

LABORATORNÍ PŘÍSTROJE A POSTUPY

ANTIOXIDAČNÁ AKTIVITA POTENCIÁLNÝCH ANTIHYPERTENZÍV S DUÁLNYM ÚČINKOM

FRANTIŠEK ŠERŠEN^a, DUŠAN LOOS^b, JOZEF
CSÖLLEI^c, IGOR POPA^d, JÁN VANČO^c
a FRIDRICH GREGÁŇ^e

^a Chemický ústav, ^b Katedra organickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina CH2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika. ^c Ústav chemických liečiv, Farmaceutická fakulta, Veterinárni a farmaceutická univerzita Brno, Palackého 1-3, 612 42 Brno, Česká republika, ^d Laboraťor rústových regulátorů, Univerzita Palackého v Olomouci a AV ČR, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, Česká republika., ^e Katedra chémie, Fakulta prírodných vied, Univerzita Mateja Bela, Tajovského 40, 974 01 Banská Bystrica, Slovenská republika
sersen@fns.uniba.sk, vancoj@vfu.cz,
gregan@fpv.umb.sk

Došlo 19.12.05, prijaté 6.4.06.

Kľúčové slová: antihypertenzíva, antioxidanty, bufuralol, duálny účinok

Úvod

Hypertenzia je jedným z najčastejších ochorení kardiovaskulárneho systému. Postihuje približne 20 % populácie v rozvinutých krajinách a jej prevalencia sa zvyšuje s vekom. Dlhodobou neliečená hypertenzia vedie k rozvoju aterosklerózy, poškodeniu vnútorných orgánov a výrazne zvyšuje riziko infarktu myokardu a cievej mozgovej príhody. Účinná antihypertenzná terapia znižuje morbiditu i mortalitu a zvyšuje kvalitu života chorých. K normalizá-

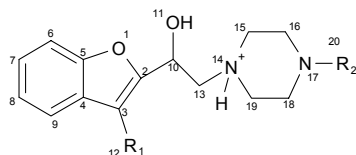
cii krvného tlaku sa používajú liečivá rôznych farmakologických skupín, a to buď samostatne alebo v kombinácii¹. U pacientov s rozvíjajúcim sa kombinovaným poškodením organizmu je efektívnu a tiež ekonomickejšou alternatívou použitie duálnych liečiv – látok, ktoré pôsobia niekoľkými mechanizmami účinku súčasne. Pôsobenie zároveň na rôznych miestach organizmu spôsobuje účinnejšie zníženie krvného tlaku a v niektorých prípadoch môže viesť aj ku zníženiu nežiaducich účinkov.

V posledných rokoch sa dostáva do popredia tiež úloha reaktívnych foriem kyslíka a dusíka (RONS z angličtiny „reactive oxygen and nitrogen species“) v patogeneze hypertenzie. RONS sa podieľajú na porušení funkcie endotelu, podieľajú sa na rozvoji aterosklerózy a ischemicko-reperfúznom poškodení tkanív²⁻⁵. U hypertonikov boli zaznamenané tiež znížené koncentrácie prirodzených antioxidantov (vitamín E) a znížená aktivita antioxidantných enzýmov (superoxiddismutáza, glutatiónpoxidáza)⁶. Kombinácia s antioxidantami alebo priamo antihypertenzíva so schopnosťou zhasť RONS by preto mohli byť v dlhodobej antihypertenznej terapii veľmi perspektívne.

Niektoré deriváty propafenónu sú biologicky aktívne zlúčeniny s významnou negatívnou inotropnou a antidysrhythmickou účinnosťou a slabým lokálne anestetickým efektom⁷. V tejto práci študované látky napodobňujú do určitej miery štruktúru propafenónu s vytvorením rigidného benzofuranového skeletu, ktorý, ako sa ukázalo v testoch hypotenzívnej aktivity, nepôsobí dysterapeuticky. Naopak v poslednom období sa objavujú aj deriváty benzofuran-2-yl-etanolamínu, ktoré sa postupne dostávajú do klinickej praxe ako napríklad bufuralol^{8,9}.

V návaznosti na predchádzajúce štúdie *in vivo* antiradikálovej aktivity¹⁰, v tejto práci sú študované (*in vitro*) antioxidačné vlastnosti štyroch potenciálnych antihypertenzív s duálnym účinkom (Schéma 1).

Cieľom práce bolo zistiť schopnosť vychytávať niektoré druhy radikálov: 2,2-difeny-1-pikrylhydrazyl (DPPH), hydroxylových (HO[•]) a superoxidových aniónových radikálov (O₂^{•-}) vyššie uvedenými zlúčeninami.



- I: R₁ = CH₃, R₂ = 4-fluórfenyl
 II: R₁ = CH₂CH₃, R₂ = 4-fluórfenyl
 III: R₁ = CH₃, R₂ = 2-fluórfenyl
 IV: R₁ = CH₂CH₃, R₂ = 2-fluórfenyl

Schéma 1

Materiál a metódy

Chemikálie a prístroje

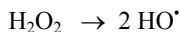
Metanol, 2,2-difényl-1-pikrylhydrazyl (DPPH), 5,5-dimetyl-1-pyrrolín-*N*-oxid (DMPO), sodná soľ β -nikotínamid adenín dinukleotid fosfátu (NADH), 2-merkaptotanol, D_2O a dimetylsulfoxid- d_6 (DMSO- d_6) boli od firmy Sigma-Aldrich Ltd. Peroxid vodíka, EDTA a $MnCl_2$ boli od firmy Lachema ČR. Absorpčné spektrá boli snímané prístrojom Specord UV-VIS (Carl Zeiss Jena, Germany). Spektrá elektrónovej paramagnetickej rezonancie (EPR) boli zaznamenávané prístrojom ERS 230 (ZWG Akad. Wiss. Berlin, Germany), ktorý pracuje v pásme X ($\sim 9,3$ GHz), pri modulačnej amplitúde 0,1 mT, a mikrovlnom výkone 5 mW. NMR spektrá boli zaznamenávané prístrojom Bruker Avance 300 (Bruker, USA) s pracovnou frekvenciou 300 MHz. Potenciálne antihypertenzíva s duálnym účinkom boli syntetizované na Ústave chemických liečiv, Farmaceutickej fakulty VFU Brno¹¹.

Vychytávanie DPPH radikálov

Do 100 $\mu\text{mol dm}^{-3}$ metanolového roztoku DPPH sa pridávali rôzne množstvá testovaných látok, čím dochádzalo k poklesu intenzity absorpčného pásu pri 517 nm. Z lineárnej závislosti tohto poklesu od koncentrácie boli vypočítané hodnoty SC_{50} , t.j. koncentrácia, pri ktorej dochádza k 50% poklesu sledovanej absorpcie.

Vychytávanie hydroxylových radikálov

Ako zdroj HO^\bullet radikálov bol použitý samovoľný rozpad peroxidu vodíka pri 25 °C.



Pretože HO^\bullet radikály majú veľmi krátku dobu života, nemôžu byť zaregistrované bežným EPR spektrometrom s kontinuálnym vysokofrekvenčným žiarením, musia sa preto stabilizovať pomocou spinovej pasce. Po zachytení HO^\bullet spinovou pascou DMPO vznikne ich adukt, ktorého

doba života je niekoľko desiatok minút, takže môžu byť ľahko zaznamenané pomocou bežného EPR spektrometra. Reakčný roztok obsahoval 0,05 mol dm^{-3} DMPO, 0,05 mol dm^{-3} H_2O_2 a nasýtený roztok študovanej zlúčeniny. Intenzita EPR signálu bola zaznamenávaná vždy po 20 min po pridaní H_2O_2 .

Vychytávanie superoxidových aniónových radikálov

Generovanie superoxidových aniónových radikálov $O_2^{\bullet-}$ prebiehalo v súlade s prácou Paoletti a spol. (1990) (cit.¹²), t.j. oxidáciou NADH (5 mmol dm^{-3}) molekulovým kyslíkom, ktorý bol prítomný vo fosfátovom tlmivom roztoku (pH 7,4) v prítomnosti EDTA (2,2 mmol dm^{-3}) a $MnCl_2$ (1,1 mmol dm^{-3}) za katalytického účinku merkaptotetanolu (1 mmol dm^{-3}). V týchto experimentoch boli použité tiež nasýtené roztoky študovaných zlúčenín, pretože ich rozpustnosť vo vode je relatívne nízka. Reakcia bola odštartovaná pridaním merkaptotetanolu a bola sprevádzaná poklesom absorpčného pásu pri 340 nm. Intenzita tohto pásu bola zaznamenávaná vždy po 20 min po pridaní merkaptotetanolu.

Výsledky a diskusia

Antioxidačné vlastnosti študovaných látok sú prezentované v tabuľke I.

Zistili sme, že študované zlúčeniny sú schopné likvidovať DPPH radikály, ich účinnosť je však podstatne slabšia (68 500–118 000 krát) ako je účinnosť známeho antioxidantu vitamínu C ($SC_{50} = 2,21 \mu\text{mol dm}^{-3}$)¹³, pričom účinnejšie sú 4-fluórfenylové deriváty ako 2-fluórfenylové deriváty. Táto skutočnosť môže byť zapríčinená tým, že zánik DPPH radikálu spôsobuje zachytenie radikálu vodíka, ktorý poskytne antioxidant podľa Schémy 2. Slabšia schopnosť vychytávania DPPH radikálov 2-fluórfenylovými derivátmi je pravdepodobne spôsobená silnejšie viazaným vodíkom na hydroxylovej skupine v 2-fluór-

Tabuľka I

Antioxidačné vlastnosti látok I až IV

Zlúčenina	SC_{50} [mmol dm^{-3}]/ R^2 pre DPPH	% inhibície HO^\bullet radikálov	E_H [kJ mol^{-1}]	E_R [kJ mol^{-1}]	Q_{N17}	Q_F
I	144,0/0,955	*	5,674	253,788	-0,226	-0,109
II	163,8/0,921	*	6,209	253,747	-0,226	-0,109
III	229,3/0,994	33,2	6,034	254,289	-0,223	-0,104
IV	248,3/0,925	74,1	6,365	253,996	-0,222	-0,104

E_H je energia intramolekulovej vodíkovej väzby OH skupiny s furanovým kyslíkom, E_R je energia tvorby radikálu odtrhnutím vodíka z OH skupiny, Q_{N17} je nábojová hustota na atóme dusíka v piperazínovom kruhu, na ktorý je naviazaný fluórfenyl, Q_F je nábojová hustota na fluóre, * zlúčeniny stimulujúce tvorbu HO^\bullet radikálov

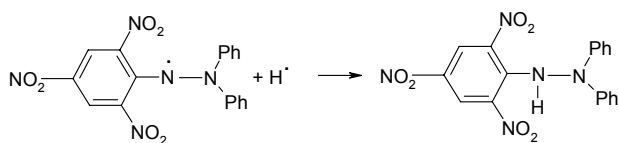
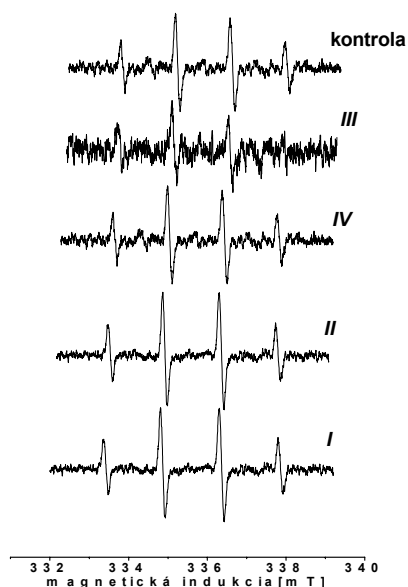


Schéma 2

fenylových derivátov ako v 4-fluórfenylových derivátov. Tento predpoklad sa potvrdil, keď sme pomocou kvantovochemickej metódy AM1^{14,15} vypočítali energie intramolekulovej vodíkovej väzby (E_H) OH skupiny s furanovým kyslíkom a energie tvorby radikálu (E_R) odtrhnutím vodíka z tejto OH skupiny (viď tab. I).

Test na vychytávanie O_2^{\bullet} radikálov ukázal, že všetky študované zlúčeniny pôsobili prooxidačne, t. j. urýchľovali vznik O_2^{\bullet} radikálov, dokonca pôsobili ako katalyzátor generovania O_2^{\bullet} radikálov v NADH roztoku bez prítomnosti merkaptetanolu.

Na obr. 1 sú prezentované EPR spektrá spinových



Obr. 1. EPR spektrá spinových aduktov DMPO s HO^{\bullet} radikálmi vo vode a vodných nasýtených roztokoch študovaných látok

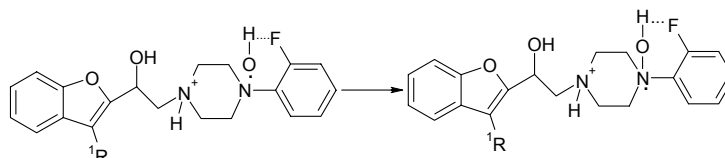


Schéma 3

aduktov DMPO s HO^{\bullet} radikálmi tak bez ako aj v prítomnosti študovaných látok. Spektrum pozostáva zo štyroch čiar hyperjemnej štruktúry s pomerom intenzít 1 : 2 : 2 : 1 (konštanty hyperjemnej interakcie sú $A_N = A_H = 1,48$ mT), $g = 2,0048$. Takéto EPR spektrum je typické pre spinový adukt DMPO s HO^{\bullet} (cit.¹⁶). Z tohto obrázku je vidieť, že z hľadiska vychytávania hydroxylových radikálov sú účinné iba zlúčeniny III a IV, t. j. 2-fluórfenylové deriváty, zatiaľ čo 4-fluórfenylové deriváty (I a II) naopak naznačujú zvýšenú tvorbu HO^{\bullet} radikálov (tab. I, 3. stĺpec). Predpokladáme, že záchyt HO^{\bullet} radikálov prebieha cez interakciu piperazínového dusíka N₁₇, na ktorom je naviazaný fluórfenyl podľa Schémy 3.

Tento predpoklad sa zdá byť veľmi pravdepodobný, lebo vysvetľuje aj skutočnosť, prečo 2-fluórfenyl deriváty vychytávajú HO^{\bullet} radikály, zatiaľ čo 4-fluórfenyl deriváty pôsobili prooxidačne, t. j. stimulovali vznik HO^{\bullet} radikálov. Vychytávanie HO^{\bullet} radikálov si možno vysvetliť nasledovnou úvahou: fluór v polohe 2 pôsobí ako „navigátor“ pre HO^{\bullet} radikály v dôsledku vodíkovej väzby medzi fluórom, ktorý nesie záporný náboj (tab. I) a vodíkom z HO^{\bullet} radikálu pri jeho zachytení na dusík N₁₇ v piperazínovom kruhu. Túto skutočnosť potvrdzujú NMR spektrá protónov zlúčeniny III v DMSO-d₆, kde v ¹H-NMR a ¹³C-NMR spektrách týchto zlúčenín po pridaní peroxidu vodíka boli pozorovateľné výrazné zmeny v chemickom posune CH₂ skupín v piperazínovom kruhu a v ¹⁵N-NMR spektrách tiež zmeny v chemických posunoch N₁₇ a N₁₄ (tab. II).

Chemické posuny, ppm, v ¹H-NMR, v DMSO-d₆, relat. TMS, bez aplikácie H₂O₂, 11,37 bs, 1H,O11-H, 7,60 dd, $J_a = 7,5$ Hz, $J_b = 1,5$ Hz, 1H,C9-H, 7,53 d, $J = 7,5$ Hz, 1H,C6-H, 7,33 tt, $J_a = 7,5$ Hz, $J_b = 1,5$ Hz, 1H,C7-H, 7,27 tt, $J_a = 7,5$ Hz, $J_b = 1,2$ Hz, 2H,C22,24-H, 7,27 tt, $J_a = 7,5$ Hz, $J_b = 1,5$ Hz, 1H,C8-H, 7,02 dd, $J_a = 7,5$ Hz, $J_b = 1,2$ Hz, 2H,C21,25-H, 6,87 tt, $J_a = 7,5$ Hz, $J_b = 1,2$ Hz, 1H,C23-H, 5,74 bs, H⁺, 5,67 dd, $J_a = 10,3$ Hz, $J_b = 2,3$ Hz, 1H,C10-H, 3,91 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C15-H_a, 3,83 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C16-H_a, 3,83 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C18-H_a, 3,70 t, $J = 10,3$ Hz, 1H,C13-H_a, 3,68 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C19-H_a, 3,50 d, $J = 10,3$ Hz, 1H,C13-H_b, 3,32 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C15-H_b, 3,30 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C19-H_b, 3,27 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C18-H_b, 3,22 d, $J = 10,8$ Hz, 1H,C16-H_b, 2,30 s, 3H,C12-H, ¹³C-NMR, 153,24 C5, 151,08 C2, 149,38 C20, 129,24 C4, 129,08 C22,24, 124,65 C7, 122,54 C8, 120,10 C23, 119,76 C9, 115,97 C21,25, 112,02 C3, 110,91 C6, 59,89 C10, 58,80 C13, 51,96 C15, 50,86 C19, 45,35 C16,18, 7,51 C12, 15N,N-HMBC/, 61,90 N17, 50,84 N14.

Tabuľka II
Rozdiely v chemických posunoch zlúčeniny III

Zmeny posunov	² H,C13-H	² H,C15-H	² H,C16-H	² H,C18-H	² H,C19-H	¹ H,C21-H	¹ H,C25-H
¹ H-NMR	0,66(a) 0,39(b)	0,61(a) 0,40(b)	0,57(a) 0,11(b)	0,55(a) 0,33(b)	0,38(a) 0,39(b)	0,84	–0,08
¹³ C-NMR	2,23	7,87	7,87	1,87	8,60	5,21	2,07
¹⁵ N-NMR	N14 –56,36	N17 –63,32					

Chemické posuny, ppm, v ¹H-NMR, v DMSO-d₆, relat. TMS, po aplikácii H₂O₂, ¹H-NMR, DMSO-d₆, /po aplikaci H₂O₂/, 7,86 dd, J_a = 20,0 Hz, J_b = 2,4 Hz, ¹H,C21-H, 7,60 t, J = 7,9 Hz, ¹H,C22-H, 7,52 dd, J_a = 7,3 Hz, J_b = 1,1 Hz, ¹H,C9-H, 7,42 dd, J_a = 7,3 Hz, J_b = 1,1 Hz, ¹H,C6-H, 7,26 tt, J_a = 7,3 Hz, J_b = 1,1 Hz, ¹H,C7-H, 7,24 t, J = 7,9 Hz, ¹H,C24-H, 7,19 tt, J_a = 7,3 Hz, J_b = 1,1 Hz, ¹H,C8-H, 6,94 dd, J_a = 7,9 Hz, J_b = 1,2 Hz, ¹H,C25-H, 6,86 tt, J_a = 7,9 Hz, J_b = 1,2 Hz, ¹H,C23-H, 5,69 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C10-H, 4,52 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C15-H_a, 4,40 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C16-H_a, 4,38 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C18-H_a, 4,36 t, J = 11,3 Hz, ¹H,C13-H_a, 4,06 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C19-H_a, 3,89 d, J = 11,3 Hz, ¹H,C13-H_b, 3,72 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C15-H_b, 3,69 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C19-H_b, 3,60 d, J = 13,0 Hz, ¹H,C18-H_b, 3,33 dd, J_a = 13,0 Hz, J_b = 3,0 Hz, ¹H,C16-H_b, ¹³C-NMR, 154,89 C5, 150,47 C2, 149,20 C20, 132,47 C22, 130,82 C24, 130,48 C4, 126,59 C7, 124,30 C8, 122,68 C9, 121,48 C23, 121,18 C21, 118,04 C25, 115,01 C3, 112,52 C6, 61,03 C13, 60,74 C10, 59,83 C15, 59,46 C19, 47,33 C16, 47,22 C18, 8,42 C12, ¹⁵N/N-HMQC, n.p., N14, N17, ¹⁵N/N-HMBC, –1,42 N17, –5,52 N14.

Záver

Zo štúdia antioxidačných vlastností štyroch derivátov benzofurán-2-yletanolamínu bolo zistené, že študované zlúčeniny vykazujú veľmi špecifické redoxné vlastnosti:

- majú veľmi slabú účinnosť na vychytávanie DPPH radikálov,
- testované látky superoxidové aniónové radikály nevychytávajú, naopak pôsobia prooxidačne t.j. zvyšujú tvorbu O₂[•] radikálov.
- z hľadiska vychytávania hydroxylových radikálov pôsobia v závislosti na substitúcii fluórfenylpiperázínovej časti molekúl, pričom antioxidačnú aktivitu vykazujú iba 2-fluórfenyl deriváty zatiaľ čo 4-fluórfenyl deriváty pôsobia prooxidačne, Predpokladaný mechanizmus reakcie hydroxylového radikálu, potvrdený NMR spektroskopiou, je založený na interakcii s neprotonizovaným atómom dusíka N₁₇ a stabilizácii produktu vodíkovou väzbou s atómom fluóru 2-fluórfenylového substituenta.

Práca bola podporovaná grantmi MŠ SR VEGA č. 1/0516/03 03, 1/3411/06 a MŠMT ČR VZ MSM6198959218.

LITERATÚRA

- Koch-Weser J.: Am. Heart J. 90, 93 (1975).
- Cai H., Harrison D. G.: Circ. Res. 87, 840 (2000).
- Friedman J., Peleg E., Kagan, T., Shnizer, S., Rosenthal, T.: Am. J. Hypertens. 16, 1049 (2003).
- Ceaser E. K., Moellering D. R., Shiva S., Ramachandran A., Landar A., Venkartraman A., Crawford J., Patel R., Dickinson D. A., Ulasova E., Ji S., Darley-Usmar V. M.: Biochem. Soc. Trans. 32, 151 (2004).
- Hayden M. R., Tyagi S. C.: Cardiovasc. Diabetol. 1, 1 (2002).
- Mimić-Oka J., Simić D. V., Simić T. P.: Facta universitatis University of Niš. Ser. Med. Biol. 6, 11 (1999).
- Tumová I., Račanská E., Csöllei J., Ecker G., Otrusník R., Švec P. Čes. Slov. Farm. 44, 133 (1997).
- Fothergill G. A., Osbond J. M., Wickens J. C.: Arzneim.-Forsch. 27, 978 (1997).
- Hamilton T. C., Parkes M. W.: Arzneim.-Forsch. 27, 1410 (1977).
- Ráčanská E., Kurfürst P., Csöllei J.: Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae 51, 182 (2004).
- Kurfürst P., Marek J., Vančo J., Csöllei J.: Acta Cryst. C 60, o494 (2004).
- Paoletti F., Mocali A., Aldinucci D.: Chem.-Biol. Interactions 76, 3 (1990)
- Šeršeň F., Grančai D., Nagy M., Mučaji P.: Acta Facult. Pharm. Univ. Comenianae 52, 204 (2005).
- Dewar M. J. S., Zoebisch E. G., Healy E. F., Stewart J. P. P.: J. Am. Chem. Soc. 107, 3902 (1985).
- Dewar M. J. S., Zoebisch E. G.: Theochem. 180, 1 (1988).
- Li A. S. W., Cummings K. B., Roethling H. P., Buettner G. R., Chignell C. F.: J. Mag. Resonance. 79, 140 (1988). The database is available through internet at <http://epr.niehs.nih.gov/>.

F. Šeršeň^a, D. Loss^b, J. Csöllei^c, I. Popa^d, J. Vančo^e, and F. Gregář^e (^a *Institute of Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Bratislava*, ^b *Department of Organic Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*, ^c *Department of Chemical Drugs, Faculty of Pharmacy, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic*, ^d *Laboratory of Growth Regulators, Palacky University, Olomouc, Czech Republic*, ^e *Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Matej Bel University, Banská Bystrica, Slovak Republic*): **Antioxidative Activity of Potential Antihypertensives with Dual Effect**

The antioxidative properties of four 1-(2-benzofuran-2-yl-2-hydroxyethyl)-4-phenylpiperazines were studied

by indirect spectrophotometric and direct ESR spin-trap methods. The radical scavenging activity of the tested compounds was determined. The compounds exhibit interesting structure-specific redox properties. Scavenging of DPPH radicals gave very poor results. The studied compounds did not affect the elimination of superoxide anion radicals; however, they caused stimulation of $O_2^{\bullet-}$ radical production. The hydroxyl radicals, however, were scavenged only by 2-fluorophenyl derivatives, whereas the 4-fluorophenyl derivatives exhibited a slightly prooxidative effect. The capture of HO^{\bullet} radicals by 2-fluorophenyl derivatives was, according to the results of NMR analyses, attributed to the interaction with non-protonated piperazine nitrogen atom, which is stabilized by the hydrogen bond between the hydroxy group and fluorine atom.

17. seminář o separační chemii a analýze toxických látek

Termín: 18. – 20. června 2007

Místo: Institut ochrany obyvatelstva, Na Lužci, Lázně Bohdaneč (u Pardubic)

Seminář je pořádán ve spolupráci s odbornými skupinami jaderné chemie, toxikologické chemie a analytické toxikologie při České společnosti chemické

Seminář je zaměřen na:

- stopovou analýzu radionuklidů, anorganických a organických toxických látek v životním prostředí, toxikologii a při haváriích spojených s výronem nebezpečných škodlivin,
- metody separace a koncentrace isotopů, anorganických a organických toxických látek v životním prostředí a toxikologii,
- mobilní analýzu v toxikologii, kontrole životního prostředí a při haváriích spojených s výronem nebezpečných škodlivin,
- analýzu toxinů a BBP.

Odborní garanti: doc. Ing. Věra Křížová, DrSc., Vysoká škola chemicko-technologická Praha, Ústav analytické chemie, prof. Ing. Jiří Ševčík, DrSc., Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy Praha, Katedra analytické chemie

Organizační garant: RNDr. Bedřich Uchytíl, CSc., Institut ochrany obyvatelstva, e-mail: bedrich.uchytíl@email.cz, mobil 724 355 197, pevná linka 950 860 134

Bližší informace jsou dostupné na www.ioolb.cz.