

# VÝROČNÍ ZPRÁVA

## 2005

---

Ústavu makromolekulární chemie  
AV ČR

LEDEN 2006

# Výroční zpráva Ústavu makromolekulární chemie AV ČR za rok 2005

## 1. Vědecká činnost pracoviště a uplatnění jejích výsledků

### a) *stručná charakteristika vědecké činnosti pracoviště*

V rámci schváleného záměru AVOZ400500505 se pracovníci ústavu v roce 2005 zabývali základním i cíleným výzkumem v oborech makromolekulární chemie, fyzikální chemie a fyziky polymerů, včetně projektů s mezioborovou tematikou spojující hlavní obory činnosti s obory biochemickými, lékařskými a farmakologickými, s molekulární elektronikou a materiálovým výzkumem. Těžištěm výzkumu byly tři hlavní směry polymerní vědy: *příprava a studium vlastností biomakromolekulárních systémů, studium dynamiky a samoorganizace molekulárních a nadmolekulárních systémů v polymerech a příprava, charakterizace a aplikace nových polymerních systémů s řízenou strukturou a vlastnostmi*. V rámci NPVI sedm pracovních týmů ústavu řešilo projekty dílčího programu Podpora cíleného výzkumu vyhlášeného AV ČR a další tým řešil projekt „Počítačové modelování chemických struktur pro navrhování makromolekulárních systémů s novými biologickými, mechanickými a elektronickými vlastnostmi“ v rámci tematického programu „Informační společnost“. V rámci programu výzkumných center vyhlášeného MŠMT se pracovníci ústavu podíleli na činnosti Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad a Centra cílených terapeutik. Kromě toho byl ústav v roce 2005 nositelem či spolunositelem 21 grantů udělených GA AV ČR, 31 grantů udělených GA ČR, 12 grantů financovaných z rozpočtových kapitol ministerstev ČR a 7 grantů financovaných z rozpočtové kapitoly MŠMT v rámci programu dvoustranné mezinárodní spolupráce KONTAKT. Do výzkumných programů řešených v ústavu byla zapojena řada akademických, mimoakademických a vysokoškolských pracovišť nejen tuzemských ale i zahraničních. Pracovníci ústavu řešili nebo se podíleli na řešení 7 projektů podporovaných granty Evropského společenství a řady projektů podporovaných různými zahraničními i tuzemskými institucemi jak formou výzkumných grantů, tak smluv.

### b) *několik nejdůležitějších výsledků vědecké činnosti a jejich aplikací*

V oblasti *biomakromolekulárních systémů* jsme navrhli a připravili hydrofilní biodegradovatelné polymery na bázi kopolymerů *N*-(2-hydroxypropyl)methakrylamidu i multiblokových PEG polymerů obsahující hydrolyticky a redukčně štěpitelné vazby a ověřili jsme jejich možné použití pro povrchové modifikace a cílené směřování polyelektrolytových a virových systémů pro dopravu genů *in vivo* (B,C). Také jsme navrhli a připravili vysokomolekulární biodegradovatelné roubované kopolymery a micelární systémy vhodné jako nosiče pro pasivní směřování kancerostatik do pevných nádorů. Fyzikálně-chemické studie potvrdily schopnost těchto vysokomolekulárních systémů uvolňovat léčivo řízeným způsobem a degradovat ve fyziologickém prostředí na látky vylučitelné z organismu (B,C).

Prostudovali jsme adsorpci amfifilních blokových kopolymerů polylaktidu (PLA) a poly(ethylenoxidu) (PEO) na tuhé povrchy PLA a vyhodnotili jsme závislosti mezi molekulárními parametry kopolymerů (molekulová hmotnost, délky a poměry bloků PLA a PEO) a výslednou hustotou PEO řetězců na povrchu PLA. Byly nalezeny optimální podmínky pro modifikaci povrchových vlastností materiálů na bázi biodegradovatelných polyesterů adsorpcí amfifilních blokových kopolymerů a vyhodnocen vliv této modifikace na nescifickou adsorpci proteinů na polymerní povrchy (B).

Nanotechnikou založenou na postupné adsorpci bílkovin a syntetických nebo přírodních polyelektrolytů byly na povrchu polymerních materiálů připraveny povlaky složené z různě uspořádaných molekulárních vrstev bílkovin nebo bílkovin a polyelektrolytů. Vhodně uspořádané povlaky obsahující bílkoviny z mezibuněčné hmoty podporovaly adhezi a růst buněk. Povlaky složené z vhodně uspořádaných multivrstev albuminu a heparinu výrazně snižovaly koagulaci a adhezi krevních destiček při kontaktu s krví (B).

Vyřešili jsme molekulární strukturu Fc fragmentu monoklonální protilátky mAb M75 směřované proti proteinu MN/CA IX, který se vyskytuje ve velkém množství v povrchových membránách některých typů lidských rakovinných buněk. Nalezenou distribucí histidinových aminokyselinových zbytků na povrchu makromolekuly jsme vysvětlili způsob jejich vazby na sorpční polymerní materiály užívané pro separaci imunoglobulinů z krevní plasmy metodou afinitní chromatografie na imobilizovaných kovech (IMAC) (B).

Při studiu *dynamiky a samoorganizace molekulárních a nadmolekulárních systémů v polymerech* jsme vyvinuli techniku NMR spektroskopie tuhého stavu pro selektivní a specifické měření vnitřní pohyblivosti polymerních řetězců v částečně krystalických nanokompozitech (polyamid 6 – jílové minerály). Díky této technice jsme dokázali selektivně posoudit změny v dynamice polymerních řetězců v amorfní fázi, které jsou odpovědné za změnu mechanických vlastností. Zjistili jsme paradoxní zvýšení pohyblivosti polymerních segmentů v přítomnosti nanoplňiva a tím vysvětlili změny mechanických vlastností (B).

$^{13}\text{C}$  NMR spektroskopií v tuhém stavu kombinovanou s kvantově-chemickými výpočty provedenými metodou Density Function Theory (DFT) jsme prokázali, že dominantní interakcí v polymerním elektrolytu poly(2-ethyl-2-oxazolin) (POZ)/ $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$  je koordinace mezi karbonylovými skupinami a kationtem stříbra. Z dynamiky Lee-Goldburg  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  křížové polarizace vyplynulo, že obě složky komplexu POZ/ $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$  jsou v těsném kontaktu. Zjistili jsme též, že komplex POZ/ $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$  má definovanou stechiometrii - dvě monomerní jednotky POZ na jednu molekulu  $\text{AgCF}_3\text{SO}_3$  (B).

Připravili jsme polyanilinové nanotrubičky, tj. nanostruktury vytvářené elektricky vodivým polymerem. Nanotrubičky mají vnější průměr 100–300 nm, vnitřní průměr řádu desítek nanometrů a jsou dlouhé několik mikrometrů. Očekáváme, že mohou být využívány v podobných oblastech jako uhlíkové nanotrubičky (B,C).

Částečnou sulfonací styrenového bloku dvojblokového kopolymeru polystyren-*blok*-poly(ethen-propen) jsme získali materiál vhodný pro přípravu modelových vodivých polymerních membrán. Ukázali jsme, že původní lamelární struktura polymeru je sulfonací narušena tak, že sulfonované sekvence řetězců se přednostně shlukují do protonově vodivých vodou botnatelných agregátů (B).

V oblasti přípravy *nových polymerních systémů s řízenou strukturou a vlastnostmi* jsme v rámci studia možností využití přírodních polymerů připravili acylací diacetátu celulosy (CDA) polyfunkční makroiniciátory radikálové polymerizace s přenosem atomu (ATRP) s 2-bromisobutyrateovou nebo 2-dichloracetátovou skupinou, přičemž stupeň funkcionalizace lze řídit v širokém rozmezí. Látky byly charakterizovány spektrálně a chromatograficky a následně použity k roubování CDA methakryláty, akryláty, styrenem a příslušnými blokovými kopolymery. Po optimalizaci reakčních podmínek lze řídit délku i složení roubov, stejně jako hustotu roubování (B). V laboratorním měřítku se nám podařilo připravit polypropylenové nanokompozity s rovnoměrně dispergovanými destičkami vrstevnatého silikátu. Takto připravený materiál vykazuje výrazně vyšší tuhost již při

velmi malém plnění (méně než 5% silikátu) a také vyšší pevnost v tahu. Jeho aplikační potenciál v současné době ověřujeme v poloprovozním měřítku (B).

Připravili a charakterizovali jsme nanokompozity na bázi epoxidové sítě obsahující oxoklastry cínu. Tyto dobře definované klastry o rozměru 1-2 nm jsou prostřednictvím aminoskupin při vzniku organicko-anorganického polymeru kovalentně navázány do epoxidové sítě. Zatímco monomerní Sn-klasy jsou krystalické, SAXS analýza prokázala, že v hybridní síti se nacházejí pouze amorfni oblasti agregátů Sn-klastrů a při zvyšování teploty vznikají organizované struktury. Síť vykazuje výraznou závislost modulu na teplotním režimu vytvrzování (B).

Zjistili jsme, že modifikace montmorillonitu činidly na bázi terciárních aminů vede u nanokompozitů s maticí polyamidu 6 k současnému zvýšení houževnatosti, pevnosti i tuhosti. Modifikace přispívá i k lepší exfoliaci nanoplňiva a zlepšení mechanických vlastností nanokompozitů s maticí z recyklovaného PET (C).

Připravili jsme magneticky oddělitelné heterogenní katalyzátory Fentonovy reakce (magnetické oxidy, jmenovitě magnetit –  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ , ferrity  $\text{MO.Fe}_2\text{O}_3$ , kde M je Cu, Co, Mn a hydroxylapatit dopovaný Cu(II)). Tyto katalyzátory se osvědčily při likvidaci těžko odstranitelných nečistot (organických látek jako jsou polyaromatické uhlovodíky a organická barviva) z vody oxidací peroxidem vodíku (C).

Modifikací poly(styren-*alt*-maleinanhydridu) jsme připravili a charakterizovali polymerní ligand obsahující methylesterové, karboxylové a chinolinonové skupiny na řetězci. Bylo zjištěno, že tento ligand silně zesiluje luminiscenci  $\text{Tb}^{3+}$ . Komplexy polymerního ligandu s  $\text{Tb}^{3+}$  vykazovaly až desetisíckrát vyšší intenzity emise ve srovnání se samotným  $\text{Tb}^{3+}$  (B).

Připravili jsme nové typy kapalně krystalických termotropních thiolů. Radikálovou adicí připravených thiolů na násobné vazby OH-terminovaného polybutadienu jsme získali roubované polybutadieny s mesogenními jednotkami v bočních řetězcích. Tyto polyoly byly využity pro přípravu kapalně krystalických lineárních polyurethanů a polyurethanových sítí (B).

Připravili a charakterizovali jsme pět nových arylfosfonátů vápníku, úplnou strukturu kalium-bis[(karboxyfenyl)fosfonátu] jsme vyřešili práškovou difrakcí. Připravili jsme nové ternární skutteruditové materiály  $\text{CoGe}_{1.5}\text{Te}_{1.5}$  dotované atomy Ni. Materiály připravené lisováním za horka vykazují velmi slibné termoelektrické vlastnosti.

Vytvořili jsme kvantově mechanický model pohyblivosti nosičů náboje po konjugovaném řetězci polymeru založený na numerickém řešení časové Schrödingerovy rovnice v aproximaci těsné vazby. Model potvrzuje, že náboj-dipól interakce mezi polární příměsí a nosičem náboje na hlavním řetězci má za následek snížení pohyblivosti nosičů náboje. Je-li jako příměs použita fotochromní látka s výraznou změnou dipólového momentu při přechodu mezi termodynamicky stabilní a metastabilní formou, lze pohyb nosičů náboje po polymerním řetězci modulovat světlem vhodné vlnové délky (B).

### ***c) nejvýznamnější popularizační aktivity pracoviště***

Dny otevřených dveří zaměřené na nábor studentů doktorského studia jsme zorganizovali v březnu a v podzimním termínu pak v rámci celoakademické akce „Týden vědy a techniky“. Pracovníci ústavu v roce 2004 pokračovali v pořádání pravidelných laboratorních cvičení pro studenty gymnázia Nad alejí v Praze 6. Česká kontaktologická společnost, na jejíž činnosti se pracovníci ústavu významným způsobem podílejí jako

lektoři a organizátoři setkání pro odbornou veřejnost, ve spolupráci s ÚMCH uspořádala v roce 2005 základní kurz pro kontaktology (70 účastníků, 4 firmy) a 12. výroční sjezd (300 účastníků) jehož odborný program získal akreditaci České lékařské komory a přinesl účastníkům 8 kreditů do celoživotního vzdělávání lékařů.

Pro Český rozhlas natočil K. Ulbrich pořad o polymerech a polymerních léčivech, který byl vysílán v programu Duše „K“ 25. 11. 2005, J. Pflieger připravil pořad „O polymerech pro elektroniku“, který byl vysílán v rámci cyklu pořadů „Vstupte“.

Pro cyklus „České hlavy“ ČT 1 byl v oddělení K. Ulbricha natočen program zaměřený na polymerní kancerostatika (pořad byl vysílán v květnu 2005), v oddělení F. Rypáčka pořad „Nová generace cévních výztuží“ (vysílán 18.5.2005) o polymerech umožňujících řízené uvolňování léčiv z cévních stentů a nové technologii vyvinuté v ÚMCH, a pořad o palivových člancích a membránách (M. Bleha, říjen 2005). Pro ČT 1 byl připraven i pořad „Jak se pěstují náhradní tkáně“ v rámci cyklu Popularis (23.2.2005) o výzkumu polymerních biomateriálů pro regenerativní medicínu. Pracovníci ústavu spolupracovali při natáčení dokumentárního filmu o profesoru Wichterlovi zaměřeného na vývoj měkkých kontaktních čoček. Producentem filmu je společnost Armada films, která ho natáčela ve spolupráci s Českou televizí a televizí ARTE France.

K. Ulbrich připravil sérii článků o polymerních léčivech proti rakovině. Z dalších popularizačních článků vybíráme příspěvek J. Schauera „Membrány mají budoucnost“. Pracovníci ústavu přednášeli (F. Lednický, J. Brus, M. Raab a M. Hrubý) v rámci projektu „Otevřená věda“, přednášeli na semináři pro pracovníky státní správy „Polymery a životní prostředí“ pořádaném společností Ekomonitor 2.-3.11.2005 v Litomyšli (Z. Horák, Z. Starý a H. Beneš) a přednášeli i v kurzu „Fyzika pro nefyziky“ (M. Trchová). Pro projekt „Věda v ulicích“ jsme nabídli prezentaci na téma „Nanovlákná pro biomedicínální aplikace“. M. Hrubý byl již tradičně jedním z organizátorů chemické olympiády a působil i jako lektor letní školy pro chemicky orientované studenty organizované IDM MŠMT. M. Raab přednesl v rámci cyklu pořádaného AV ČR přednášku „Makromolekulární gastronomie, která se setkala s velmi pozitivním ohlasem. Při příležitosti Světového roku fyziky pojednal J. Kříž o přínosu Alberta Einsteina k současné makromolekulární vědě pro www stránky ÚMCH.

#### ***d) domácí a zahraniční ocenění zaměstnanců pracoviště***

K. Ulbrich získal cenu Invence, Česká hlava 2005, P. Kratochvíl získal vzdělávací cenu IUPAC a Samsung pro rok 2005 za postgraduální kurzy v polymerní vědě, S. Nešpůrek byl oceněn Medailí za zásluhy o budování Chemické fakulty VUT Brno.

#### ***e) další specifické informace o pracovišti, o změnách v jeho struktuře a vědecké orientaci, o výsledcích atestací a o překážkách a problémech v činnosti pracoviště atd.***

V únoru 2005 bylo uspořádáno tradiční čtyřdenní kolokvium organizované formou ústavní konference za účasti hostů ze spolupracujících organizací, na kterém byly prezentovány výsledky získané při řešení výzkumných projektů v roce 2004. Vědecko-informační středisko ústavu organizovalo pravidelné cykly přednášek našich i mimo-ústavních pracovníků.

## **2. Vědecká a pedagogická spolupráce pracoviště s vysokými školami**

### ***a) nejvýznamnější vědecké výsledky pracoviště vzniklé ve spolupráci s vysokými školami***

Ve spolupráci s PřF UK Praha jsme vyvinuli micelární a termosensitivní systémy použitelné jako nosiče radioterapeutik vhodných pro léčbu nádorů kostní dřene a jako polymerní radiodiagnostika. Připravili jsme sérii fluorescenčně značených amfifilních blokových kopolymerů PLA/PEO o různých velikostech a poměrech PLA a PEO bloků a prostudovali jsme dynamiku vzniku a výměny řetězců u micel blokových kopolymerů PLA/PEO. Vypracovali jsme metodiku přípravy nanokompozitu  $\pi$ -konjugovaného polymeru – poly(pyridylacetyleny) obsahujícího nanočástice stříbra. Interakcí excitovaného stavu polymeru s povrchovým plasmonem kovu byla omezena fluorescence polymeru a úspěšně změřena Ramanova spektra polymeru. Připravili a charakterizovali jsme monolitické kolony s vtištěnými molekulami.

Ve spolupráci s VŠCHT jsme vyřešili strukturu  $\beta$ -galaktosidasy aktivní za nízkých teplot (jedna z největších dosud vyřešených molekulárních struktur - 500 kDa). Protože jde o první strukturu nízkoteplotně aktivní galaktosidasy, je objasnění její funkce významné pro potenciální využití v potravinářském průmyslu a diagnostice. Vyvinuli jsme sendvičový ELISA test pro stanovení *Campylobacter jejuni* v potravinách s použitím magnetických poly(glycidyl-methakrylátových) mikročástic. Karbonizací styren-divinylbenzenových kopolymerů mikrovlnným ohřevem byla připravena uhlíkatá molekulová síta s vnitřním povrchem až 900 m<sup>2</sup>/g. Z nich připravené polyimidové membrány vykazovaly třikrát větší permeabilitu a zvýšenou selektivitu při separaci malých molekul proti membránám z polyimidů. Připravili jsme nové perfluoralkylované amfifilní methakryláty nesoucí sulfynylovou skupinu a jejich kopolymery s diethylenglykolmethakrylátem, jako materiály pro biomedicinální použití se zvýšenou propustností pro kyslík.

Ve spolupráci s MFF UK jsme pomocí NMR zjistili v koncentrovaných roztocích poly(vinylmethyletheru) (PVME) v D<sub>2</sub>O při teplotách nad termotropním fázovým přechodem jistý podíl vody s prostorově omezenou pohyblivostí, která je vázána v globulárních polymerních strukturách. Pro polymerní koncentrace  $c = 20$ -60 hmotnost. % byla pro vázanou HDO zjištěna pomalá výměna a relativně slabé vodíkové vazby. Skutečnost, že pro tyto koncentrace hodnoty molárního poměru vázané vody na monomerní jednotku PVME na koncentraci roztoku nezávisí, ukazuje na přímou souvislost podílu vázané vody s konformační strukturou fázově separovaného PVME. Prokázali jsme, že struktura modelových sítí na bázi hvězdicových polyolů závisí významně na zředění při přípravě. Zředění podporuje tvorbu cyklů a ty dále intermolekulární reakce. Vznik elasticky neaktivních cyklů ve struktuře jsme experimentálně potvrdili měřením rovnovážných modulů. Stanovili jsme kalorimetrické, dielektrické a dynamicko-mechanické chování kapalně krystalických roubovaných polybutadiendiolů s mesogenními skupinami v bočních řetězcích a botnací a mechanické chování poly(*N*-isopropylmethakrylamidových) a poly(*N*-isopropylakrylamidových) sítí s negativním nebo pozitivním nábojem vázaným na řetězcích ve směsích voda/ethanol.

Ve spolupráci s Chemickou fakultou VUT Brno jsme s použitím kinetických měření fotovodivosti poly[2-methoxy-5-(2'-ethylhexyloxy)-1,4-phenylenevinylenu] s polární fotochromní příměsí (spiropyranem) a sledování vzniku záchytných stavů měřením kapacitance vzorku ověřili kvantově mechanický model pohyblivosti nosičů náboje po neuspořádaném polymerním řetězci.

Ve spolupráci s I. ortopedickou klinikou 1. LF UK v Praze a PřF UK v Praze jsme vyvinuli několik dalších metod určení *in vivo* počtu otěrových částic z jamek kloubních náhrad z ultravysokomolekulárního polyethylenu. Těmito metodami jsme zjistili, že distribuce otěrových částic v různých zónách kolem kloubních náhrad je nerovnoměrná.

***b) nejvýznamnější výsledky činnosti výzkumných center a dalších společných pracovišť ústavu AV s vysokými školami***

V rámci řešení projektu Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad (1M0021620803) se nám díky nově vyvinuté reflexní infračervené spektroskopii *in situ* podařilo připravit vícevrstvé soubory biologických makromolekul na povrchu methakrylátových hydrogelů určených jako podpurné struktury pro osídlení buňkami podporujícími regeneraci poškozené míchy.

Vyvinuli jsme také metodu přípravy povrchově modifikovaných magnetických nanočástic pro značení buněk. Povrch nanočástic hraje klíčovou roli pro budoucí pohlcování nanočástic buňkami, udržuje je v koloidním systému (brání jejich nežádoucí agregaci) a umožňuje následnou funkcionalizaci a navázání biologicky aktivních látek (např. léčiv). Částice jsme charakterizovali transmisí elektronovou mikroskopií, mikroskopií atomových sil a vylučovací chromatografií. V závislosti na typu použitého modifikačního činidla (cukr, poly(aminokyselina)) a zvolené metodě bylo možné získat částice s velikostí cca. 2 nm, popř. cca. 10 nm. Nově vyvinuté nanočástice se ukazují být vhodné pro sledování buněk při transplantaci do organismu a jejich historie a osudu, včetně *in vivo* migrace pro stanovení diagnózy buněčných dysfunkcí.

Pro použití v tkáňovém inženýrství centrálního nervového systému jsme připravili trojrozměrnou porézní strukturu na bázi HPMA s vázanými oligopeptidovými sekvencemi a trojrozměrný porézní nosič methakrylátového typu s nanosenou bílkovinnou molekulární vrstvou.

V rámci společného pracoviště „Polymerní materiály“ s UTB Zlín jsme odvodili vztah pro závislost střední velikosti dispergovaných kapek v polymerních směsích na koncentraci minoritní složky. Provedli jsme analýzu příspěvku různých mechanismů ke koalescenci v taveninách nekompatibilizovaných a kompatibilizovaných polymerních směsí.

***c) spolupráce s vysokými školami na uskutečňování doktorských studijních programů (DSP) a magisterského a bakalářského studia***

Ústav získal akreditace pro obory doktorského studia zahrnující chemii, fyzikální chemii a technologii makromolekulárních látek, fyziku kondenzovaných látek, biofyziku, chemickou a makromolekulární fyziku a nově i fyzikální a materiálové inženýrství. Při jejich realizaci ústav spolupracuje s jedenácti pražskými i mimopražskými vysokými školami. Hlavní problémy naší spolupráce s vysokými školami stále spatřujeme v malém počtu a nedostatečné kvalitě studentů a absolventů zájímajících se o vědeckou práci a doktorské studium v chemických a fyzikálních oborech. Kvalitě doktorského studia by jistě prospěla i větší aktivita oborových rad, jejichž úkolem je doktorské studium řídit. Značné rezervy vysokých škol při náboru studentů vidíme i v lepším využití spolupráce s ústavu AV ČR při snaze zvýšit atraktivitu v současné době méně populárních ale důležitých studijních oborů.

V oblasti magisterského studia se pracovníci ústavu podílejí na výchově studentů jako vedoucí a konzultanti diplomových prací vypracovávaných často v laboratořích ústavu. Po pedagogické i metodické stránce zabezpečujeme v laboratořích ústavu prováděná praktická

cvičení pro studenty VŠ, která jsou součástí programů výuky některých vysokých škol (MFF UK, PřF UK, VŠCHT Praha). V letních měsících jsme zajišťovali prázdninovou praxi řady studentů chemicky orientovaných vysokých škol, např. VŠCHT Praha a MU Brno. V laboratořích ústavu také pracovali vysokoškolská studenta jako studentské vědecké síly.

### **3. Spolupráce pracoviště s dalšími institucemi a s podnikatelskou sférou**

#### ***a) společné projekty výzkumu a vývoje podpořené z veřejných prostředků***

V roce 2005 jsme řešili 12 významných projektů výzkumu a vývoje podpořených z veřejných prostředků ve spolupráci s mimovysokoškolskými výzkumnými a mimoakademickými pracovišti. V rámci projektu podporovaného grantem MPO „Předklinické zkoušky cytostatika navázaného na polymerní nosič a přenos syntézy z laboratorního do čtvrtprovozního měřítka“, který řešíme spolu s firmami VÚFB Praha a.s., Zentiva a.s. a VÚOS Pardubice, jsme navrhli a vypracovali technologický postup přípravy polymerního kancerostatika, který jsme pomohli zavést ve čtvrtprovozním měřítku ve firmě Zentiva a.s. a VÚOS Pardubice, což umožnilo zahájit předklinické a klinické testování tohoto preparátu. Současně jsme vypracovali i metodiku analytického sledování kvality meziproductů i konečného produktu.

Spolu s partnerskou organizací MEGA a.s. Stráž pod Ralskem jsme v rámci projektu podporovaného grantem MPO „Příprava a aplikace nových polymerních iontovýměnných materiálů a vývoj technologie kontinuální laminace kompozitních ionexových membrán“ připravili nové typy heterogenních iontovýměnných membrán, které byly svými vlastnostmi cíleně směřovány pro jednotlivé typy aplikací jako je např. elektrodiálýza a elektroforéza. Optimalizace složení heterogenního iontoměniče a polyolefinu je podkladem pro současné zavádění nové technologie výroby membrán RALEX kontinuální laminací.

#### ***b) výsledky výzkumu a vývoje pro ekonomickou sféru***

Z více než třiceti projektů výzkumu a vývoje pro ekonomickou sféru na základě hospodářských smluv vybíráme dva. Společně s firmou SYNPO a.s. v rámci projektu podporovaného firmou DuPont jsme stanovili charakteristiky průběhu vytvrzování, vývoj struktury a výsledné vlastnosti tří typů polymerních vytvrzovacích směsí – epoxidových, polyuretanových a organicko-anorganických. Modifikací epoxidových a polyuretanových směsí jsme dosáhli snížení počáteční viskozity a zpomalení síťovací reakce, umožňující lepší zpracovatelnost směsí při zachování dobrých vlastností materiálu. Vysvětlili jsme vliv reakčních podmínek na výsledné vlastnosti při vytvrzování za teplot nižších než je teplota skelného přechodu.

V rámci hospodářské smlouvy s firmou Zentiva a.s. a ve spolupráci s MBÚ AV ČR jsme navrhli struktury a syntetizovali polymerní konjugáty doxorubicinu s léčivem vázaným na polymer hydrolyticky štěpitelnou hydrazonovou vazbou. Ukázali jsme, že kopolymery HPMa nabízejí možnost měnit výsledné vlastnosti studovaných polymerních kancerostatik v širokém rozsahu vlastností, a to jak chemických, tak i biologických.

#### ***c) nové firmy, které vznikly na základě výsledků činnosti ústavu v oblasti aplikovaného výzkumu***

Na základě výsledků činnosti ústavu v oblasti aplikovaného výzkumu nevznikly v roce 2005 žádné nové firmy.



**d) odborné expertizy zpracované v písemné formě pro státní orgány a instituce**

Pracovníci ústavu vypracovali řadu posudků výzkumných projektů pro tuzemské i zahraniční grantové agentury, ministerstva a vysoké školy (posudky na disertační a habilitační práce). Kromě toho L. Brožová vypracovala pro Národní knihovnu expertní posudek týkající se teplotní závislosti permeability kyslíku membránami Branopac 3.

**4. Mezinárodní vědecká spolupráce pracoviště**

**a) přehled mezinárodních projektů, které pracoviště řeší v rámci mezinárodních vědeckých programů**

V rámci mezinárodních vědeckých programů řeší pracovníci ústavu následující projekty:

- Organizované polymerní nanostruktury pro použití v biologii a technice (EU projekt Marie Curie Training Site)
- Nové hybridní nanokompozity z funkčních stavebních nanobloků (EU projekt Research Training Network)
- Nanostrukturované a multifunkční polymerní materiály a nanokompozity (EU síť excelence) **NANOFUN-POLY**, FP6 NMP3-CT-2004-500361
- Genová terapie: integrovaný přístup k léčbě neoplastických onemocnění (EU integrovaný projekt) **GIANT**, FP6 LSHB-CT-2004-512087
- Nové terapeutické strategie pro tkáňové inženýrství kosti a chrupavky využívající biomimetické podpůrné materiály druhé generace (EU síť excelence) **EXPERTISSUES**, FP6 NMP3-CT-2004-500283
- Membránové technologie v nanoměřítku (EU síť excelence) **NanoMemPro**, FP6 NMP3-CT-2004-500623
- Samoorganizované nanostruktury amfifilních blokových kopolymerů, ESF EUROCORES SONS Programme, 02-PE-SONS-112-AMPHI

**b) nejvýznamnější vědecké výsledky dosažené v rámci mezinárodní spolupráce**

V rámci řešení projektu GIANT se podařilo prokázat, že povrchová modifikace virů syntetickým hydrofilním polymerem vede k zásadnímu poklesu nescifické infekčnosti vybraných adenovirů. Použití oligopeptidů a některých růstových hormonů (EGF, FGF, VEGF) vede k obnovení infekčnosti virů, tentokrát však specificky působící na buňky exprimující receptory pro příslušný hormon. Těto vlastnosti by mělo být možné využít při směrování virových nosičů DNA.

V rámci pokračující spolupráce s DKFZ Heidelberg jsme připravili další polymerní komplexy gadolinia jako vysoce efektivní diagnostika pro angiografické zobrazování magnetickou resonancí. Nový typ diagnostika je založen na komplexaci Gd s polymerními deriváty kyseliny glutamové.

V průběhu pobytu Gregory Schneidera, Institute Charles Sadron, CNRS, University Strasbourg v oddělení biolékařských polymerů byla vypracována metoda přípravy vícevrstvových nanočástic metodou nanášení polyelektrolytových vrstev na zlaté částice. Vypracovali jsme metody povrchové modifikace nanočástic hydrofilními polymery nesoucími ve své struktuře reaktivní skupiny. Modifikace polymerem vedla k výrazné stabilizaci nanočástic ve vodných roztocích a ukázali jsme, že reaktivní skupiny umožňují

kovalentní připojení kancerostatika doxorubicinu k částici vazbami zajišťujícími uvolnění kancerostatika v prostředí modelujícím prostředí nádorové buňky.

Zjistili jsme, že polymery poly(*p*-fenylenvinolenového) typu s 1,3,5-trifenybenzenem a s 2,4,6-trifenyropyridinem v hlavním řetězci, syntetizované na Universitě v Patrasu (Řecko), vykazují v tenké vrstvě intenzivní zelenou fotoluminiscenci, která je posunuta k delším vlnovým délkám ve srovnání s fotoluminiscencí jejich roztoků, což svědčí o tvorbě excimerů či agregátů. Z těchto polymerů byly připraveny zeleně svítící elektroluminiscenční diody. Charakter jejich napěťově-proudových charakteristik jsme vysvětlili v rámci modelu proudů omezených prostorovým nábojem, zatímco závislost jejich elektroluminiscenční intenzity na elektrickém poli odpovídá spíše Fowler-Nordheimovu vztahu.

Ve spolupráci s University Trento (Itálie) jsme vyvinuli novou koncepci analýzy a predikce nelineárního viskoelastického creepu polymerů založenou na „materiálových hodinách“ řízených okamžitým volným objemem, jenž je za konstantní teploty, tlaku a tahového napětí funkcí časově proměnné deformace. Na základě této analýzy jsme pro předpověď creepu termoplastů a jejich směsí navrhli a ověřili nelineární teorii, která bere v úvahu, že vztah napětí-deformace je od svého počátku nelineární, i když všechny materiálové parametry zůstávají konstantní.

Ve spolupráci s Ústavem chirurgie Akademie lékařských věd Ruska vyvinuté měkké hydrogelové částice sférického nebo válcovitého tvaru se v Rusku úspěšně využívají k léčení pacientů s krvácivými stavy a nádory jak benigními, tak i maligními, zejména hemangiomy.

Ve spolupráci s Research Institute of Chemical and Process Engineering, Veszprém, Maďarsko, byl v rámci mezikaderní dohody navržen a vyzkoušen membránový proces pro separaci vodíku připraveného biologickou cestou, který je základem maďarského patentu „Membrane process for recovery and concentration of biohydrogen“.

### ***c) akce s mezinárodní účastí, které pracoviště organizovalo nebo v nich vystupovalo jako spolupořadatel***

V rámci tradičních pražských setkání o makromolekulách organizoval ústav v roce 2005 pod záštitou IUPAC 44<sup>rd</sup> Microsymposium „Polymer Gels and Networks“ za účasti 54 českých a 134 zahraničních účastníků a 23<sup>rd</sup> Discussion Conference „Current and Future Trends in Polymeric Materials“ za účasti 47 českých a 91 zahraničních účastníků. Pracovníci ústavu dále zorganizovali 2<sup>nd</sup> Short Course of Nanofun-Poly „Nanostructured Polymer Materials: Characterisation and Applications“, 3<sup>rd</sup> Nanofun-Poly Workshop „Chemistry, Processing, Structure, Properties and Applications of Nanostructured Polymers and Nanocomposites“ pro 130 účastníků, „Hybrid Nanobuilding Blocks Workshop“ pro 25 účastníků, z nichž 20 bylo zahraničních, výroční konferenci řešitelů projektu podporovaného grantem EU GIANT, které se zúčastnilo 27 zahraničních účastníků a 7 pracovníků ÚMCH a jednodenní seminář „The First Workshop on Solid-State NMR and Computational Methods“ pro 30 účastníků, z nichž 4 byli zahraniční.

Ve školním roce 2004/2005 pokračoval kurs pro zahraniční postgraduální studenty, konaný pod záštitou UNESCO a IUPAC a finančně podporovaný AV ČR. Desetiměsíční kurs se skládal z práce v laboratořích doplněné přednáškovým cyklem více než dvaceti přednášek přednesených pracovníky ústavu. Kurzu se zúčastnilo devět zahraničních studentů. V druhé polovině roku byl zahájen další běh tohoto kurzu za účasti sedmi zahraničních studentů. Kromě studijních pobytů studentů a doktorandů v rámci projektů

EU absolvoval i v letošním roce tříměsíční pracovní pobyt v ústavu student Engineering School of Chemistry in Clermont-Ferrand, Francie,

***d) výčet jmen nejvýznamnějších zahraničních vědců, kteří navštívili pracoviště AV ČR***

V roce 2004 ústav navštívili Prof. Adi Eisenberg, McGill University, Kanada, Prof. Jose Maria Kenny, University of Perugia, Itálie, Prof. Veena Choudhary, Indian Institute of Technology, New Delhi, Indie, Prof. Jacek Ulanski, Technical University Lodz, Polsko, Prof. Joachim Stumpe, Fraunhofer-Institut für Angewandte Polymerforschung, Golm, Německo, Prof. A.D. Jenkins (redaktor časopisu Polymer International, aktivní člen Royal Society of Chemistry a IUPAC), Anglie, Prof. H. Muenstedt (President of German Society of Rheology), University of Erlangen, Německo, Prof. Alain Guyot (bývalý ředitel ústavu CNRS v Lyonu), Francie, Prof. Laurence Bordenave, Université Victor Segalen Bordeaux, Francie, Prof. Thomas A. P. Seery, Institute of Materials Science, University of Connecticut, USA, Prof. Frederic Nallet, Centre de Recherches Paul Pascal CNRS, Pessac, Francie.

***e) počet fungujících meziústavních dvoustranných dohod***

Pracovníci ústavu v roce 2005 spolupracovali s týmy významných pracovišť jak evropských, tak mimoevropských v rámci dvaceti pěti dvoustranných meziústavních dohod.

Anotace 1

## Magnetické nano- a mikročástice pro lékařství a biologii

Daniel Horák a Milan Beneš

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6

Použití magnetických částic v různých oborech přírodních i technických věd v poslední době trvale roste. Pro využití v biochemii, biologii a medicíně jsou podstatné zejména jejich snadná ovladatelnost magnetickým polem, možnost jejich sledování v magnetickém rezonančním zobrazení a jejich schopnost nést biologicky aktivní látku, např. léčivo, nukleovou kyselinu, či protilátku.

Spolu s kooperujícími pracovišti jsme novými postupy připravili magnetické oxidy železa (magnetit, maghemit a Co, Cu, Mn ferrity) v širokém rozmezí velikosti částic, počínaje nanočásticemi (miliontiny milimetru) až po mikročástice (tisíciny milimetru). Vyvinuli jsme také techniky, kterými lze povrch částic upravit pro řadu praktických použití. Takové úpravy zvyšují stabilitu koloidních nanočástic a hlavně umožňují zavedení funkčních skupin na jejich povrch. Připravili jsme magnetický polymerní nosič s karboxylovými skupinami, který byl využit pro izolaci nukleových kyselin v molekulární diagnostice mikroorganismů, pro imobilizaci enzymů v enzymových reaktorech a mikročipech používaných v diagnostice a při stanovení struktury bílkovin z velmi malých vzorků. Magnetické polymerní mikročástice s navázanou protilátkou se ukázaly být výhodným nosičem pro stanovení některých patogenních bakterií (např. *Campylobacter jejuni*) v potravinách. Ferritové částice jsou také účinnými katalyzátory odbourávání těžko odstranitelných barviv a polyaromatických uhlovodíků peroxidem vodíku, čehož lze využít při ochraně životního prostředí. Magnetické nanočástice oxidů železa modifikované cukry nebo peptidy jsou schopny pronikat do kmenových buněk (např. do stromálních buněk kostní dřeni) lépe než dosud používaná komerční činidla. Identifikace buněk označených magnetickou rezonancí je tak možná po aplikaci malého množství magnetických nanočástic, což je výhodné při aplikacích *in vivo* jako je sledování buněk při transplantaci do organismu a jejich dlouhodobého chování po transplantaci a pro určení patologických změn spojených s buněčnou dysfunkcí.

### Publikace:

1. Horák D., Rittich B., Španová A., Beneš M.J.: *Magnetic microparticulate carriers with immobilized selective ligands in DNA diagnostics*. - *Polymer* 46: 1245-1255 (2005).
2. Křížová J., Španová A., Rittich B., Horák D.: *Magnetic hydrophilic methacrylate-based polymer microspheres for genomic DNA isolation*. - *J. Chromatogr. A* 1064: 247-253 (2005).
3. Španová A., Rittich B., Beneš M.J., Horák D.: *Ferrite supports for isolation of DNA from complex samples and polymerase chain reaction amplification*. - *J. Chromatogr. A* 1080: 93-98 (2005).
4. Korecká L., Ježová J., Bílková Z., Beneš M., Horák D., Hradcová O., Slovácová M., Viovy J.L.: *Magnetic enzyme reactors for isolation and study of heterogeneous glycoproteins*. - *J. Magn. Mater.* 293: 349-357 (2005).
5. Bílková Z., Slovácová M., Minc N., Fütterer C., Cecal R., Horák D., Beneš M.J., le Potier I., Křenková J., Przybylski M., Viovy J.L.: *Functionalized magnetic micro and nanoparticles: optimization and application to  $\mu$ -chip tryptic digestion*. - *Electrophoresis*, v tisku.
6. Horák D., Hochel I.: *Magnetic poly(glycidyl methacrylate) microspheres for ELISA *Campylobacter jejuni* detection in food*. - *e-Polymers*, <http://www.e-polymers.org/061> (2005).

Anotace 1

## **Magnetic nano- and microspheres for medicine and biology**

Daniel Horák a Milan Beneš

*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic,*

*162 06 Prague 6*

Recently, the application of magnetic particles in various fields of natural and technical sciences has been continuously increasing. It is important, especially in biochemical, biological and medical applications, that they can be easily handled by magnetic field, monitored in magnetic resonance imaging and can carry biologically active compounds, such as drug, nucleic acid, or antibody.

Together with the cooperating research organizations we developed new procedures for preparation of magnetic iron oxides (magnetite, maghemite and Co, Cu, Mn ferrites) in a wide range of particle sizes, starting from nanoparticles (millionths of millimeter) up to microspheres (thousandths of millimeter). We also developed techniques of modification of the surface of the particles for a range of practical applications. The modifications increase the stability of colloidal nanoparticles and make it possible to introduce functional groups. For example, we prepared a magnetic polymer carrier with carboxyl groups utilized for isolation of nucleic acids in molecular diagnostics of microorganisms, for immobilization of enzymes in enzyme reactors and microchips used in diagnostics and in the determination of protein structure from very small samples. Magnetic polymer microspheres with immobilized antibody turned out to be an attractive carrier for the determination of pathogenic bacteria *Campylobacter jejuni* in food. Moreover, ferrite particles are effective heterogeneous catalysts in the degradation of dyes and polyaromatic hydrocarbons using hydrogen peroxide, which are otherwise difficult to remove. This may be used in environment protection. Our magnetic iron oxide nanoparticles modified with saccharides or peptides are able to penetrate stem cells (e.g., bone marrow stromal cells) better than currently available commercial products. Identification of the cells labeled by means of magnetic resonance is thus possible after injection of small amounts of magnetic nanoparticles. This is of advantage, for example, in monitoring cells in *in vivo* applications, such as transplantations into the organism, and in long-term monitoring their post-transplantation behavior and for the determination of pathological changes associated with the cell dysfunction.

### **Papers:**

1. Horák D., Rittich B., Španová A., Beneš M.J.: *Magnetic microparticulate carriers with immobilized selective ligands in DNA diagnostics.* - *Polymer* 46: 1245-1255 (2005).
2. Křížová J., Španová A., Rittich B., Horák D.: *Magnetic hydrophilic methacrylate-based polymer microspheres for genomic DNA isolation.* - *J. Chromatogr. A* 1064: 247-253 (2005).
3. Španová A., Rittich B., Beneš M.J., Horák D.: *Ferrite supports for isolation of DNA from complex samples and polymerase chain reaction amplification.* - *J. Chromatogr. A* 1080: 93-98 (2005).
4. Korecká L., Ježová J., Bílková Z., Beneš M., Horák D., Hradcová O., Slováková M., Viovy J.L.: *Magnetic enzyme reactors for isolation and study of heterogeneous glycoproteins.* - *J. Magn. Magn. Mater.* 293: 349-357 (2005).
5. Bílková Z., Slováková M., Minc N., Fütterer C., Cecal R., Horák D., Beneš M.J., le Potier I., Křenková J., Przybylski M., Viovy J.L.: *Functionalized magnetic micro and nanoparticles: optimization and application to  $\mu$ -chip tryptic digestion.* - *Electrophoresis*, v tisku.
6. Horák D., Hoche I.: *Magnetic poly(glycidyl methacrylate) microspheres for ELISA Campylobacter jejuni detection in food.* - *e-Polymers*, <http://www.e-polymers.org/061> (2005).

## Anotace 2

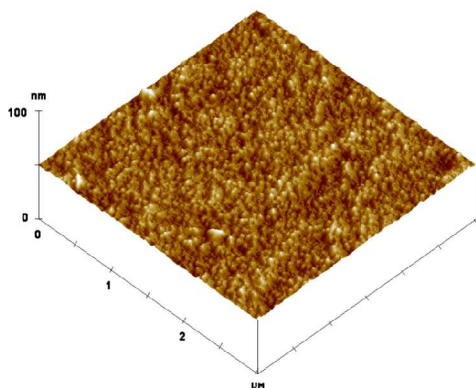
### Organicko-anorganické nátěry a filmy

Milena Špírková, Jiří Brus a Adam Strachota.

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6

Hybridní organicko-anorganické (O-A) nanokompozity patří v současnosti k nejintenzivněji studovaným polymerním materiálům. Výběrem komponent nanokompozitů a způsobu jejich přípravy lze cíleně ovlivňovat výsledné struktury a tím i jejich užité vlastnosti, což je předmětem jak základního tak aplikovaného výzkumu zejména v oblastech optických a elektronických senzorů, membrán a ochranných povlaků..

Připravili a charakterizovali jsme O-A nanokompozitní nátěry a volné nátěrové filmy, které jsme testovali s ohledem na možnost jejich využití jako ochranných povlaků pro materiály různé povahy (polymery, kovy, sklo). V prvním stupni jsme připravili anorganické siloxanové struktury, které byly následně zabudovány do organické polymerní matrice. Proces přípravy nátěrů lze řídit a optimalizací reakčních podmínek spolu s výběrem komponent je možné cíleně připravovat produkty s požadovanými vlastnostmi. Způsobem přípravy lze ovlivňovat např. jejich mechanické vlastnosti, stupeň upořádání, velikosti nanoheterogenit, apod. Výsledkem jsou bezbarvé transparentní nátěry existující



AFM zobrazení povrchu nátěru obsahujícího koloidní oxid křemičitý.

při laboratorní teplotě (23 °C) ve skelném nebo kaučukovitém stavu (lze připravit materiály s teplotou skelného přechodu  $T_g$  mezi -17 a 57 °C). Stav, ve kterém se nanokompozit za dané teploty nachází, výrazně ovlivňuje jeho užité vlastnosti. Nejlepší mechanické a povrchové vlastnosti pro praktické aplikace vykazuje poměrně úzký okruh nátěrových filmů s teplotou skelného přechodu  $T_g = 20 \pm 5$  °C. V této oblasti lze připravit materiály, které se navzájem výrazně liší stupněm autoorganizace, velikostí heterogenit v nanometrovém měřítku, kompaktností anorganických stavebních bloků a strukturou organické polymerní matrice. Přídavkem nanoplňiv (koloidního oxidu křemičitého nebo

montmorillonitu) lze zlepšit některé povrchové vlastnosti nátěrů, např. zvýšit jejich odolnost proti poškrábání a otěruvzdornost.

#### Publikace:

1. Špírková M., Brus J., Baldrian J., Šlouf M., Kotek J.: Preparation and surface characterisation of novel epoxy-based organic-inorganic nanocomposite coatings. - *Surf. Coat. Int. Part B, Coat. Trans.* 88: 237-242 (2005).
2. Brus J., Špírková M.: NMR spectroscopy and atomic force microscopy characterization of hybrid organic-inorganic coatings - *Macromol. Symp.*: 220, 155-164 (2005).
3. Špírková M., Šlouf M., Bláhová O., Farkačová T., Benešová J.: Sub-micrometre characterization of surfaces of nanocomposite coatings. A comparison of AFM study with currently used testing techniques. - *J. Appl. Polym. Sci.*, submitted

Anotace 2

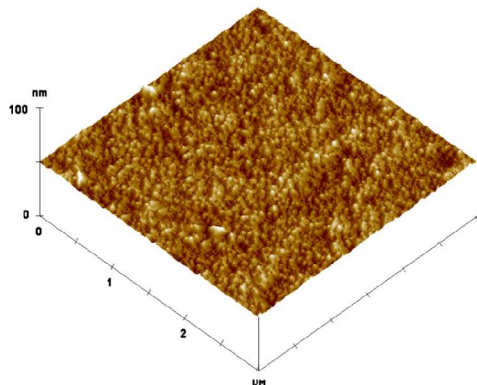
## Organic-inorganic coatings and films

Milena Špírková, Jiří Brus a Adam Strachota.

*Institute of Macromolecular Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic,  
162 06 Prague 6*

At present, hybrid organic-inorganic nanocomposites rank among the most progressive and most intensively studied polymeric materials. The variability in choice of raw materials and methods of their preparation can influence resulting structures and hence their utility properties. The nanocomposites are the object of both fundamental and application research especially in the field of optical and electronic sensors, biomaterials, membranes, protective coatings, etc.

We prepared and characterized organic-inorganic nanocomposite coatings and free-standing films with respect to their potential use as protective coatings on materials of various nature (polymers, metals, glass). In the first step inorganic siloxane structures were formed which were subsequently built into the organic polymeric matrix. The process of preparation of coatings can be controlled and products with required properties can be prepared by optimization of reaction conditions and proper choice of starting components. Their properties such as degree of ordering, nanoheterogeneities, and mechanical



*Surface of coating containing colloidal silica particles*

properties can be influenced by the method of preparation. Resulting colorless and transparent coatings are in the glass, main-transition or rubbery states at laboratory temperature. Materials with glass transition temperature,  $T_g$ , between  $-17$  and  $57$  °C can be prepared. The state of nanocomposite at a given temperature strongly influences its utility properties. The best mechanical and surface properties for practical applications were achieved with coating films with a relatively narrow range of  $T_g = 20 \pm 5$  °C. In this region, materials can be prepared which substantially differ in the degree of self-assembling, size of nanoheterogeneities, compactness of inorganic building blocks and the

structure of organic polymeric matrix. If nanofillers (colloidal silica or montmorillonite) are added, some surface properties of coatings such as scratch and abrasion resistances can be improved.

### Papers:

1. Špírková M., Brus J., Baldrian J., Šlouf M., Kotek J.: Preparation and surface characterisation of novel epoxy-based organic-inorganic nanocomposite coatings. - *Surf. Coat. Int. Part B, Coat. Trans.* 88: 237-242 (2005).
2. Brus J., Špírková M.: NMR spectroscopy and atomic force microscopy characterization of hybrid organic-inorganic coatings. - *Macromol. Symp.* 220: 155-164 (2005).
3. Špírková M., Šlouf M., Bláhová O., Farkačová T., Benešová J.: Sub-micrometre characterization of surfaces of nanocomposite coatings. A comparison of AFM study with currently used testing techniques. - *J. Appl. Polym. Sci.*, submitted for publication.

## **Příloha 2**

ÚMCH v roce 2005 vydal dva konferenční sborníky: Programm Booklet of 44th Microsymposium: Polymer Gels and Networks, July 10-14, 2005, ISBN 80-85009-50-1 (196 stran) a 23rd Discussion Conference: Current and Future Trends on Polymeric Materials, June 26-30, 2005, ISBN 80-85009-51-X (188 stran).