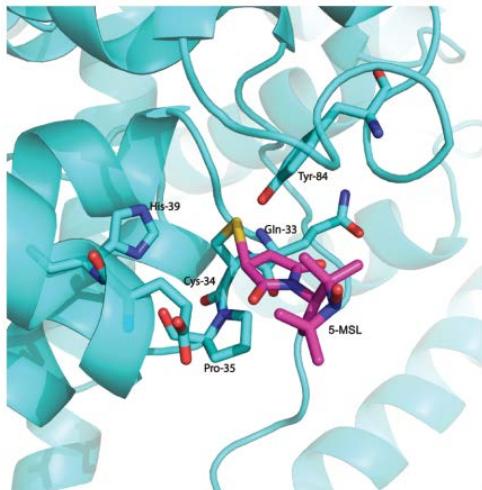
Spinsko obeležavanje

Gaucher disease (GD) is a lysosomal storage disorder, caused by an impaired function of β -glucocerebrosidase, which results in accumulation of glucocerebroside in cells.

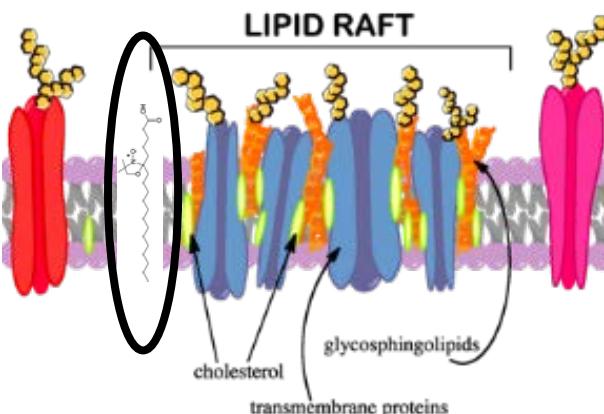
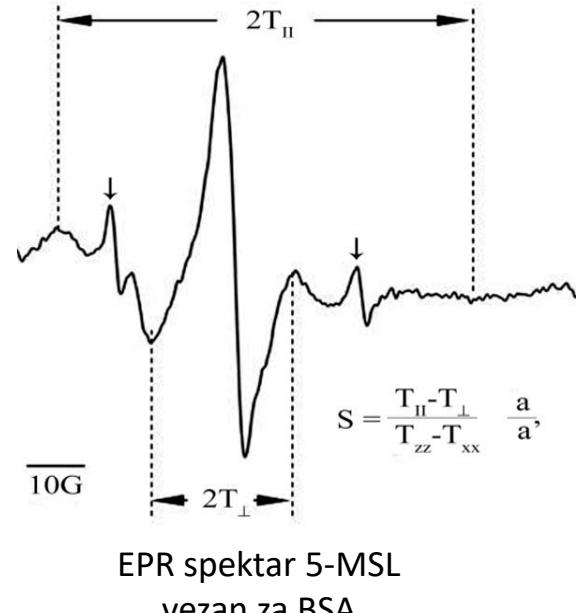
Pavićević et. al. *J. Phys. Chem. B*, 10898–10905, 118 (2014).

EPR spinsko obeležavanje membrana i proteina

- Koristimo specijalno dizajnirane EPR-aktivne molekule (spinske obeleživače).
- Obeležavamo membrane i proteine.
- Možemo detektovati lipidnu peroksidaciju od strane ROS/RNS.
- Možemo ispitivati konformacione promene proteina (npr. u interakciji sa lekovima)
- Primer: Praćenje efikasnosti terapije Gošeove bolesti lekom Elelyso (obeležavanje membrana PBMC)



Spin-label 5-MSL kovalentno vezan za Cys-34 od BSA

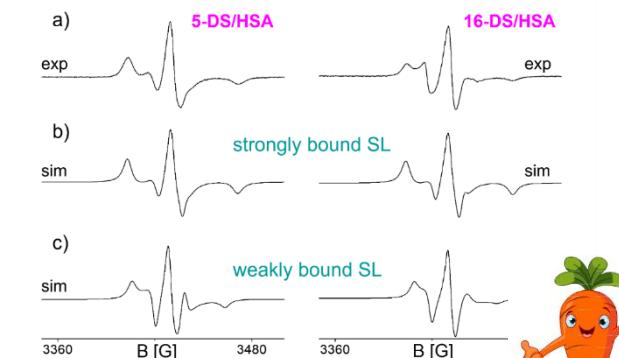


5-DS i 16-DS ugrađeni u membranu PBMC



	Strongly bound (SB)	Weakly bound (WB)	Ratio SB/WB
5-DS / control-HSA	$0.79 \pm 0.08^*$	0.15 ± 0.02	5.3 ± 0.5
16-DS / control-HSA	0.63 ± 0.06	0.33 ± 0.03	1.9 ± 0.2
5-DS / LABC-HSA	0.49 ± 0.05	0.44 ± 0.04	1.1 ± 0.1
16-DS / LABC-HSA	0.43 ± 0.04	0.39 ± 0.04	1.1 ± 0.1

*The mean value of 15 simulations. The goodness of fits for all simulations was <5.

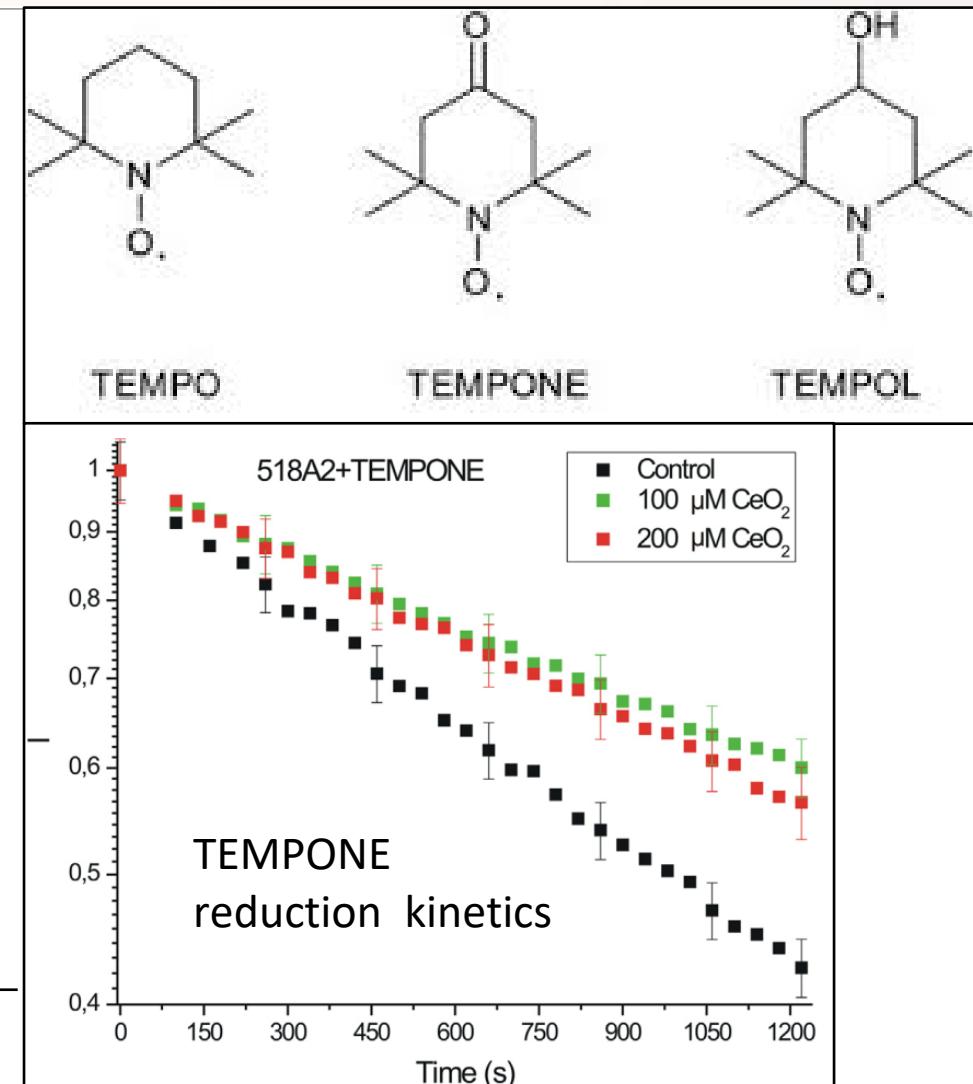




EPR metode

Ispitivanje ćelija kancera

- Efakt leka na proizvodnju ROS od ćelijskih linija melanoma 518A2 i kolorektalnog adenocarcinoma HT-29.
- **EPR metoda spin-proba** pomoću TEMPONE.
- Kinetika redukcije spinske probe povezuje se sa količinom slobodnih radikala u sistemu.
- Rezultati pokazuju potencijal novih lekova u smislu oštećenja antioksidativnog kapaciteta kancer ćelija.
- CONP (cerium oxide nanoparticles) pokazuju nisku inhibitorsku aktivnost za zdrave humane ćelije.





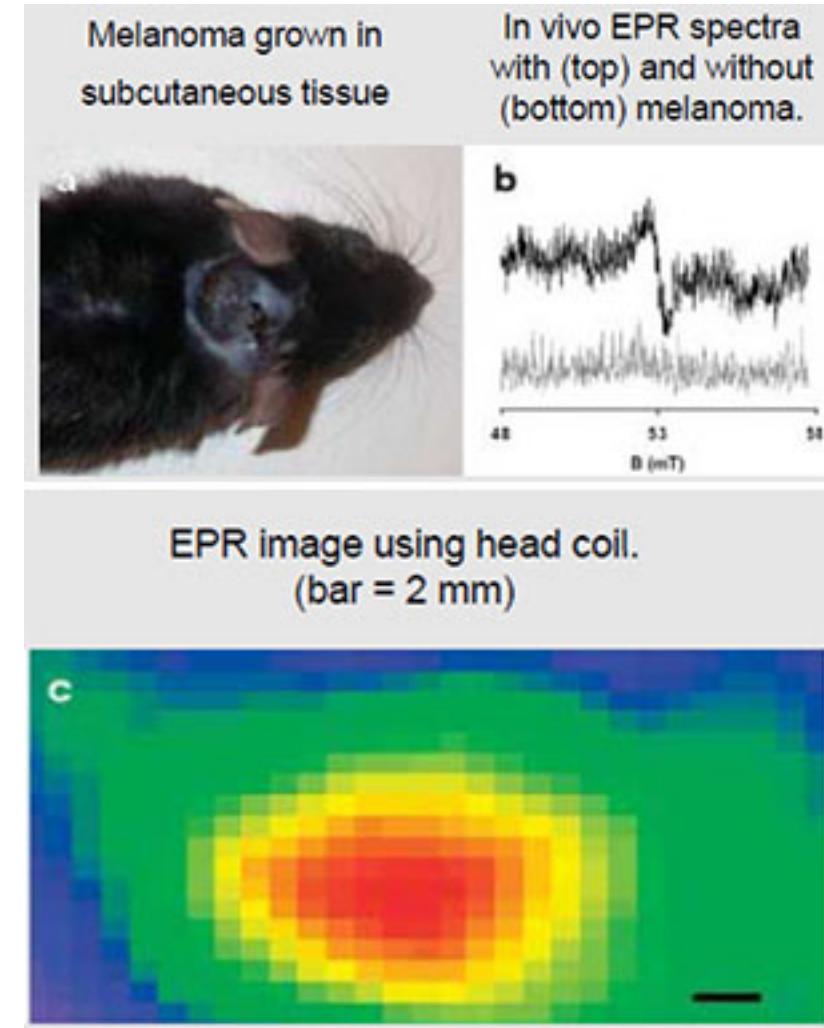
EPR metode

EPR spektroskopija i imidžing - koža



Primena u farmaciji - koža

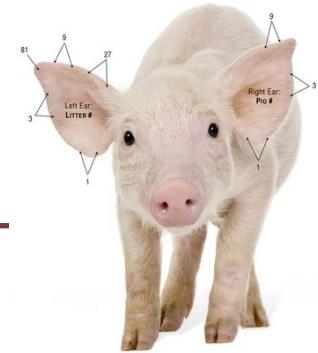
- Direktino ispitivanje uticaja leka na prisustvo slobodnih radikala u koži.
- Lek može ili namerno generisati radikale ili ih uklanjati.
- Ispitavanje delovanja UV zračenja na kožu (sa i bez leka).
- Ispitivanje isporuke lekova kroz kožu (integrisanih u lipozome ili micele).
- Praćenje kontrolisane isporuke lekova kroz kožu.





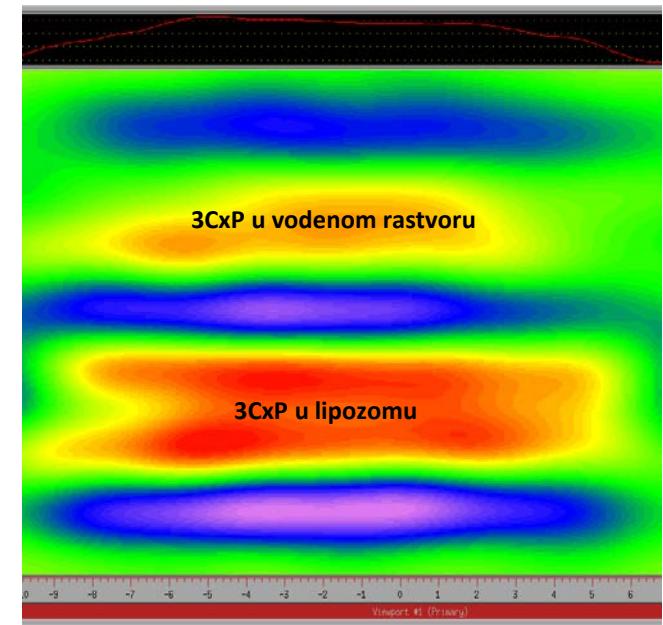
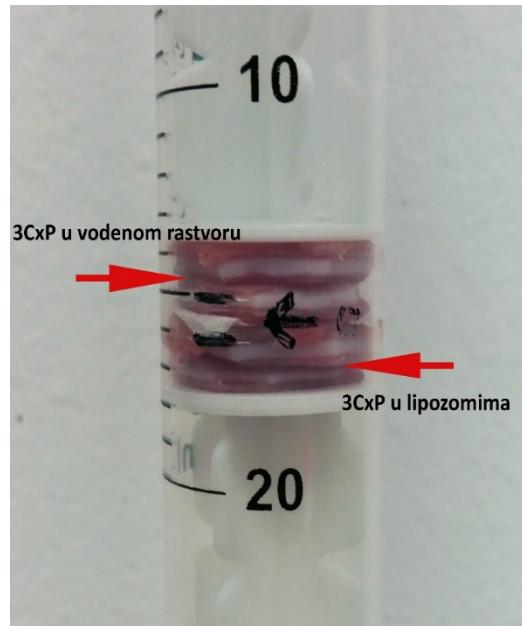
EPR metode

Ispitivanje prodiranja kozmetičkih preparata i kožu *ex vivo*



Primer: primena u farmaciji – prodiranje u kožu

- Ispitivanje signala 3CxP probe kao zamene za aktivnu komponentu leka.
- Cilj je ispitivanje isporuke lekova kroz kožu (razlika: vodeni rastvor leka i lekova integrisanih u lipozome).
- Krajnji cilj je kontrolisana isporuke lekova kroz kožu.



Osim toga što je evidentno dublje prodiranje lipozoma kroz kožu (nego vodenog rastvora), primetna je i razlika u nivou redukcije signala 3CxP probe askorbatom.

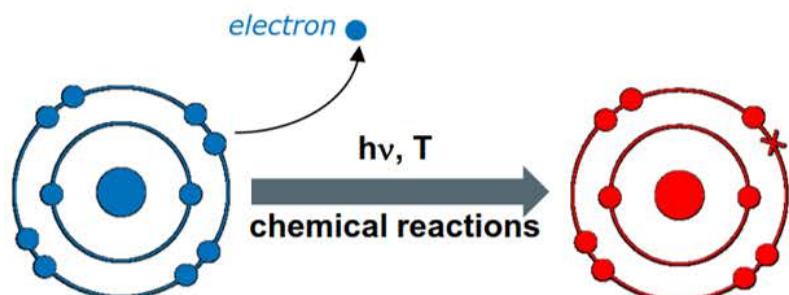
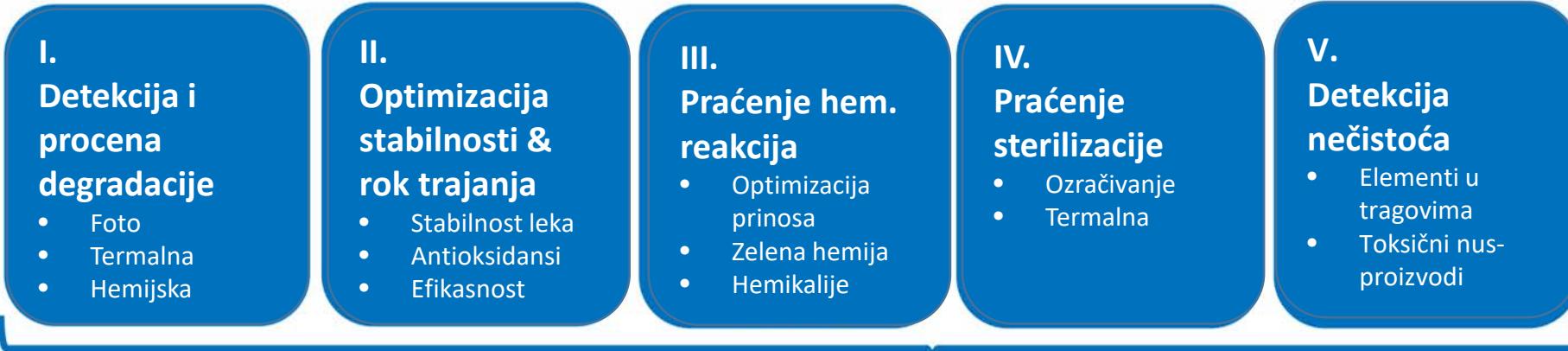


Još neke primene u farmaciji

Zašto je potrebno detektovati slobodne radikale u lekovima?



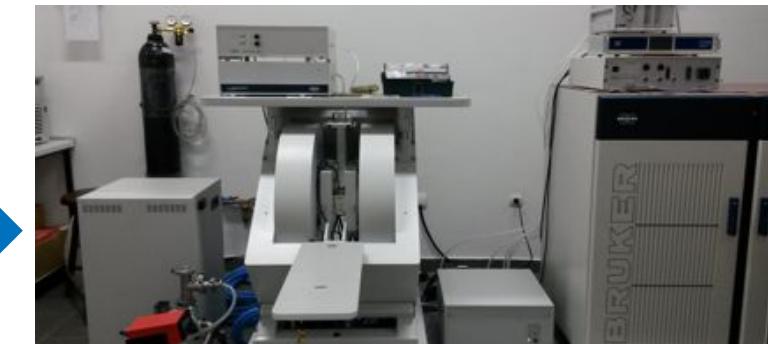
- Ima 5 oblasti gde nam EPR može pomoći:



Stabilni molekul

Slobodni radikal

Slobodi
radikali i
prelazni
metali





Još neke primene u farmaciji

I. Praćenje degradacije leka

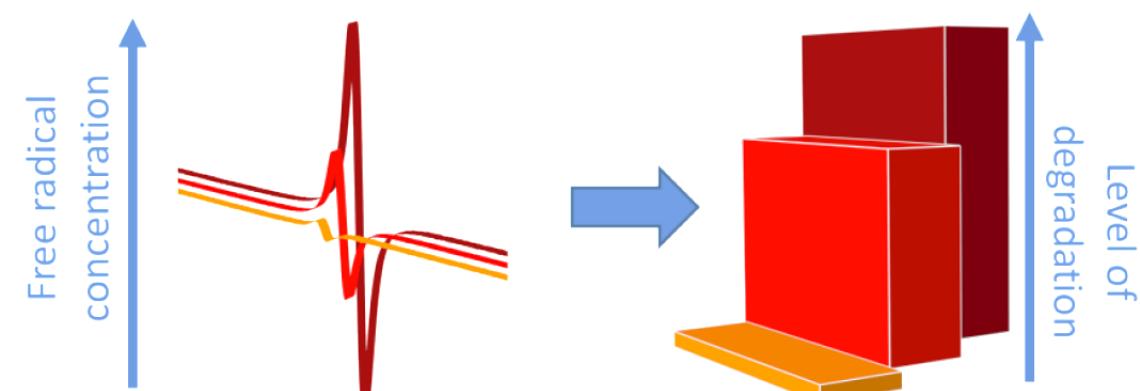


Faktori koji utiču na stabilnost farmaceutskog preparata:

- Toplota
- Svetlost (UV, VIS)
- Kiseonik
- Vлага
- Proces sterilizacije
- Nečistoće
- Pomoćni sastojci

Svi ovi faktori utiču na degradaciju API-ja, dodatka leku ili formulacija

- Degradacioni procesi često uključuju učešće slobodnih radikala i prelaznih metala
- Degradacija se koreliše sa EPR signalom





Još neke primene u farmaciji

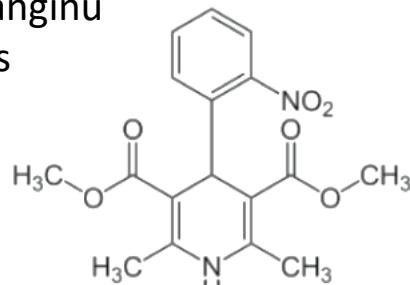


I. Praćenje degradacije leka

- Kako EPR ovde može pomoći?

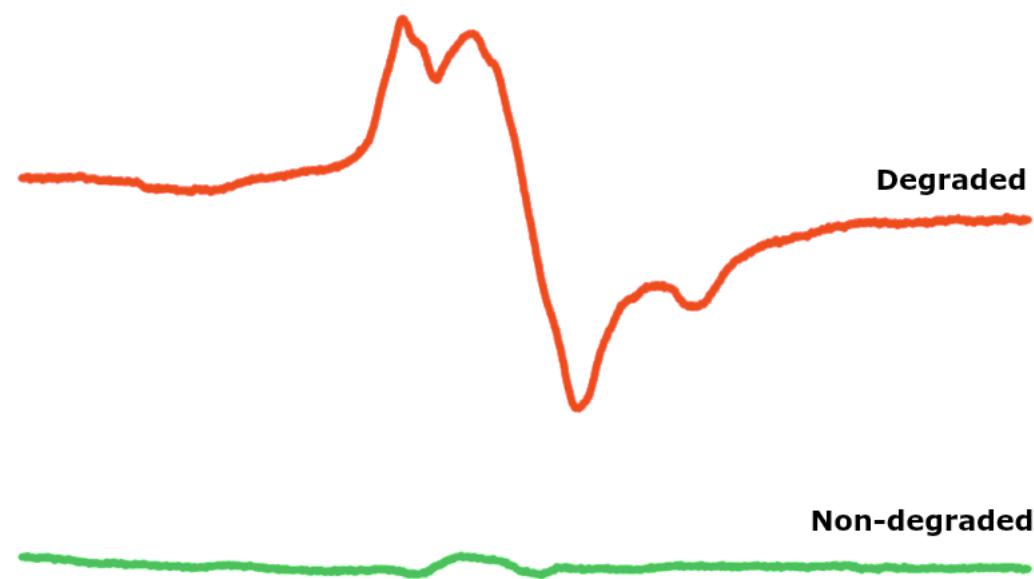
- Merenjem tj. određivanjem uzročnika degradacije leka
- Merenjem nivoa degradacije API-ja, dodataka leku ili formulacija
- Predvideti rok trajanja tj. stabilnost API-ja, dodataka leku ili formulacija

Lek za anginu
pectoris



Nifedipine

Photodegradation of Nifedipine after exposure to light shows the formation of N-based free radical. The amount of free radicals corresponds to the level of degradation



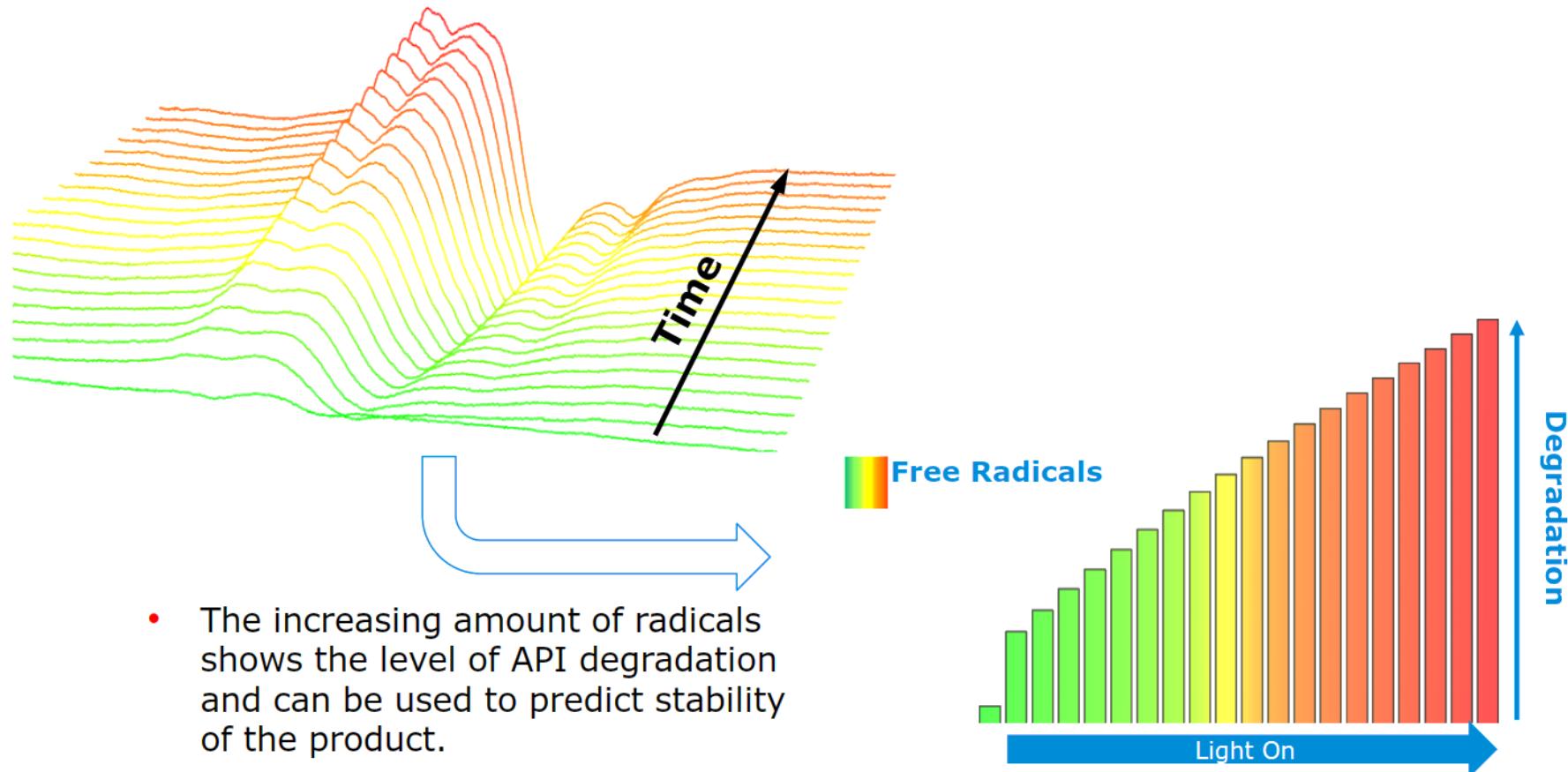


Još neke primene u farmaciji



I. Praćenje degradacije leka

- Vremenska zavisnost visine EPR pika radikala dobijenog degradacijom API-ja



Williams H.E. and Claybourn M. (AstraZeneca), Predicting the photostability characteristics of active pharmaceutical ingredients using electron paramagnetic resonance spectroscopy, *Drug Dev. Ind. Pharm.* (2012) 38(2) 200



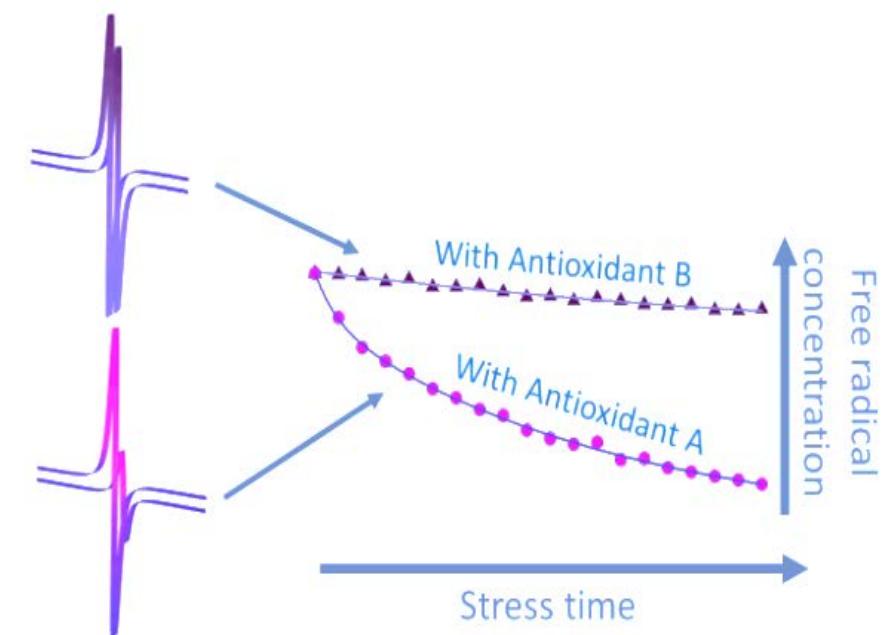
Još neke primene u farmaciji

II. Optimizovanje stabilnosti i roka trajanja leka



- Ispitivanje kako indukovani oksidativni stres utiče na oksidaciju/degradaciju u cilju predviđanja stabilnosti leka.
- Tokom testa na stres, lek se podvrgava toploti, delovanju svetlosti i hemijskim agensima
- Na ovaj način se postiže:
 - Bolje razumevanje mehanizama degradacije
 - Određivanje svojstvene stabilnosti i roka trajanja
 - Razvijanje stabilnijih formulacija

Antioxidant A is more effective than antioxidant B at quenching the free radicals in the drug formulation





Još neke primene u farmaciji

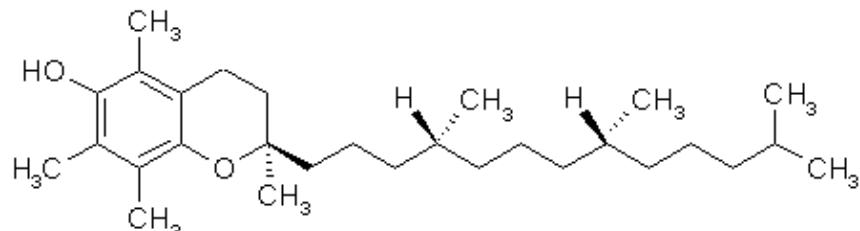
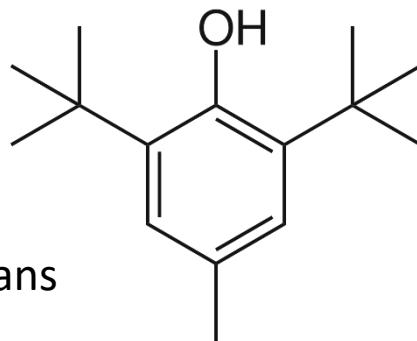
II. Optimizovanje stabilnosti i roka trajanja leka



- Kako EPR ovde može pomoći?

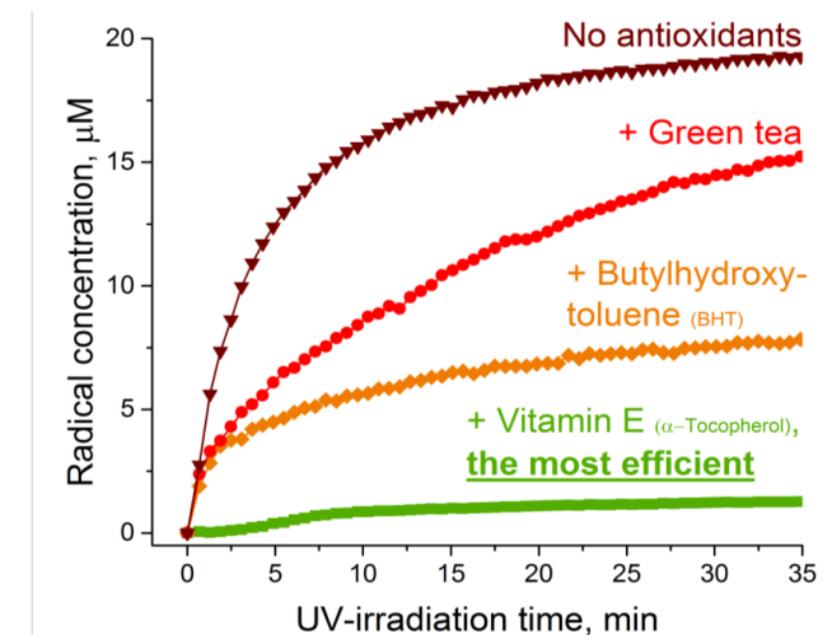
- Praćenjem procesa koji uključuju proizvodnju slobodnih radikala, što može pomoći u predviđanju dugotrajne foto-, termo- i hemijske stabilnosti leka.
- Za ispitivanja su potrebne izuzetno male količine leka (važno za početne faze razvoja leka).
- Određivanje antioksidativne efikasnosti leka za uklanjanje slobodnih radikala pomoću ranije ustanovljenih eseja.

BHT - lipofilni antioksidans



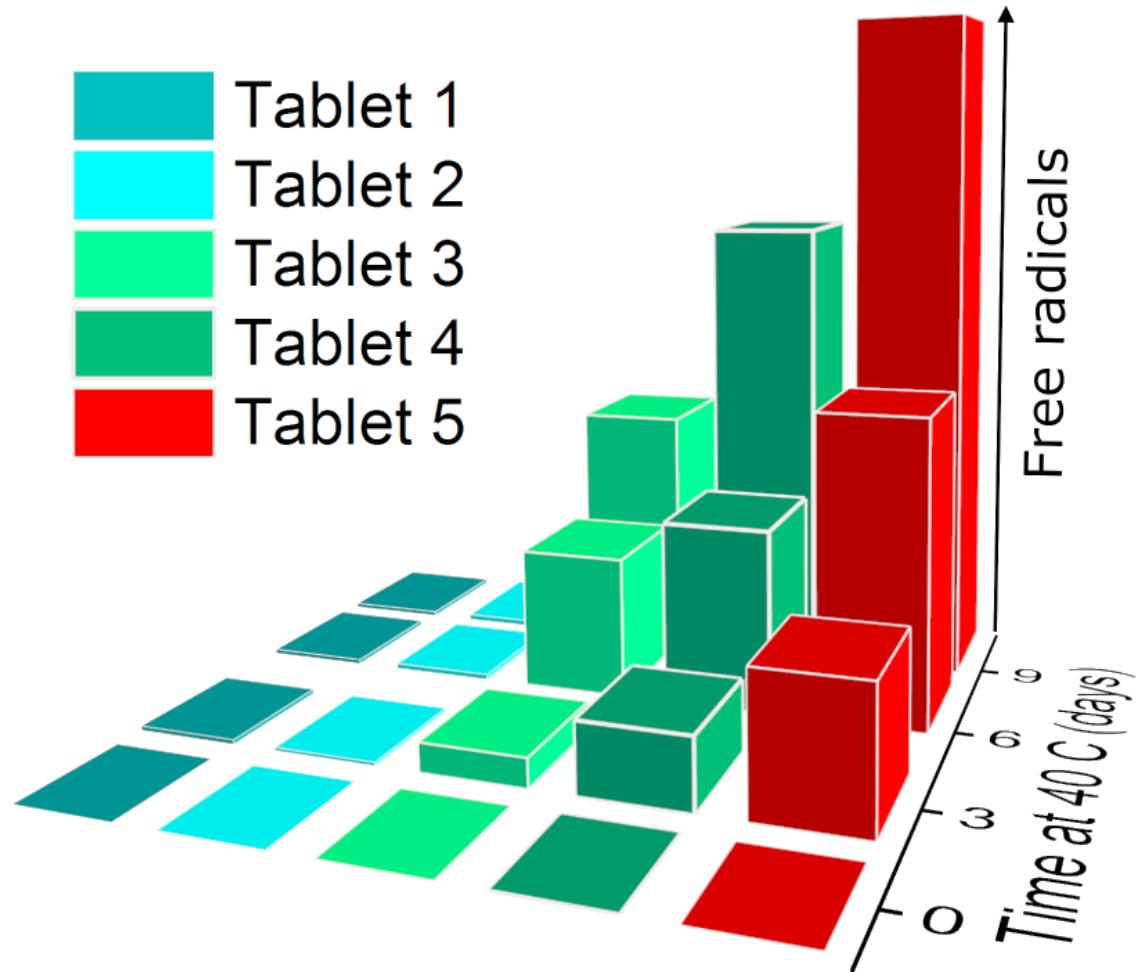
α -tokoferol iz vitamina E

Evaluation of antioxidants' effect on a skin care product during UV-irradiation shows vitamin E to be the most efficient antioxidant.



Još neke primene u farmaciji

II. Optimizovanje stabilnosti leka i roka trajanja leka



Određivanje roka trajanja:

- Pet formulacija u obliku tableta se testiraju na temperaturski stres od 40°C , tokom perioda od 10 dana.
- Povećana koncentracija slobodnih radikala u tabletama 3-5, pokazuje skraćen rok trajanja leka.
- Tablete 1&2, koje imaju nisku koncentraciju slobodnih radikala, pokazuju bolji potencijal za dalji razvoj leka.

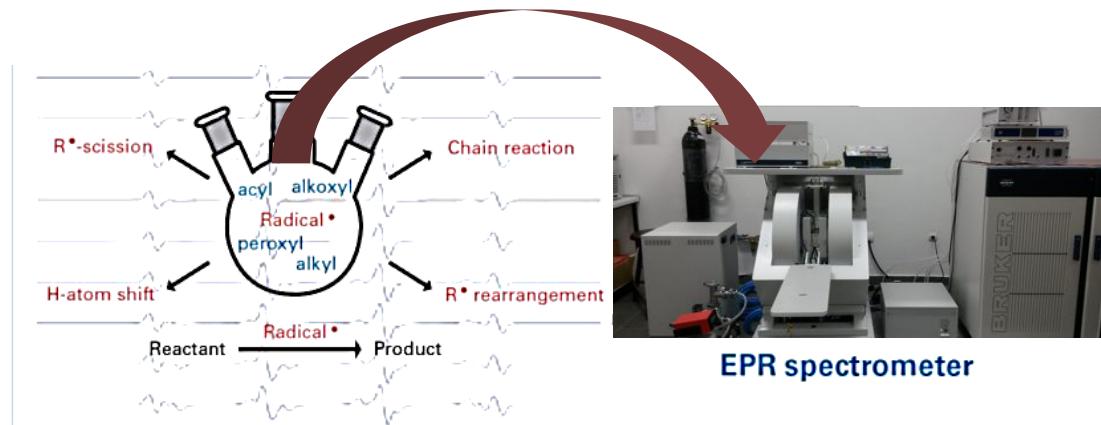


Još neke primene u farmaciji

III. Praćenje toka hemijskih reakcija – proizvodnja leka



- Praćenje reakcije je kritično za proces razumevanja, optimizacije i unapređenje procesa proizvodnje leka.
- Razumevanje reakcionih mehanizama vodi smanjenju troškova i očuvanju kvaliteta finalnog proizvoda.
- Informacije dobijene iz proučavanja kinetike i modelovanja, omogućavaju predviđanje uslova sinteze leka, što dovodi do optimizacije i kontrole procesa proizvodnje leka, kao i proceni rizika.
- Detaljno poznavanje hemijskih mehanizama proizvodnih procesa, koji uključuju radikale i prelazne metale, su važni za povećanje prinosa i ekološkim aspektima proizvodnje leka.



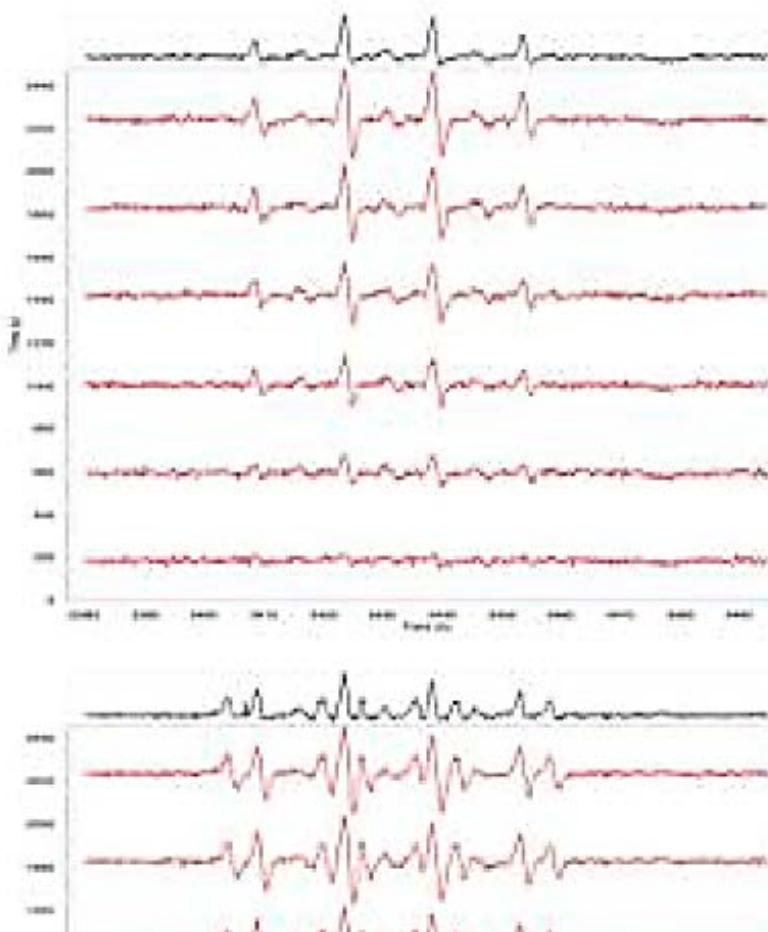


Još neke primene u farmaciji

III. Praćenje toka hemijskih reakcija



- Kako EPR ovde može pomoći?



- Identifikacija reakcionih intermedijera (slobodnih radikala i prelaznih metala) daje informacije o mehaničkim svojstvima leka.
- Dobijaju se odgovori na dva osnovna pitanja: reakcioni prinos i reakciona kinetika.
- Dobijaju se podaci za kreiranje kinetičkih modela.
- Kvantifikacija količine slobodnih radikala i metala tokom reakcije.

Hydroxyl Radical Generation by Ultrasonic Irradiation

As an example of closed loop reaction analysis, the radical generation initiated by ultrasonic irradiation was analyzed. When hydrogen peroxide (H_2O_2) is added to water and ultrasonic irradiation is performed, OH radicals are generated. These OH-radicals can be observed by using the spin trapping reagent DMPO (Fig. 4 upper). When methanol is added, both OH- and carbon centered radicals are generated from the water and methanol (Fig. 4 lower). The radical identities were determined by SpinFit and their concentration by SpinCount. The kinetics are analyzed by the Xenon software.

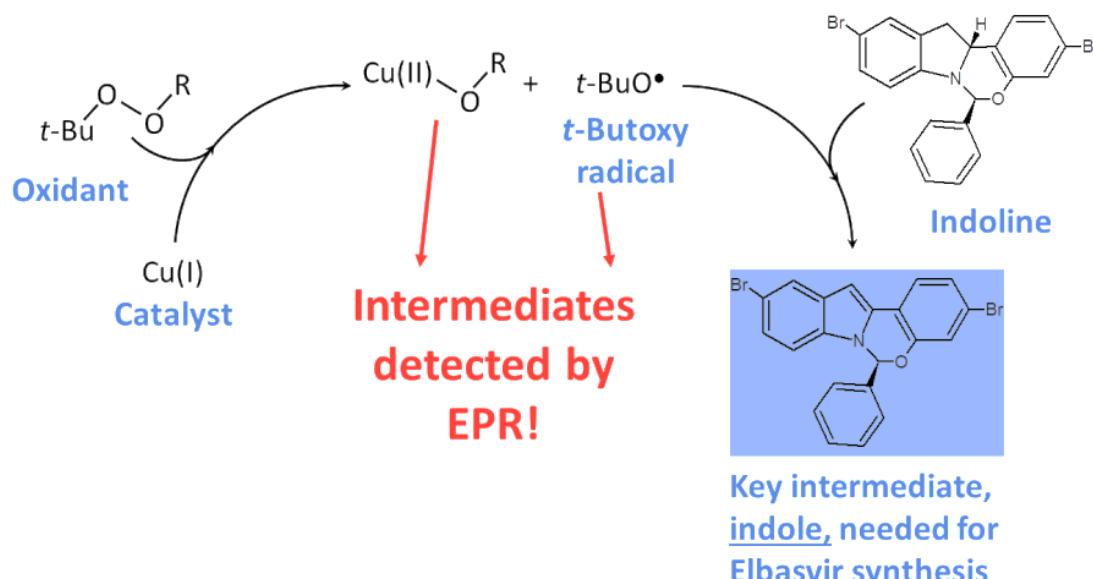


Još neke primene u farmaciji

III. Praćenje toka hemijskih reakcija

Još jedan primer istraživanja kompanije MERCK:

- Praćenje da li se generišu EPR aktivni intermedijeri prilikom proizvodnje novog leka za Hepatitis C (Elbasvir).
- Predloženi mehanizam pretpostavlja da je Cu(I) katalizator, pri čemu se oksiduje u Cu(II) i tert-butoksi radikal.
- Prati se efikasnost sinteze leka koja bi trebala da bude >92%.



Simplified proposed mechanism of indoline oxidation

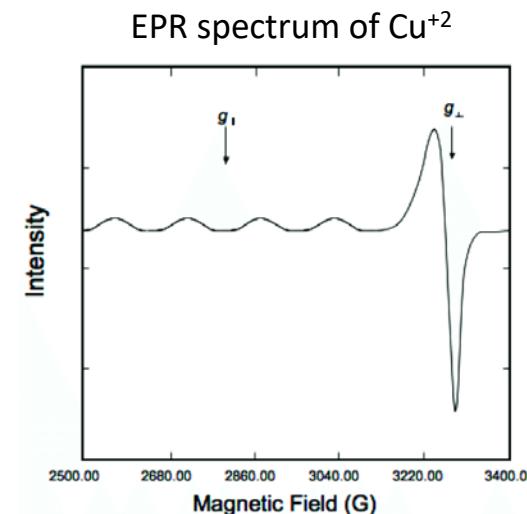
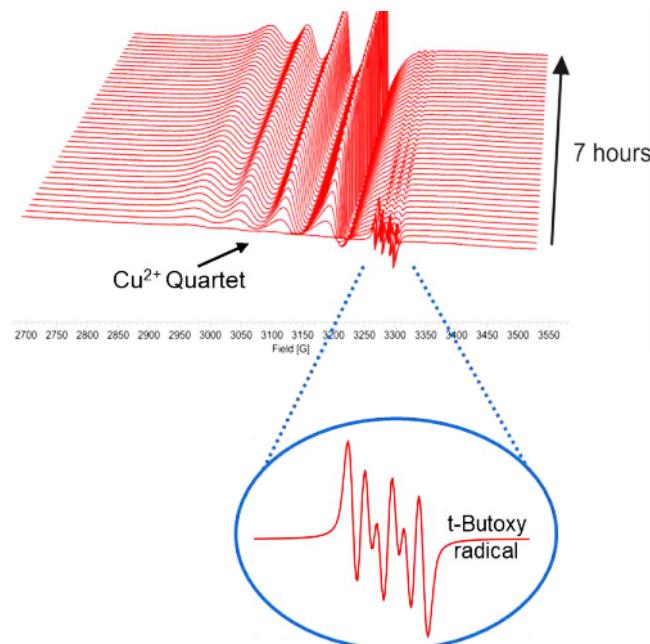
Peng F. et. al. (Merck), A mild Cu(I)-catalyzed oxidative aromatization of indolines to indoles, *J. Org. Chem.* (2016) 81 10009

Još neke primene u farmaciji

III. Praćenje toka hemijskih reakcija

Primer kompanije MERCK:

- Praćenje reakcije potvrđuje oksidaciju EPR neaktivnog Cu(I) u EPR aktivni Cu(II).
- EPR signal Cu(II) dostiže plato posle oko 3 sata što ukazuje na kraj reakcije.
- t-Butoksi radikal se takođe detektuje putem EPR spin-trap metode.
- Kvantitativna EPR analiza oba intermedijera daje informaciju o efikasnošću sinteze leka.



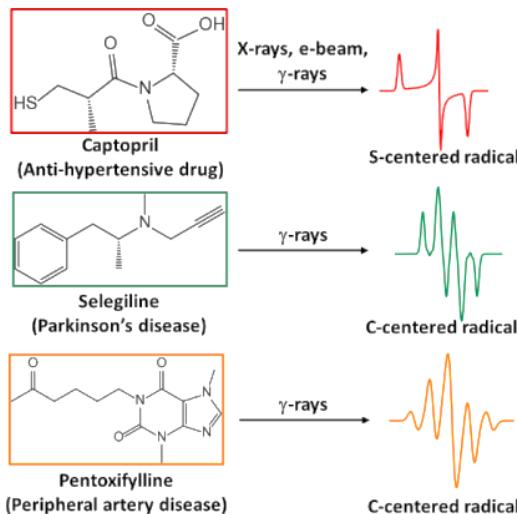
Peng F. et. al. (Merck), A mild Cu(I)-catalyzed oxidative aromatization of indolines to indoles, *J. Org. Chem.* (2016) 81 10009

Još neke primene u farmaciji

IV. Praćenje procesa sterilizacije

- Ispravna sterilizacija API-ja, dodataka leku, finalne formulacije leka, laboratorijske opreme i medicinskih uređaja su veoma važni za proizvođače lekova.
- Međutim, proces sterilizacije može rezultovati stvaranjem radikala koji:
 - Su odgovorni za degradaciju ozračenog materijala
 - Su odgovorni za promenu fizičkohemijskih osobina sterilisanog proizvoda
 - Smanjuju efikasnost leka zbog njegove delimične degradacije tokom procesa sterilizacije
 - Mogu predstavljati toksikološku opasnost

Examples:

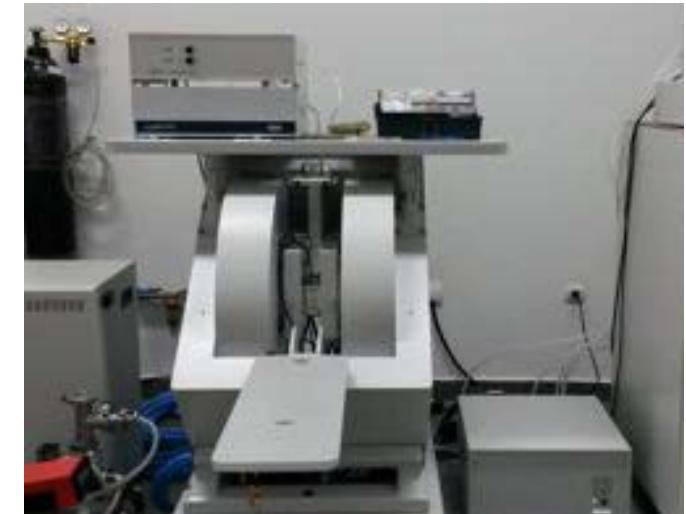
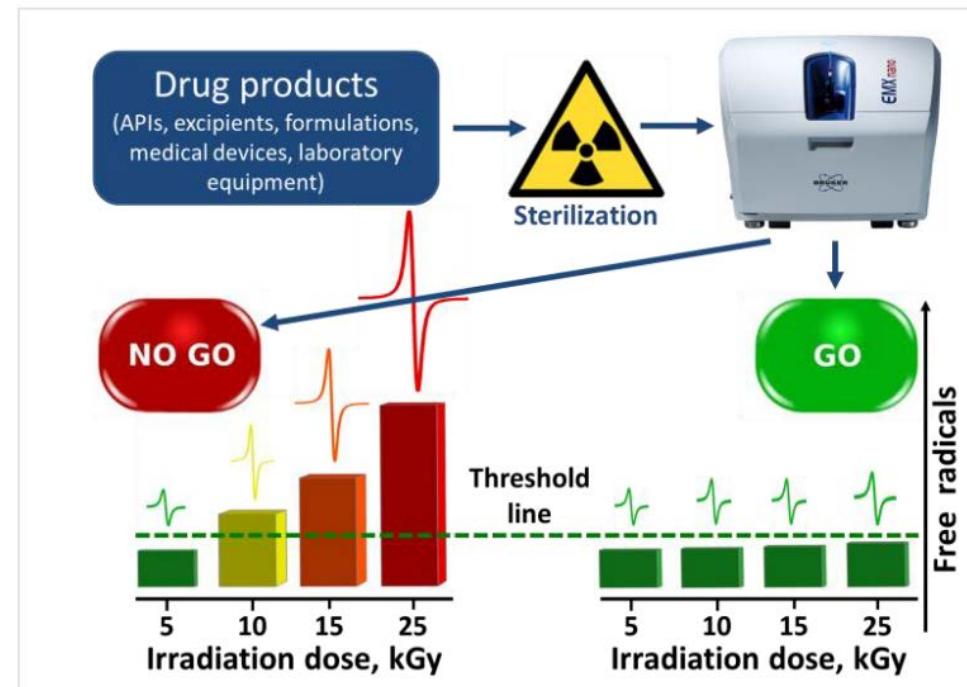


- Ozračivanje leka gama-zracima u čvrstom stanju (Captopril, Selegiline, Pentoxifylline) indukuje generisanje S- ili C-centriranih slobodnih radikala.
- Identifikacija vrste radikala daje uvid u bolje razumevanje mehanizma radiolize.
- Kvantifikacija radikalinskog prinosa koristi se za uspostavljanje granične vrednosti doze prilikom radiosterilizacije lekova.

Još neke primene u farmaciji

IV. Praćenje procesa sterilizacije

- Kako EPR ovde može pomoći?
- Određuje se stabilnost leka nakon sterilizacije.
- Može se vršiti karakterizacija slobodnih radikala i identifikacija njihovog izvora.
- Omogućava donošenje važnih odluka tokom proizvodnje leka baziranih na kvantifikaciji slobodnih radikala tokom provjere kvaliteta leka.



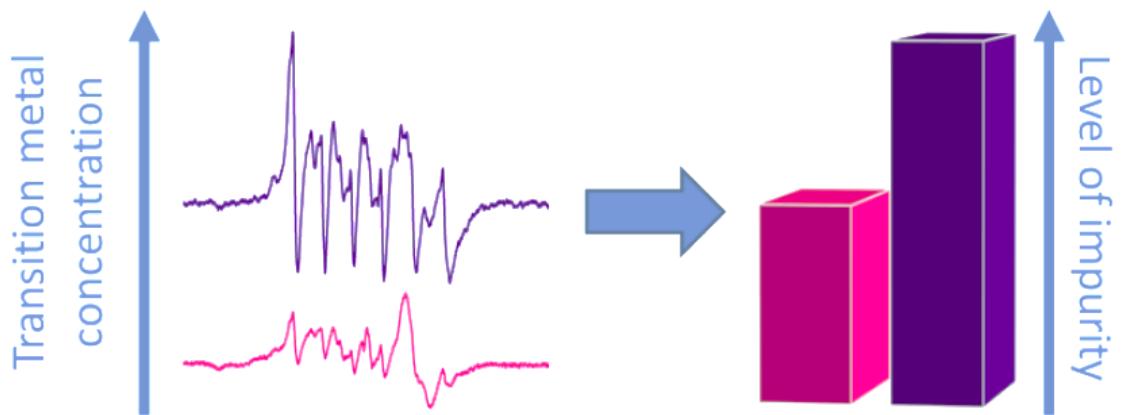


Još neke primene u farmaciji

V. Detekcija farmaceutskih nečistoća



- Nečistoće u leku potiču ili od API-ja, ili dodataka leku, ili od oba od ovih izvora.
- Nečistoće se takođe mogu uneti tokom procesa formulacije leka, tokom pakovanja ili skladištenja.
- Postojanje nečistoća može imati više neželjenih efekata, kao što su:
 - Smanjenje terapeutskog efekta leka
 - Skraćenje roka trajanja
 - Pojave toksičnosti leka

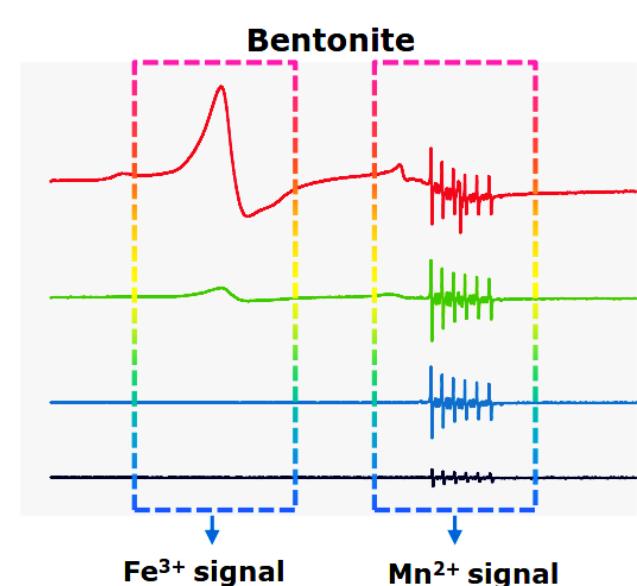


Metal concentration correlates with
the EPR signal

Još neke primene u farmaciji

V. Detekcija farmaceutskih nečistoća

- Kako EPR ovde može pomoći?
 - Detektovanje i identifikacija prelaznih metala u tragovima.
 - Praćenje procesa degradacije leka koji uključuju proizvodnju slobodnih radikala.
 - Proučavanje proizvodnje slobodnih radikala, katalisane prelaznim metalima ili nečistoćama.



Analiza tragova nečistoća i kontrola kvaliteta leka:

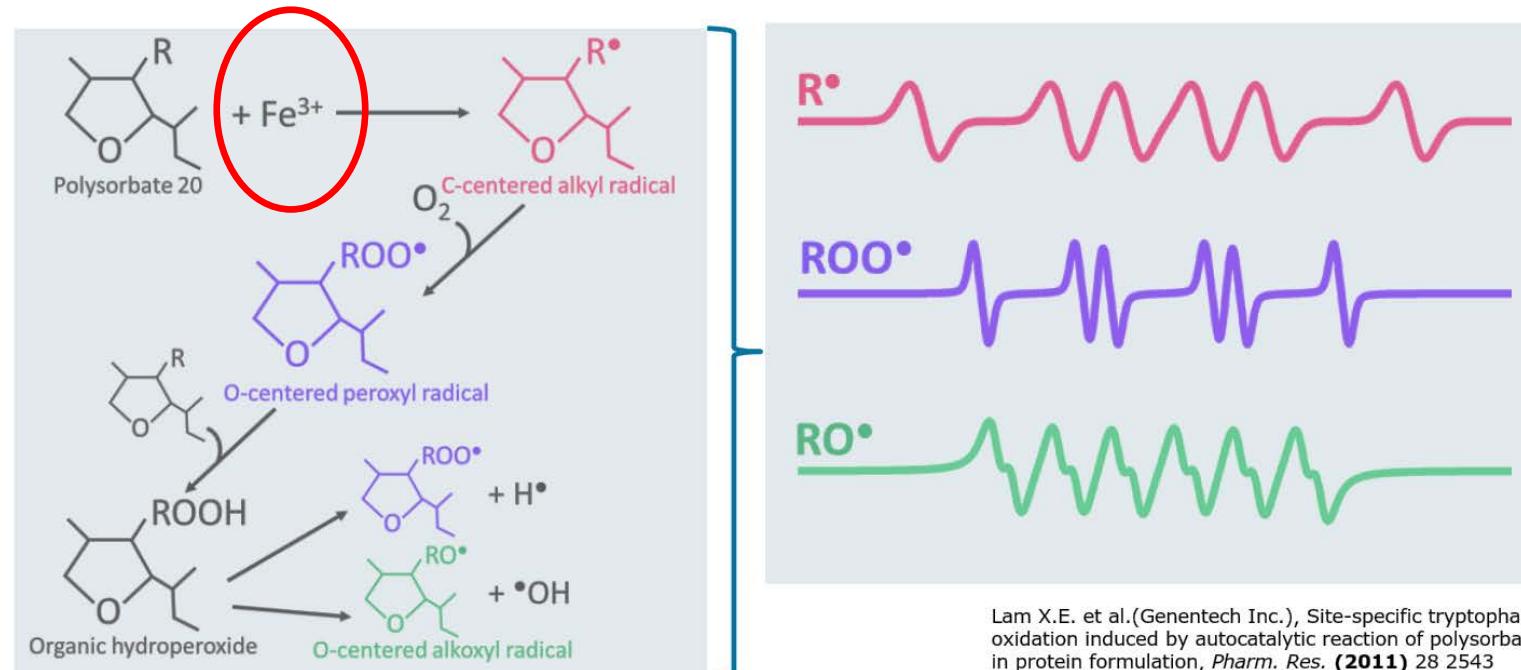
- Mangan (Mn^{+2}) i gvožđe (Fe^{+3}) su prisutni u tragovima u bentonitu koji se koristi kao aditiv (filer) u tabletama.
- Povećana količina metala ubrzava proces degradacije API-ja, kao i nužnih dodataka leku.

Još neke primene u farmaciji

V. Detekcija farmaceutskih nečistoća

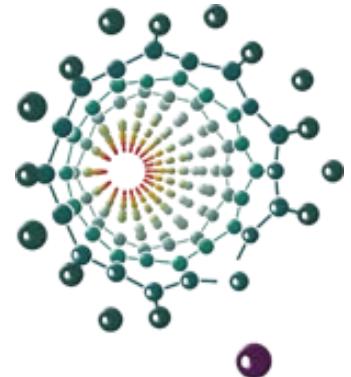
Studija za jednu farmaceutsku kuću:

- Polisorbat 20, koji se prilikom formulacije leka koristi kao stabilizator, podleže autooksidaciji.
- Autooksidacija je katalisana prelaznim metalima što kao rezultat daje sporednu reakciju tokom koje se formiraju slobodni radikali.
- Pomoću EPR-a, mogu se detektovati identifikovati i kvantifikovati slobodnoradikaliske nečistoće.





EPR Lab



- Za više informacija posetite naš sajt:

A promotional banner for BioScope Labs. On the left, there is a cluster of five circular icons representing different scientific fields: a blue circle with a white "EPR LIB" logo, a green circle with a radiation symbol, a red circle with a DNA helix, a blue circle with binary code, and a green circle with a battery symbol. The background is a light gray with a faint hexagonal molecular grid pattern. The text "BioScope Labs" is written in a large, semi-transparent, light gray font. Below it, the website address "www.bioscope.ffh.bg.ac.rs" is displayed in a dark brown font.