



## **Bakalářská práce**

# **Funkční nanomateriály s aplikačním potenciálem v tkáňovém inženýrství a biomedicině**

*Studijní program:*

B0914P360007 Biomedicínská technika

*Autor práce:*

**Kateřina Janečková**

*Vedoucí práce:*

Mgr. Radek Coufal

Fakulta zdravotnických studií

Liberec 2023



## Zadání bakalářské práce

# Funkční nanomateriály s aplikačním potenciálem v tkáňovém inženýrství a biomedicině

<i>Jméno a příjmení:</i>	<b>Kateřina Janečková</b>
<i>Osobní číslo:</i>	D20000134
<i>Studijní program:</i>	B0914P360007 Biomedicínská technika
<i>Zadávací katedra:</i>	Fakulta zdravotnických studií
<i>Akademický rok:</i>	2022/2023

## Zásady pro vypracování:

### Cíle práce

1. Popsat důležité vlastnosti biokompatibilních nanovlákných materiálů.
2. Nalézt vhodné podmínky pro přípravu biokompatibilní nanovlákné vrstvy z helikálně chirálního polymeru polyacetylenového typu metodou elektrostatického zvlákňování a následně vrstvu připravit.
3. Charakterizovat morfologii a vlastnosti připravené nanovlákné vrstvy.
4. Dle vlastností navrhnout případný aplikační potenciál nově vzniklého materiálu v oblasti biomedicíny či tkáňového inženýrství.

### Teoretická východiska

Náplní této bakalářské práce bude porovnávání různých nanomateriálů, zejména v kontextu aplikačního potenciálu v bioinženýrství a biomedicině. Materiálové vlastnosti, které rozhodují o následném využití konkrétního materiálu mohou být např. biokompatibilita, pružnost, pevnost, morfologie, elektronová vodivost, optické vlastnosti, ale i cena, dostupnost a náročnost přípravy.

Polyacetylen je organický polymer. Sám o sobě pro jeho nestabilitu nemá praktické využití, ale stal se předmětem výzkumu zejména pro jeho elektrickou vodivost, což je pro vědu zajímavá vlastnost. Přidáním různých substitucí na konjugovaný řetězec lze docílit větší stability. Substituované polyacetyleny vykazují vlastnosti, jako je například světelná vodivost, luminiscence, optická aktivita nebo biokompatibilita. Využití elektrostatického zvlákňování pro přípravu nanovlákných materiálů na bázi polyacetyleny je v literatuře téměř neznámou otázkou. Nalezení vhodných podmínek pro elektrostatické zvlákňování roztoku polyacetyleny s vhodnou substitucí by mohlo poskytnout funkční nanovláknou vrstvu s aplikačním potenciálem v oblasti biomedicíny.

### Metody práce

Výzkumnou metodou bakalářské práce bude v teoretické části rešerše. Praktická část zahrnuje laboratorní výzkum, který je rozdělen na dvě základní části. První z nich je příprava nanovlákné vrstvy polyacetyleny (nebo látky na jeho základu), což v sobě zahrnuje i nalezení vhodných podmínek, aby bylo možné vytvořit nanovlákná. Druhá část zahrnuje kultivaci buněk na vytvořené nanovlákné vrstvě, čímž se otestuje jeho biokompatibilita.

### Místo, čas a realizace výzkumu

Výzkumná část bude probíhat v laboratořích FZS Technické univerzity v Liberci, konkrétně na přístroji 4Spin, dále v prostorách Ústavu pro nanomateriály, nové technologie a inovace TUL od listopadu 2022 do dubna 2023.

### Rozsah práce

Rozsah bakalářské práce činí 40-60 stran.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování práce:

Jazyk práce:

tištěná/elektronická

Čeština

### Seznam odborné literatury:

- BERTÓK, Tomáš et al. 2017. Nanobiotechnologie, alebo, Od lepiacej pásky k medicínskym aplikáciám. Bratislava: VEDA, vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied. ISBN 978-80-224-1580-4.
- FESTAS, AJ, A. RAMOS a J. P. DAVIM. 2020. Medical devices biomaterials – a review. *Journal of materials design and applications*. **234**(1). 218-228. DOI 10.1177/1464420719882458journals.sagepub.com/home/pil.
- HUMPOLÍČEK, Petr. 2020. Biokompatibilita polymerů. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. ISBN 978-80-7454-909-0.
- CHOCHOLATA, P. V. KULDA a V. BABUSKA. 2019. Fabrication of Scaffolds for Bone-Tissue Regeneration. *Materials*. **12**(4). 568-593. DOI 10.3390/ma12040568.
- JAHANGIRIAN, Hossein et al. 2018. A review of using green chemistry methods for biomaterials in tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*. **2018**(13). 5953—5969. DOI 10.2147/IJN.S163399.
- LI, Pengpeng et al. 2020. Preparation and Chirality Investigation of Electrospun Nanofibers from Optically Active Helical Substituted Polyacetylenes. *Macromolecules*. **53**(2). 602-608. DOI 10.1021/acs.macromol.9b02118.
- PANDEY, Ekta et al. 2016. Some biocompatible materials used in medical practices – a review. *International journal of pharmaceutical sciences and research*. **7**(7). 2748-2755. ISSN 0975-8232.
- RIBEIRO, J., P. R. PIRRACO a R. HORTA. 2020. Tissue engineering in plastic surgery – what has been done. *Acta chirurgiae plasticae*. **62**(4), 103-110. ISSN: 0001-5423.
- ŠIRC, Jakub. 2020. Nanovlákná pro aplikaci protinádorových léčiv. *Vesmír*. **99**(5), 272-273. ISSN: 0042-4544.
- VANDY SENEGH, Joseph et al. 2021. Investigation of poly(phenylacetylene) derivatives for carbon precursor with high carbon yield and good solubility. *European polymer journal*. **147**. 155-172. ISSN 0014-3057.
- YANG, Jiali et al. 2020. Electrospinning chiral fluorescent nanofibers from helical polyacetylene: preparation and enantioselective recognition ability. *Nanoscale Adv.* **2**. 1301-1308. DOI 10.1039/d0na00127arsc.li/nanoscale-advances.

Vedoucí práce:

Mgr. Radek Coufal

Fakulta zdravotnických studií

Datum zadání práce:

26. října 2022

Předpokládaný termín odevzdání:

5. května 2023

L.S.

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc.,

MBA

děkan

V Liberci dne 4. dubna 2023



## Prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé bakalářské práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé bakalářské práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li bakalářskou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má bakalářská práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

## **Poděkování**

V první řadě bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce Mgr. Radku Coufalovi za jeho čas, trpělivost, inspiraci a spoustu odborných rad při zpracovávání práce. Bez jeho pomoci by tato práce nevznikla. Dále bych chtěla poděkovat všem vědeckým pracovníkům, především pak Mgr. Olze Buchar Klinovské a Ing. Zdence Hodkové, kteří se podíleli na výzkumné části.

# **ANOTACE**

## **Funkční nanomateriály s aplikačním potenciálem v tkáňovém inženýrství a biomedicině**

Tato bakalářská práce se zabývá nanomateriály a jejich využití v oblasti tkáňového inženýrství a biomedicíny. Jejím cílem je v teoretické části shrnout nejdůležitější vlastnosti nanomateriálů a uvést konkrétní příklady využití v těchto oblastech. Experimentální část zahrnuje nalezení vhodných podmínek pro elektrostatické zvlákňování helikálně chirálního polymeru s motivem polyacetylenového řetězce, následně vlákna připravit, charakterizovat jejich vlastnosti a navrhnout oblast využití.

### **Klíčová slova**

biomedicína, biosenzorika, nanotechnologie, polyacetylen

# **ANNOTATION**

## **Functional nanomaterials with application potential in tissue engineering and biomedicine**

This bachelor thesis deals with nanomaterials, their production and further applications in the field of tissue engineering and biomedicine. The aim of the thesis is to summarize the most important properties of the used nanomaterials and to mention some examples of specific nanomaterials used in this field. The experimental part is focused on finding suitable conditions for preparation of electrospun nanofibers from helical polyacetylene-like substance, then to prepare the respective fibers, describe their properties and suggest their application potential.

### **Keywords**

biomedicine, biosensorics, nanotechnology, polyacetylene

## Obsah

Seznam symbolů a zkratk	12
1 Úvod	13
2 Teoretická část	15
2.1 Výroba nanovláken	15
2.1.1 Metoda elektrostatického zvlákňování	16
2.2 Žádoucí vlastnosti nanovláknenných nosičů	19
2.2.1 Biokompatibilita	19
2.2.2 Mechanické vlastnosti	20
2.3 Příklady využití nanovláknenných materiálů v bioinženýrství	20
2.3.1 Hojení kožních ran	20
2.3.2 Kostní náhrady	22
2.3.3 Náhrady srdeční svaloviny	23
2.3.4 Biosenzorika	24
2.4 Polyacetylen	26
2.4.1 Příprava	27
2.4.2 Příklady využití funkčních látek na s motivem polyacetylenového řetězce	27
2.4.3 Helikální chiralita	29
2.4.4 Konjugované látky s motivem polyacetylenového řetězce a electrospinning	29
3 Praktická část	31
3.1 Cíle a výzkumné předpoklady/otázky	31
3.2 Metody	31
3.3 Analýza výzkumných dat a vyhodnocení cílů	33
3.3.1 Příprava a vyhodnocení vláken	33
3.3.2 Stabilita ve vodném prostředí	36
3.3.3 Obrazová analýza	37
3.3.4 Spektrální charakteristiky	39



3.4 Vyhodnocení cílů	40
4 Diskuze	42
5 Návrh doporučení pro praxi	43
6 Závěr	44
Seznam použité literatury	45

## Seznam symbolů a zkratk

ATR	attenuated total reflection (utlumený totální odraz)
DTGS	deuterovaný triglycinsulfát
FTIR	Fourier-transform infrared spectroscopy (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací)
OFET	organic field-effect transistor (organický polem řízený tranzistor)
OLED	organic light-emitting diodes (organické světelně vyzařující diody)
p.a.	per analysis (pro analýzu)
PCL	polykaprolakton
PEG	polyethylenglykol
PVA	polyvinylalkohol
SEM	scanning electron microscope (skenovací elektronový mikroskop)
TBAI	tetrabutylamoniumjodid

# 1 Úvod

Obor nanotechnologie se považuje za jedno z nejdůležitějších odvětví moderní vědy 21. století. Nanomateriály jsou stále z velké části předmětem testování a výzkumu, již dnes ale mají celou řadu využití například v elektrotechnice, informačních technologiích, v oboru polovodičů a v oblasti senzoričky (Stanislav, 2015).

Nanovlákná jsou samostatnou podskupinou nanomateriálů. Charakteristické jsou pro ně jejich rozměry, z nichž dva jsou v řádech nanometrů ( $\leq 1000$  nm) a třetí je výrazně větší, v řádu desítek centimetrů. Nanovláknenné materiály mají oproti obyčejným materiálům mnohonásobně větší měrný povrch. Velkou výhodou je rovněž jednodušší ovlivnění výsledné pórovitosti, široký výběr potenciálně zvláknitelných materiálů a možnost funkcionalizace povrchu. Nanovláknenným strukturám se rovněž připisují lepší mechanické vlastnosti než běžným materiálům. Pro tyto kvality nacházejí nanovláknenné materiály uplatnění v medicíně, například jako systémy pro cílené podávání léků, případně jako různé biosenzory (Rasouli, 2019)

Jedna z nejdůležitějších oblastí medicíny, kde nanovlákná nacházejí své uplatnění, je tkáňové inženýrství. Tkáňové inženýrství je vědní obor zabývající se přípravou biologicky ekvivalentní náhrady poškozené tkáně nebo orgánu, jak na anatomické, tak i na fyziologické úrovni. Využívá poznatků biologie, medicíny a materiálových věd (Rasouli, 2019). Základním postupem pro výrobu tkáňové náhrady je extrakce buněk z tkáně, kterou je potřeba nahradit. Následuje proces izolace a kultivace buněk, při kterém dochází k jejich osamostatnění a zvýšení počtu. Následně jsou buňky přeneseny na nosič neboli scaffold. Tkáňový scaffold je dvou nebo třídímní struktura připomínající lešení, která slouží jako dočasná podpora pro růst a množení buněk. Zároveň je podporuje k tvorbě vlastní extracelulární matrix. Důležitá vlastnost tkáňových nosičů je jejich biodegradabilita v organismu, není tedy nutné následné chirurgické odstranění. K výrobě scaffoldů se z přírodních materiálů často využívá kolagen, který se využívá především k náhradám kůže. Dalším příkladem může být chitin, jehož struktury se využívají jako nosiče pro kostní náhrady. V tkáňovém inženýrství se využívají i syntetické materiály, nejčastěji jde o polymery. Příkladem může být polykaprolakton využívaný ke kostním nebo cévním náhradám. Další využívanou látkou je kyselina polymléčná, která rovněž slouží jako scaffold cévních náhrad (Rasouli, 2019). Při výrobě tkáňových nosičů mají své místo i nanovláknenné materiály.

Nanovláknenné scaffoldy mají výhodu již zmíněného vysokého měrného povrchu a velké pórovitosti, což je z hlediska osídlování buňkami ideální kombinace. Rovněž disponují vhodnými mechanickými vlastnostmi (Chocholata, 2019). Příkladem nanovláknenných materiálů využívaných v tkáňovém inženýrství může být například polyvinylalkohol/polykaprolakton (PVA/PCL), využívaný jako scaffold náhrady chrupavek. Kopolymery kyseliny DL-mléčné a kyseliny glykolové v kombinaci s uhlíkovými nanotrubicemi se využívají jako scaffold pro náhradu myokardu (Rasouli, 2019).

## 2 Teoretická část

### 2.1 Výroba nanovláken

Jednotlivé metody výroby nanovláknenných materiálů se podle dominující techniky dají rozdělit na biologické, fyzikální a chemické. Fyzikální metody k tvorbě nanovláken využívají vysokoenergetické záření, elektrickou nebo tepelnou energii. Působením tepla dojde k roztavení materiálu a jeho následnému odpaření. Následně materiál kondenzuje za vzniku nanovláken nebo tenkých povlaků. Metodou tepelného rozkladu lze vyrobit nanovláknena oxidů kovů, případně uhlíku. Rovněž bývá někdy využívána metoda založená na působení tlaku a mechanických sil. Vlivem těchto dvou faktorů dojde k narušení vnitřní struktury materiálu, který lze poté zvláknit (Rasouli, 2019).

Chemické metody spočívají ve výrobě nanovláken pomocí chemické reakce. Iniclace chemické reakce může být spontánní, případně může být vyvolána přítomností katalyzátoru, radiace nebo dodáním energie, ať už elektrické či tepelné (Rasouli, 2019). Jedna z nejpoužívanějších chemických metod zvláknování je takzvaná „sol-gel“ metoda. Název vznikl z anglického „solution“ (roztok) a „gel“. Metoda spočívá v rozpuštění monomerů určité látky v rozpouštědle, které se následně odpaří. Odpařováním rozpouštědla dochází k tunutí a vzniku homogenního nanomateriálu, který lze dále upravovat působením tlaku nebo mechanických sil (Velu, 2020).

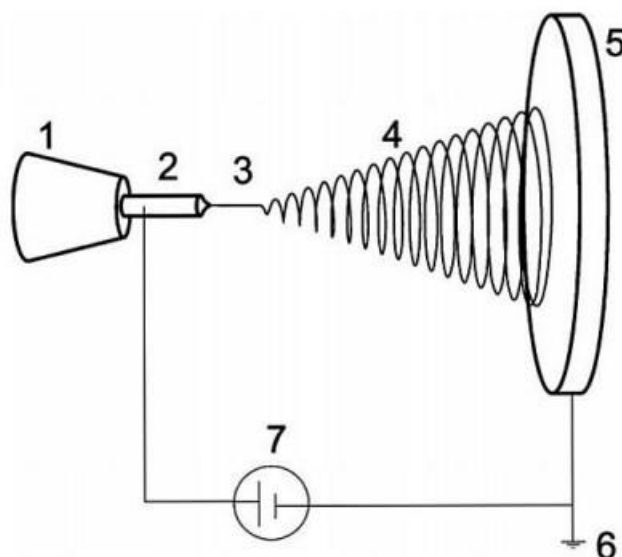
Biologické metody v sobě zahrnují reakci nezpracovaných nanovláknenných surovin a bioaktivních organismů, jako jsou například bakterie, které dané suroviny zpracují pomocí svých enzymů. Reakce mohou být sekundárně ovlivňovány například mechanickými silami, elektrickou či tepelnou energií, případně přítomností radiace. Příkladem může být vznik nanovláknenných struktur na základě celulózy pomocí aerobního druhu bakterií, které v sobě obsahují enzym celulózu. Celulóza štěpí vlákna celulózy na jednodušší a rozměrově menší struktury. Protože jsou nanovláknena celulózy vyrobená bakteriemi chemicky čistější, než je tomu u rostlinné celulózy, vykazují unikátní fyzikální a chemické vlastnosti (Lahiri, 2021). Biologické metody mají potenciál v oblasti ekologické výroby nanovláken. Metody, které se v současné době používají mohou být energeticky náročné. Během výroby vzniká často velké množství odpadu,



mnohdy mohou být tímto odpadem různé toxické sloučeniny. Biologické metody představují do budoucna naději pro ekologičtější výrobu nanovláken snížením energetické náročnosti a redukcí vzniklého odpadu i toxických látek. Jednou z vizí, jak tohoto dosáhnout, je využít k výrobě zemědělské a živočišné odpadní produkty. Jejich použití tudíž není finančně tolik náročné. Vzhledem k výše uvedeným důvodům mají tyto metody velký potenciál uplatnit se při syntéze nanovláknenných materiálů pro biomedicínské aplikace, například pro tkáňové inženýrství či biosenzoriku (Jahangirian, 2018).

### **2.1.1 Metoda elektrostatického zvlákňování**

Metoda elektrostatického zvlákňování (též electrospinning) je v dnešní době poměrně rozšířená metoda výroby nanovláken. Základním a nejjednodušším druhem electrospinningu je takzvané jehlové elektrostatické zvlákňování. Prvním krokem je elektrické nabití kapky na hrotu jehly. Jakmile se kapka dostatečně nabije, překoná elektrická síla povrchové napětí kapky a dojde k vytvoření nanovláken, která jsou poté zachytávána na uzemněném kolektoru (podrobný princip bude popsán dále). K výrobě nanovláken tedy v základu stačí pouze zdroj vysokého napětí, stříkačka s vodivou jehlou (takzvaný emitor), dávkovač a uzemněná deska, která slouží jako kolektor (viz obr. č. 1). Základními parametry této metody jsou napětí (používá se v řádu jednotek až desítek kV), rychlost dávkování (většinou  $\mu\text{l}/\text{min}$ ) a vzdálenost elektrod, důležitá je i teplota a vlhkost vzduchu. Za použití této metody dochází k minimálním ztrátám. Z těchto důvodů je tato metoda v laboratorním prostředí i v praxi často využívána (Xue, 2019). Metoda elektrostatického zvlákňování byla též využita v praktické části této bakalářské práce.



Obr. 1: schéma elektrostatického zvlákňování. (1) injekční stříkačka a dávkovač, (2) jehla/emitor, (3) stabilní část procesu, (4) nestabilní oblast procesu, (5) kolektor, (6) uzemnění, (7) zdroj vysokého napětí (Anon, 2009).

Průběh elektrostatického zvlákňování se dělí do čtyř základních kroků. První z nich je nabíjení kapky a vznik tzv. Taylorova kužele, druhý krok spočívá v prodlužování vzniklých vláken, třetím krokem je ztenčování vláken v elektrostatickém poli (někdy je též nazýván jako fáze nestability) a čtvrtý krok je tuhnutí a dopadání vláken na kolektoru (Xue, 2019).

Z fyzikálního hlediska dochází v první fázi zvlákňování k překonání dielektrické pevnosti roztoku. Dielektrická pevnost je vlastnost dielektrika vyjadřující odolnost vůči působícímu napětí. Působením napětí na dielektrikum dochází pouze k jeho polarizaci. Je-li však napětí dostatečně velké, dochází k průrazu a materiál se stává vodivým. Dielektrická pevnost ( $E_p$ ) se vypočítá pomocí vztahu

$$E_p = \frac{U_p}{l} \quad (1)$$

kde  $U_p$  je průrazné (též kritické) napětí a  $l$  tloušťka materiálu. Dielektrická pevnost se udává v jednotkách V/m. Překonáním dielektrické pevnosti a povrchového napětí dochází k deformaci kapky do kuželovitého tvaru (se základnou u hrotu jehly), který se nazývá Taylorův kužel (Xue, 2019).

Z vrcholu Taylorova kužele vzniká elektricky nabitě vlákno, které je formováno a urychlováno elektrickým polem směrem k uzemněnému kolektoru. Vlákno ze začátku letí po rovné trajektorii. Během pohybu však proti zrychlení působí povrchové napětí a viskozita vznikajícího vlákna, tudíž ve větší vzdálenosti od hrotu jehly dochází ke zpomalování. S klesajícím zrychlením narůstá riziko narušení přímočarého pohybu. Přímocharý pohyb je nejčastěji narušen reziduálním napětím na povrchu vlákna. Ve třetí fázi již dojde k tak výraznému zpomalení, že se vlákno začne pohybovat nepřímochaře. Tomuto jevu se říká bičující nestabilita. Vlivem nepřímocharého pohybu dochází k výraznému ztenčování a prodlužování vlákna, zároveň je ale vlákno v této fázi nejnáchylnější k porušení, či dokonce zániku. Fáze bičující nestability je tedy pro docílení správného rozměru nanovláken klíčová. Délku samotného vlákna lze ovlivnit i napětím. Na zvlákňovaný roztok působí intenzita elektrického pole  $E$  dána vztahem

$$E = \frac{U}{l} \quad (2)$$

kde  $U$  je působící napětí a  $l$  je vzdálenost elektrod. Intenzita elektrického pole se uvádí v jednotkách V/m. Při prodlužování vlákna se jeho horní část vlivem elektrického pole přibližuje ke kolektoru. Dochází tedy ke snižování vzdálenosti mezi nabitým vláknem, jehož potenciál je dán napětím zdroje, a uzemněným kolektorem. Intenzita elektrického pole narůstá. Pokud tato hodnota překoná určitou mez, dojde k ionizaci vzduchu a následnému výboji mezi vláknem a kolektorem. Vlákno se vlivem výboje odtrhne od zbytku roztoku, dojde k vyrovnání potenciálů a vlákno ke kolektoru doputuje setrvačností (Richter, 2023).

Odtržením vlákna končí třetí fáze, a začíná fáze čtvrtá, která je poslední. Během čtvrté fáze na kolektor dopadají již hotová vlákna (Xue, 2019).

Parametry výsledného nanovláknenného materiálu lze ovlivnit několika způsoby. Obecně platí, že lépe zvláknitelné jsou roztoky s větší viskozitou. Vzdáleností elektrod lze částečně ovlivnit délku fáze bičující nestability, čímž lze vyrobit tenčí vlákna, ale zároveň roste riziko porušení a rozpadu vznikajících vláken. Dalšími ovlivnitelnými parametry zvlákňování jsou velikost napětí a rychlost průtoku (dávkování) (Xue, 2019).

## 2.2 Žádoucí vlastnosti nanovláknenných nosičů

Aby mohl být vyrobený nanovláknenný materiál využit jako nosič, musí vykazovat určité vlastnosti. Cílem je vytvořit nosiče, které podporují přirozené chování buněk, jako je množení a regenerace. Nosiče by tedy pro buňky měly vytvořit co nejvíce přirozené prostředí (Chocholata, 2019).

Jedna z nejdůležitějších vlastností nosiče je jeho struktura. Tvar samotného scaffoldu musí odpovídat tvaru nahrazované části tkáně či orgánu. Nosič musí mít dostatečný měrný povrch, aby mohl být osídlen potřebným množstvím buněk. Jeho povrch musí být takový, aby se na něm buňky byly schopny udržet. Nosič musí mít vysokou pórovitost, velikost jednotlivých pórů musí být tak velká, aby buňkám umožňovala buněčný růst, transport plynů a vyživujících látek, proliferaci (rozmnožování) a odstraňování odpadních látek. Zároveň musí umožňovat migraci. Pokud by však póry byly rozměrově větší než průměr buněk, nebyly by pro osídlení vhodné, protože by jimi buňky propadly a na nosiči by se neudržely (Chocholata, 2019).

Další důležitá vlastnost scaffoldu je jeho samotná biodegradabilita. Materiál se v těle vstřebává kontrolovanou rychlostí, která je přibližně stejná, jako je rychlost regenerace poškozené tkáně. Po regeneraci tkáně scaffold splnil svou funkci a v těle již jeho přítomnost není žádoucí (Anděrová, 2013).

### 2.2.1 Biokompatibilita

Splnění podmínek biokompatibility je základní kritérium pro výrobu scaffoldů. Její přesná definice je z obecného hlediska těžko určitelná, vždy závisí na konkrétní aplikaci. Ideální biokompatibilní materiál, který je určen k implantaci do lidského těla, je takový, který je obecně tělem dobře snášen, což znamená, že nevyvolává žádné alergické, infekční, zánětové či karcinogenní reakce, nevolňuje pro tělo toxické látky a neovlivňuje biologické procesy v organismu (Vokurka, 2015). V praxi se mírné odchylky tolerují, nesmí však ohrozit zdraví pacienta. Biokompatibilita závisí především na použitém materiálu. Pokud by biokompatibilita nebyla dosažena, materiál se pro medicínské aplikace použít nesmí (Anděrová, 2013).

Jedním ze základních kritérií biokompatibility je cytotoxicita, tzn. jestli materiál nepůsobí toxicky na buňky. To se testuje buď na laboratorních myších, nebo *in vitro* na lidských buňkách. Buňky mohou být materiálu vystaveny buď přímo, nebo nepřímo. Po

určité době jsou buňky podrobeny mikroskopickému zkoumání. Sleduje se změna velikosti a vzhledu buňky a buněčných organel, případně změna seskupení. Test je nenákladný, rychlý a poměrně spolehlivě odhalí, jestli materiál obsahuje toxické látky (Sochová, 2017).

### **2.2.2 Mechanické vlastnosti**

Mechanické vlastnosti odrážejí chování materiálů při působení vnějších mechanických sil. Mechanické i materiálové vlastnosti scaffoldů by v ideálním případě měly být totožné s nahrazovanou tkání. V praktickém případě musí vydržet i chirurgickou manipulaci. Jinými slovy musí být scaffold schopen vydržet mechanické namáhání, které ponese nově vzniklá tkáň. Mezi základní posuzované mechanické vlastnosti patří pružnost a pevnost, případně hodnoty mez kluzu a mez pevnosti (Anděrová, 2013) (Kratochvíl, 2005).

V případě tkání je dodržení výše zmíněných parametrů poměrně náročné. Lišit se mohou u jednotlivých pacientů i v případě stejných anatomických celků. Příkladem může být pohybová soustava, kde na mechanické vlastnosti svalů, šlach a kostí může mít vliv i trénovanost jedince a množství zátěže, na který je daný člověk zvyklý. Cílem je tedy dodržet alespoň základní mechanické vlastnosti, které jsou pro danou tkáň nejdůležitější. Příkladem může být kost, která musí vydržet velké množství mechanického namáhání, při výrobě scaffoldů se tudíž dává velký důraz na pevnost (Anděrová, 2013).

## **2.3 Příklady využití nanovláknenných materiálů v bioinženýrství**

### **2.3.1 Hojení kožních ran**

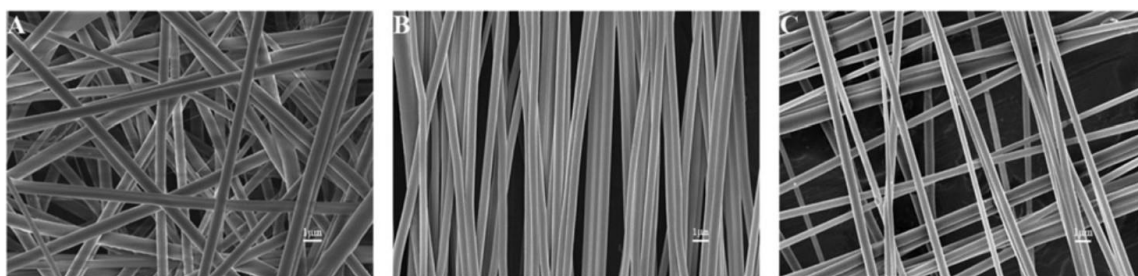
Kůže je největší orgán lidského těla. Tvoří ji dvě vrstvy, epidermis (převážně keratin) a dermis neboli škára (vazivová vrstva). Její hlavní funkce je izolace vůči okolnímu prostředí, dále termoregulace, smyslové citění a látková výměna. Ke vzniku kožní rány dochází typicky následkem traumatu. Menší rány se obvykle zhojí samy přirozeným reparačním mechanismem těla. Tento mechanismus sestává ze čtyř fází, kterými jsou fáze hemostatická, zánětlivá, fáze migrace nebo proliferace buněk a poslední fáze zhojení. Nejdůležitější buňky v procesu hojení jsou fibroblasty, které v místě rány ukládají nový kolagen a urychlují proces hojení. Dále se jedná o keratinocyty, které tvoří samotnou svrchní vrstvu kůže. Během reparace zároveň dochází k adekvátní reakci imunitního systému. V případě vážnějších kožních poranění (příkladem mohou být



rozsáhlé popáleniny, hluboké řezné rány, pooperační rány, rány po odstranění kožních patologických útvarů či chronické diabetické rány) je již potřeba ošetření pomocí speciálních zdravotnických prostředků, které podporují migraci a proliferaci regeneračních buněk čili urychlují a zefektivňují druhou fázi regeneračního procesu těla (Xue, 2019).

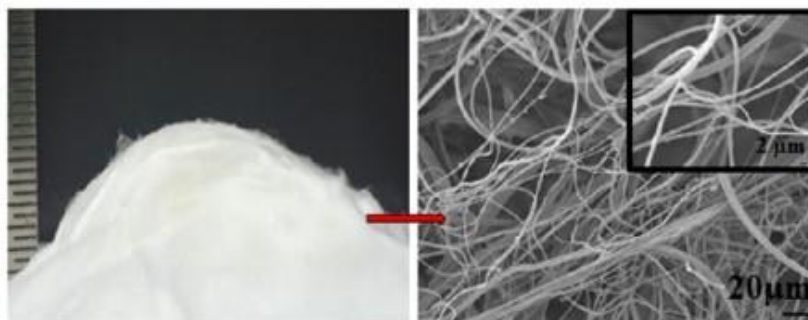
V minulosti se k hojení vážnějších typů ran používala netkaná textilie COM, která urychluje hojení rány a následnou epitelizaci. Nevýhodou je, že pod dočasným krytím již docházelo k zahájení procesu hojení rány, který byl poté narušen při snímání textilie. V dnešní době se již k takovým účelům využívají nanovláknenné materiály na základě polykaprolaktonu. Nanovláknenná struktura na bázi polykaprolaktonu má oproti netkaným textiliím celou řadu výhod. Je velice podobná hlubší vrstvě kůže, což z ní dělá ideální základnu pro regeneraci a reparaci kůže. Vzhledem ke svým charakteristickým rozměrům přilnou nanovláknena k ráně daleko lépe. Při přiložení nanovláknenného materiálu nedochází k úplnému zakrytí rány, což spolu s jeho velikou pórovitostí zajišťuje dostatečný přístup kyslíku k ráně. Nanovláknenná vrstva slouží též jako antibakteriální bariéra, buňky o velikosti bakterií jejím povrchem projdou jen velmi těžko. Do nanovláknenné struktury lze přidat různé biologicky aktivní příměsi, v případě hojení ran jde o trombocyty. Pro hojení ran se rovněž využívají nanovláknena na základě keratinu (Krchová, 2014).

V současné době se ukazuje, že vliv na rychlejší hojení má i struktura a rozložení nanovláken. K léčbě ran se standardně využívají nanovláknenné materiály s náhodně uspořádanými vlákny (Xue, 2019). Studie z roku 2018 však poukazuje na lepší výsledky hojení lidské kůže *in vitro* při použití nanovláken na základě keratinu, která byla paralelně orientovaná, případně pravidelně uspořádána, podobně jako pruty při pletení košíku (viz obr. č. 2) (Sun, 2018).



Obr. č. 2: Porovnání uspořádání nanovláken. (A) náhodně uspořádaná vlákna, (B) paralelně orientovaná vlákna, (C) pravidelně orientovaná vlákna přirovnávaná k prutům při pletení košíku (Anon, 2018).

Studie z roku 2017 zkoumala nanomateriál na základě polykaprolaktonu a chitosanu. Jejich struktura byla načechraná, podobná vlně. *In vitro* materiál opět prokazoval lepší hojivé účinky, než tomu bylo u náhodně orientovaných vláken (viz obr. č. 3) (Pal, 2017).



Obr. č. 3: Načechraná struktura nanomateriálu. Vlevo makroskopický snímek, vpravo SEM snímek (Anon, 2017).

### 2.3.2 Kostní náhrady

Kostra je systém kostí, který slouží jako pevná opora lidského těla. Upínají se na ní svaly a tvoří ochranná pouzdra pro některé vitálně důležité orgány. V kostech dochází ke krvetvorbě a ukládání minerálních látek, jako je fosfor a vápník (Hudák, 2013).

Velkou výhodou kostní tkáně je její vysoká schopnost regenerace a remodelace. Kostní tkáň v těle přirozeně zaniká a poté se opět obnovuje, aby nedocházelo k jejímu stárnutí, tudíž ke zhoršení mechanických vlastností. Díky tomuto přirozenému procesu se v drtivé většině případů k léčbě traumatu kostí využívá léčba repozicí a následnou imobilizací. Imobilizace lze dosáhnout konzervativně neboli fixací sádkou, u vážnějších případů se volí operační léčba. Znehybněná kost poté během určitého časového období sroste sama. Snahou kostního tkáňového inženýrství je proto spíše podpora tohoto přirozeného procesu pomocí scaffoldů, které ho urychlují a zefektivňují například zvýšením adheze, proliferace a dělení buněk. Součástí výzkumu kostního tkáňového inženýrství je i snaha o reparaci zubní tkáně (Chocholata, 2019).

V případě vážnějších poranění kostí se volí léčba pomocí štěpů, ať už vlastních nebo cizích. Tento způsob s sebou však přináší spoustu nevýhod, jako je riziko infekce, nekrózy či neadekvátní imunitní reakce. Alternativou, která tato rizika výrazně snižuje, mohou být právě scaffoldy. U scaffoldů pro kostní tkáňové inženýrství se klade vysoký důraz na odpovídající mechanické vlastnosti, jako je vysoká pevnost v tahu a tlaku.

Důležitou vlastností je též osteokonduktivita neboli schopnost chovat se jako předloha pro růst nové kosti. Doba jeho biodegradability musí odpovídat době regenerace tkáně (Chocholata, 2019).

Pro dosažení optimálních mechanických vlastností se pro výrobu kostních scaffoldů využívají nanovlákná vyrobené z polymerů, jako jsou polykaprolakton, kolagen či chitosan, obohacena o různé příměsi, jako jsou například biologicky aktivní keramika či sklo. Přidané příměsi zajistí požadovanou pevnost (Mackurová, 2019).

### 2.3.3 Náhrady srdeční svaloviny

Srdce je dutý svalový orgán uložený uprostřed hrudníku mezi plícemi. Jeho hrot směřuje doleva. Funguje jako krevní pumpa, svými stahy zajišťuje cirkulaci krve. Správné fungování krevního oběhu je klíčové pro okysličování veškerých tkání v lidském těle. Je tvořeno třemi vrstvami. Zevně je kryto perikardem, uprostřed je vrstva myokardu, která vykonává srdeční stahy. Uvnitř je srdce vystláno endokardem (Hudák, 2013).

Infarkt myokardu je v moderní době jedno z nejčastějších onemocnění. Vzniká ucpáním jedné z koronárních tepen, následkem čehož dojde k přerušení okysličování myokardu. Tkáň tím pádem není dostatečně vyživována a v poměrně krátkém časovém úseku dochází k jejímu postupnému odumírání. Velikost postižené plochy se odvíjí od místa ucpání tepny. Myokard postrádá schopnost regenerace, nedojde tudíž k obnově jeho funkce. Pokud by byla plocha odumřelé tkáně příliš velká, mohlo by následkem infarktu myokardu dojít k rozvoji srdeční nedostatečnosti (Xue, 2019).

V budoucnu by k léčbě signifikantně postižené srdeční svaloviny mohlo přispět tkáňové inženýrství. Snahou tkáňového inženýrství je vytvořit anatomicky i fyziologicky ekvivalentní náhradu srdeční svaloviny, což je velmi obtížné vzhledem ke specifické struktuře myokardu. K dosažení požadovaných mechanických vlastností se k výrobě scaffoldu využívají různé směsi organických a syntetických vláken, dále pak pravidelně orientovaná vlákna polykaprolaktonu. Dle studie z roku 2019 dosahovala z hlediska životaschopnosti buněk *in vitro* nejlepší výsledky 3D struktura připomínající včelí plástev. Scaffold byl poté testován *in vivo* implantací do srdce krysa. Po patnácti dnech od implantace si srdce zachovávalo vlastní rytmus, který je velice podobný průměrnému srdečnímu rytmu stejně starých zdravých jedinců (Xue, 2019).

Studie z roku 2020 zkoumala scaffoldy na základě kolagenu prvního typu s příměsí elektricky vodivých uhlíkových nanovláken. Scaffold byl zkoumán *in vivo* na laboratorních krysách implantací na myokard postižený infarktem. Po čtyřech týdnech byl proveden histologický výzkum, který jasně prokázal vznik nových kardiomyocytů. Mechanická struktura scaffoldu výrazně napomohla k regeneraci a vzniku nové srdeční svaloviny. Oproti neléčenému myokardu došlo k výraznému snížení plochy vazivové jizvy, kterou se hojí postižený myokard. Zároveň docházelo k angiogenezi, a tím i dostatečnému okysličení nově vznikající tkáně. V místě aplikace nebyla prokázána zvýšená úmrtnost buněk. Testy na přítomnost toxických látek vyšly negativní (Tashakori, 2020).

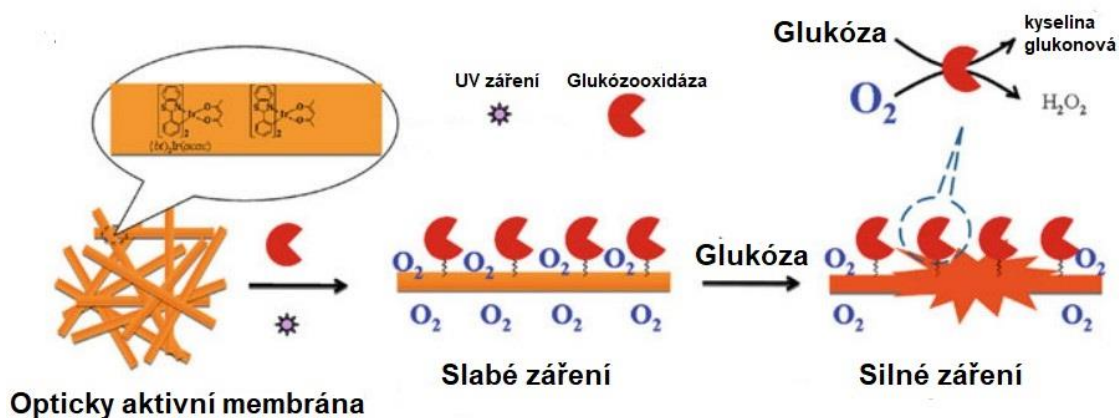
### 2.3.4 Biosenzorika

Biosenzor je biologický materiál, který zároveň obsahuje složku s fyzikálním detektorem. Principem je převod jednoho signálu na jiný, uživatelsky přívětivější signál. Biosenzory nejčastěji pracují na optickém, elektrochemickém či piezoelektrickém principu. Použitím biosenzorů lze detekovat širokou škálu informací, počínaje drobnými elektrickými impulsy, menšími molekulami až po jednotlivé typy buněk (Liao, 2013).

Nanovláknenné materiály se staly předmětem výzkumu pro jejich již mnohokrát zmiňovaný vysoký měrný povrch. V oblasti biosenzoriky je důležité docílit co nejvíce interakcí s povrchem materiálu, což je vysokým měrným povrchem umožněno. (Macagnano, 2015) Zvýšením vystaveného povrchu lze docílit vyšší citlivosti biosenzorů, což potvrzuje výzkum již z roku 2002, který zkoumal opticky aktivní nanovláknenné materiály pro detekci nitrovaných aromatických látek a těžkých kovů. Nanovláknenné biosenzory nejčastěji fungují na optickém principu (Wang, 2002).

Fluorescence je nejjednodušší způsob, na kterém pracují biosenzory. Tento způsob má řadu výhod, kterými jsou například rychlé vyhodnocení výsledků, odolnost signálu vůči elektromagnetické interferenci a potenciálně i vyšší množství zpracovaných informací. Fluorescentní nanomateriály vznikají buď dopováním průhledných látek pomocí některých luminiscenčních prvků (tzn. prvků, které vyzařují spontánně), nebo přímo zvlákněním některých konjugovaných polymerů, které jsou přirozeně fluorescentní. Příkladem prvního způsobu může být nanovláknenný materiál ze studie z roku 2013. Vědci připravili náhodně orientovaná nanovláknena polystyrenu, která byla za přítomnosti ultrafialového záření dopována glukózooxidázou, což je enzym, který za

přítomnosti kyslíku katalyzuje oxidaci glukózy. Do tohoto materiálu byla přidána luminiscenční komplexní sloučenina s obsahem iridia. Jeho světelné vyzařování je za normálních okolností pohlcováno kyslíkem. Přidáním glukózy dojde k iniciaci její oxidace, což sníží obsah kyslíku, tudíž ke snížení pohlcování vyzářeného světla (viz obr. č. 4). Tato metoda je velmi přesná, doba její odezvy je zhruba jedna sekunda. Intenzita záření je závislá na koncentraci glukózy (Macagnano, 2015) (Zhou, 2013).



Obr. č 4: Schéma detektoru glukózy založeného na polystyrenových nanovláčkách (Anon, 2013)

Kolorimetrie je další metoda, která se v oblasti biosenzoriky využívá. Jedná se o metodu stanovení koncentrace roztoku dle intenzity jeho zbarvení. Zbarvení roztoku lze porovnat se standardizovanými roztoky o známé koncentraci. Příkladem této metody v oblasti biosenzoriky může být detekce peroxidu vodíku. Peroxid vodíku je přirozeně se vyskytující látka v lidském organismu, vzniká např. enzymatickou reakcí glukózy (viz obrázek 4) nebo cholesterolu. Zároveň hraje roli v regulaci určitých fyziologických procesů, jako je buněčná či tkáňová regenerace, buněčný růst, proliferace a migrace. Vyšší koncentrace peroxidu vodíku ovšem mohou zapříčinit poškození stavebních materiálů buněk, což může zapříčinit jejich odumírání. Odumření velkého množství buněk může zapříčinit vznik rakoviny, diabetu nebo Parkinsonovy choroby. Z tohoto důvodu může být v budoucnu stanovení koncentrace peroxidu vodíku důležitým parametrem v preventivní medicíně. K tomuto účelu by mohly sloužit kolorimetrické biosenzory. Jejich vyhodnocení lze provést pouhým okem, výsledky jsou rychlé a spolehlivé. Příkladem takového biosenzoru může být nanovláčková membrána vyrobená z polysulfonu s přidáním zlatými nanočásticemi. Reakcí s roztokem peroxidu vodíku



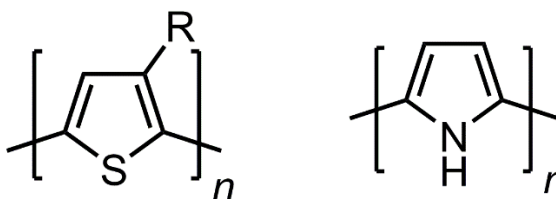
mění materiál barvu od červené k modré, přičemž zbarvení závisí na koncentraci peroxidu vodíku (Senthamizan, 2019).

## 2.4 Polyacetylen

Polyacetylen je organický polymer. Za jeho objev získal roku 2000 japonský vědec Hideki Shirakawa Nobelovu cenu za chemii. Sám o sobě nemá pro jeho nestabilitu praktické využití, ale stal se předmětem výzkumu zejména pro jeho elektrickou vodivost, což je pro výzkum zajímavá vlastnost. Strukturálně se jedná o lineární konjugovaný polymer. V jeho řetězci se pravidelně střídají dvojná a jednoduchá vazby (viz obr. č. 5), což ve výsledku vede k delokalizaci valenčních elektronů, které se po řetězci mohou volně pohybovat, díky čemuž má takovýto řetězec charakteristiku polovodiče. Vodíkové atomy na jeho řetězci lze substituovat jinými atomy nebo molekulami, čímž lze docílit větší stability výsledného polymeru. Substituované polyacetyleny vykazují zajímavé vlastnosti, jako je již zmíněná světelná vodivost, optická aktivita, luminiscence, světelná emise či biokompatibilita. Motiv konjugovaného řetězce polyacetyleny dal vzniknout celé řadě dalších konjugovaných polymerů jako polythiofen či polypyrrol (viz obr. č. 6). Konjugovaný řetězec mají i některé druhy tekutých krystalů (Masuda, 2016). Látka s motivem konjugovaného polyacetylenového řetězce bude též využita v experimentální části této bakalářské práce.



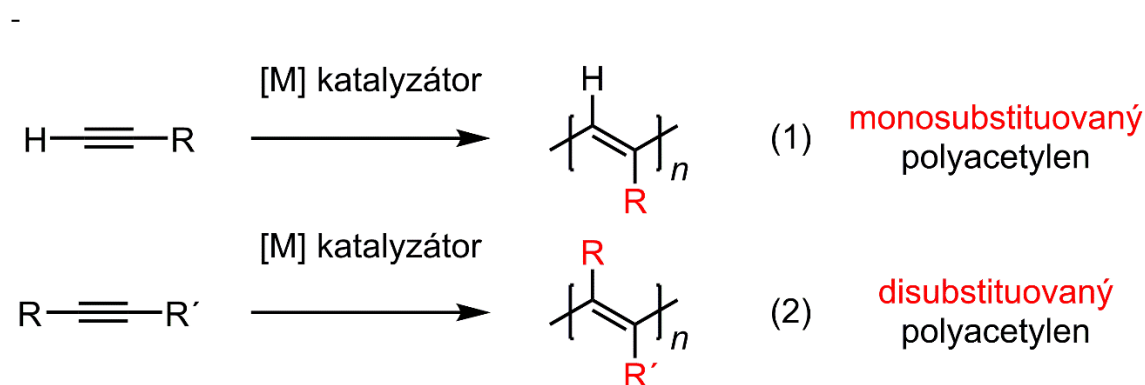
Obr. č. 5: Struktura konjugovaného řetězce polyacetyleny a jeho dva základní izomery (Anon, 2006).



Obr. č. 6: Příklady látek s konjugovaným řetězcem polyacetylenového typu: vlevo poly(3-alkylthiofen), vpravo polypyrrol

### 2.4.1 Příprava

Čistý polyacetylen se vyrábí polymerizací acetylenu (ethynu) za přítomnosti Ziegler-Nattova katalyzátoru (Masuda, 2016). Výsledkem této reakce je velmi nestabilní černý prášek, který nelze dále zpracovat. Proto se funkční polyacetyleny vyrábí již z acetylenu se substitucí, a to rovněž polymerací za přítomnosti různých katalyzátorů (viz obr. č. 7) (Masuda, 2016). Jako katalyzátor se často využívá rhodium, které dobře funguje u acetylenu s jednou substitucí. V případě acetylenu se dvěma substitucemi, případně jiných složitějších látek je výběr katalyzátoru složitější, pro jednotlivé sloučeniny je většinou nutné použít jiný druh katalyzátoru (Masuda, 2016)

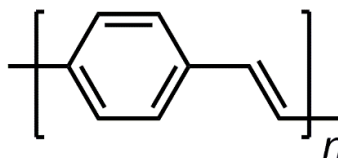


Obr. č. 7: Zjednodušené schéma přípravy substituovaných polyacetylenů

### 2.4.2 Příklady využití funkčních látek na s motivem polyacetylenového řetězce

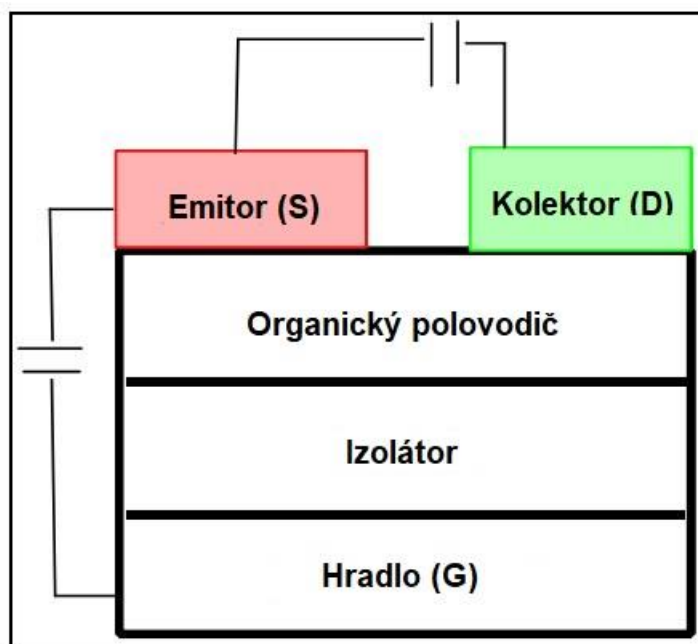
Konjugované polymery mají potenciál uplatnit se v široké škále odvětví díky jejich již zmiňovaným vlastnostem, jako je charakteristika polovodiče konjugovaného řetězce, optická vodivost, dále chemická a tepelná stabilita. V elektrotechnice se těchto vlastností využívá při vývoji světelných diod. Příkladem může být technologie OLED (z anglického organic light-emitting diodes), která je již díky jejich jednoduché, rychlé a levné výrobě komercializována, ale stále je zde prostor pro vývoj a zlepšování technologie. OLED diody fungují na principu řízené elektroluminiscence. Několik vrstev organických vyzařujících a vodivých vrstev jsou naskládány mezi průhlednou anodu a katodu. Dané vrstvy přenášejí a vypuzují díry a kladné náboje, dále je zde přítomna vrstva přenášející elektrony a vyzařující vrstva. Jakmile je do některého místa přivedeno napětí, dojde k vybuzení kladných a záporných nábojů, které se spojí ve vyzařovací vrstvě, čímž dojde k vyzáření viditelného světla. Světlo má dostatečnou intenzitu, protože se drtivá většina nábojů setká právě ve vyzařovací vrstvě. Tato technologie využívá nejčastěji

polymery s lineárním konjugovaným řetězcem, příkladem může být látka poly(p-fenylen vinylen) (viz obr. č. 8) (Al-Azzawi, 2023).



Obr. č. 8: Geometrický vzorec polyfenylen-vinylenu

Dalším příkladem využití jsou organické polem řízené tranzistory (OFET, z anglického organic field-effect transistor). Jde o tranzistor, který jako polovodič využívá organickou látku. Organické polovodiče by mohly v budoucnu nahradit křemík, ze kterého se polovodičové prvky běžně vyrábí, díky jejich nízké ceně, flexibilitě a jednoduchém zpracování. Polem řízený tranzistor je aktivní prvek, který umožňuje řídit procházející proud pomocí elektrického napětí. Je tvořen polovodičovým kanálem, jehož odpor závisí na elektrickém poli, které působí kolmo na proud. Polem řízený tranzistor má tři elektrody, kterými jsou kolektor, emitor a hradlo. Polovodičová vrstva spojuje kolektor a emitor. Přivedením napětí na hradlo dojde ke snížení elektrického odporu polovodičové vrstvy a tím i umožní průchod elektrického proudu (viz obr. č. 9).



Obr. č. 9: Schéma polem řízeného tranzistoru (Anon, 2023)

K výrobě polem řízených tranzistorů se nejčastěji využívají organické polovodiče, které mají strukturu několika spojených benzenových jader, aby byla docílena co největší pohyblivost nosičů náboje (Al-Azzawi, 2023).

### 2.4.3 Helikální chiralita

Helikálně chirální látky s motivem polyacetylenového řetězcem byly použity ve výzkumné části této bakalářské práce, proto jim je věnována samostatná kapitola.

Chiralita obecně je vlastnost prostorového rozložení molekuly. Chirální molekuly jsou takové, jejichž obraz a zrcadlový obraz se vzájemně liší, nemohou se tedy vzájemně překrýt. Často se tato vlastnost přirovnává k pravé a levé ruce. Takové látky, které se liší pouze optickým uspořádáním molekul, se nazývají optické izomery. Často mají optické izomery jiné chemické vlastnosti. Jedním z nejznámějších příkladů z historie je sloučenina thalidomid, prodávána na přelomu 50. a 60. let pod obchodním názvem Contergan jako lék na ranní nevolnosti v těhotenství. Optický izomer této látky má teratogenní účinky, což se ovšem v té době nevědělo. Důsledkem tohoto omylu se narodilo přes 12000 tělesně postižených dětí (McMurry, 2015).

Helikálně chirální látky mají prostorové uspořádání molekuly přirovnávané ke šroubovici (viz obr. č. 10). Ve vzorci se tato vlastnost označuje písmeny M a P, přičemž písmeno M značí, že se molekula stáčí doleva (proti směru hodinových ručiček), písmeno P značí opačnou situaci (molekula se stáčí doprava, po směru hodinových ručiček) (McMurry, 2015).



Obr. č. 10: Příklad helikální chiralita (Anon, 2016).

### 2.4.4 Konjugované látky s motivem polyacetylenového řetězce a electrospinning

Elektrostatické zvlákňování konjugovaných látek s motivem polyacetylenového řetězce je v literatuře v podstatě neznámou otázkou. Mohou za to především jeho pro elektrostatické zvlákňování nežádoucí vlastnosti, jako je obtížná rozpustnost. Jak už bylo

zmíněno, polyacetylenový řetězec má konjugovanou strukturu, což znamená, že se na řetězci pravidelně střídají jednoduché a dvojně vazby. Tato vlastnost je zásadní pro jeho elektrickou vodivost, nicméně vede zároveň k rigiditě molekuly. Na rozdíl například od polyethylenu, který má v řetězci pouze jednoduché vazby a jeho molekula připomíná náhodně orientované klubko, vazby polyacetylenu mají v řetězci velmi omezenou pohyblivost, což má za následek, že tvar jeho molekuly je spíše podlouhlý (rigidní), připomíná tenkou neohebnou tyč. Z tohoto důvodu je při přípravě roztoku pro následné zvlákňování nutné přidat další látku, která výrobu nanovláken podpoří (Masuda, 2016). Metoda elektrostatického zvlákňování je relativně levná, jednoduchá a dochází při ní k minimálním ztrátám materiálu. Nalezením vhodných podmínek pro elektrostatické zvlákňování roztoku látky s řetězcem polyacetylenového typu (a tím zkombinovat unikátní výše popsané vlastnosti konjugovaného řetězce a nanovláken) by mohlo poskytnout funkční nanovláčennou vrstvu s aplikačním potenciálem v oblasti biomedicíny, což je jedním z cílů této bakalářské práce.

## 3 Praktická část

### 3.1 Cíle a výzkumné předpoklady/otázky

Tato bakalářská práce má čtyři hlavní cíle, a to

1. Popsat důležité vlastnosti biokompatibilních nanovláknenných materiálů.
2. Nalézt vhodné podmínky pro přípravu biokompatibilní nanovláknenné vrstvy z helikálně chirálního polymeru polyacetylenového typu metodou elektrostatického zvlákňování a následně vrstvu připravit.
3. Charakterizovat morfologii a vlastnosti připravené nanovláknenné vrstvy.
4. Dle vlastností navrhnout případný aplikační potenciál nově vzniklého materiálu v oblasti biomedicíny či tkáňového inženýrství.

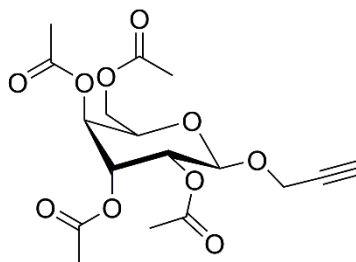
přičemž první část se týká teoretické části práce. Zbylé tři části jsou výzkumnou otázkou praktické části.

Jak již bylo zmíněno, elektrostatické zvlákňování látek s motivem polyacetylenového řetězce je téměř neznámou otázkou v důsledku nežádoucích vlastností těchto látek, jako je špatná rozpustnost a rigidita. Nalezení vhodných podmínek pro elektrostatické zvlákňování takové látky by mohlo poskytnout funkční vrstvu, která v sobě kombinuje žádoucí vlastnosti nanovláken a organického polovodivého materiálu. Tento materiál by poté mohl nalézt uplatnění v oblasti biomedicíny.

### 3.2 Metody

V první experimentální části bylo cílem nalezení vhodných podmínek pro vytvoření nanovláknenné vrstvy změnami parametrů zvlákňovaných roztoků. U jednotlivých roztoků byla měněna hmotnostní koncentrace (tudíž viskozita) a přidávána různá aditiva a následně bylo sledováno, zda lze roztok zvláknit. Konkrétní příklady budou dále rozebrány. Obecně se vždy navázilo příslušné množství chirálního polymeru odvozeného od monomeru 2-propynyl-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosidu (viz obr. č. 11), případně bylo přidáno příslušné množství aditiva, což se následně rozpustilo ve stanoveném množství dichlormethanu. Takto připravený roztok byl tři hodiny ponechán míchat, což poskytlo roztok pro elektrostatické zvlákňování. Všechny

použité látky byly v kvalitě *p.a.* (per analysis – pro analýzu). Vzhledem k poměrně vysoké ceně polymeru byly roztoky připraveny z velmi malého množství, aby bylo možné otestovat co nejvíce různých roztoků.



Obr. č. 11: Strukturní vzorec 2-propynyl-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosidu (monomer)

Polyacetylenový polymer pro elektrostatické zvlákňování byl připraven řetězovou koordinační polymerizací 2-propynyl-tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glukopyranosylu (Sedláček, 2017) v laboratoři Speciálních polymerů katedry fyzikální a makromolekulární chemie přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze.

Metodou výroby nanovlákněné vrstvy bylo elektrostatické zvlákňování, jehož obecný princip je popsán v teoretické části. Pro naše účely byla postavena aparatura, která sestávala z dvoumililitrové stříkačky s kovovou jehlou, kovové desky, dávkovače a zdroje vysokého napětí. Vysoké napětí bylo přivedeno na kovovou jehlu, kovová deska byla uzemněna. Pro všechny vzorky byly zvlákňovací podmínky stejné.

- Vzdálenost elektrod ( $d$ ) = 21 cm
- Napětí ( $U$ ) = 15 kV DC
- Relativní vlhkost vzduchu (RH) = 22 %
- Teplota ( $t$ ) = 22 °C
- Rychlost dávkování 4 ml/hod

Vláknina byla sbírána na černý papír nebo na netkanou textilii.

Snímky připravených nanovláken byly pořízeny pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (zkráceně SEM) v několika různých rozlišeních.

Infračervená spektra byla pořízena na FTIR spektrometru Nicolet iZ10 (Thermo Scientific, USA) s DTGS detektorem, technikou měření ATR se spektrálním rozlišením  $4\text{ cm}^{-1}$  a spektrálním rozsahem  $400\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$

Ramanova spektra byla pořízena na Ramanově mikroskopu DXR (Thermo Scientific, USA) s vlnovou délkou excitačního laseru 532 nm, výkonem laseru max 10 mW, mřížkou FullRange (900 vrypů/mm) a spektrálním rozsahem  $3500\text{--}50\text{ cm}^{-1}$ .

### 3.3 Analýza výzkumných dat a vyhodnocení cílů

#### 3.3.1 Příprava a vyhodnocení vláken

Připraveno bylo celkem 7 roztoků s různými vlastnostmi. Roztoky byly připravené ze dvou šarží materiálu, přičemž předpokládáme totožné vlastnosti obou šarží. Jako aditiva byly použity látky polyethylenglykol (PEG) s molekulovou hmotností ( $M_n$ ) 4000 kDa a tetrabutylamoniumiodid (TBAI). Výsledky jednotlivých experimentů jsou shrnuty v následující tabulce

Číslo experimentu	Hmotnostní koncentrace [%]	Aditivum a jeho hmotnostní koncentrace	Komentář
1	15	-	Naprašování, náznak vláken (viz obr. č. 12)
2	26	-	Příliš vysoká viskozita – gelovatění
3	15	1 % PEG	Vlákná
4	15	0,3 % PEG	Vlákná
5	10	0,4 % TBAI	Naprašování mikročástic (viz obr. č. 13)
6	20	0,4 % TBAI	Naprašování, náznak vláken
7	15	0,3 % PEG 0,6 % TBAI	Vlákná

Tab. č. 1: Shrnutí hledání podmínek pro elektrostatické zvlákňování

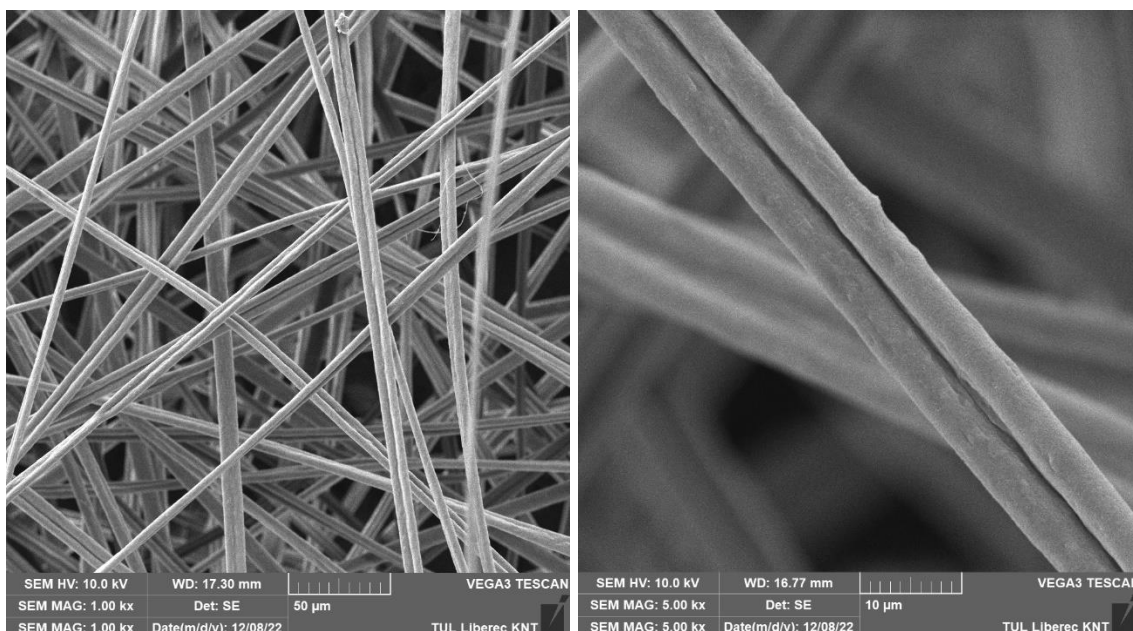
Po připravení vrstev bylo pořízeno několik snímků pomocí SEM





Obr. č. 12 a 13: příklady naprašování – vlevo náznak vláken z experimentu č. 1, vpravo mikročástice z experimentu č. 5 (zvětšení 1000x)

Ze sedmi roztoků se celkem ze tří podařilo vytvořit vlákna s průměrem v mikro, popřípadě submikro oblasti. Definici nanovláken tudíž nesplňují.

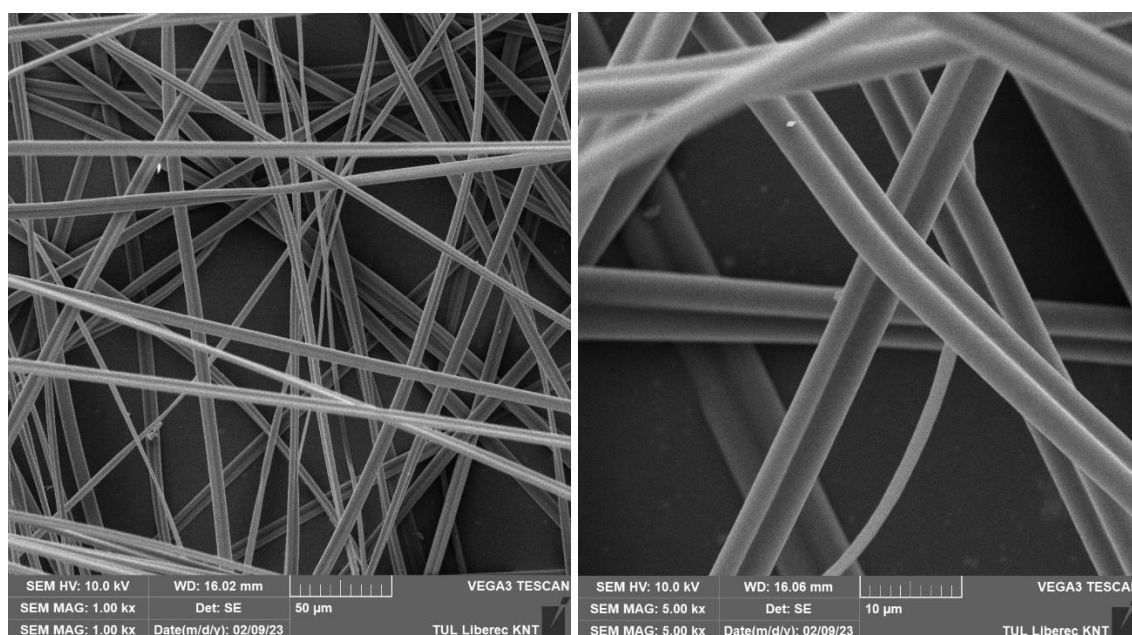


Obr. č. 14 a 15: Vlákna připravená při třetím experimentu (vlevo zvětšení 1000x, vpravo 5000x)

Vlákna ze třetího experimentu (viz obr. č 14 a 15) jsou pravidelná, bez výrazných defektů. Jejich povrch je spíše hrubší. Zajímavá je jejich struktura, vyskytují se téměř

pravidelně dvě vlákna spojená k sobě. Tento fenomén se nepodařilo objasnit, nejpravděpodobnější vysvětlení bude nejspíš kvůli nedokonalému odpařování rozpouštědla. Z hlediska využití je tento fenomén pravděpodobně nežádoucí, jelikož snižuje měrný povrch vrstvy.

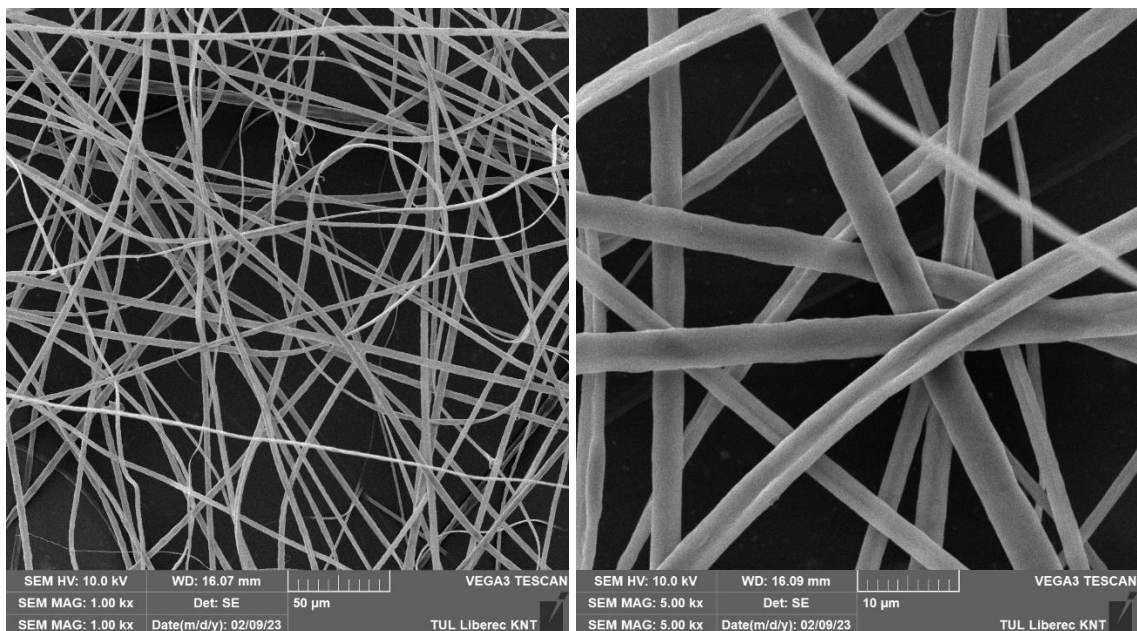
V následujícím experimentu byla snižována koncentrace aditiva PEG. Bylo zjištěno, že lze snížit jeho koncentraci na 0,3 hm.%, ale jeho přítomnost pro tvorbu vláken je nezbytná (viz experimenty č. 1 a 2, kdy se samotný polymer zvláknit nepodařilo). Hmotnostní koncentrace polymeru byla ponechána nižší, jelikož experiment č. 2 prokázal, že příliš vysoká viskozita vede ke gelovatění roztoku, který poté nelze ke zvláknování použít.



Obr. č. 16 a 17: Vlákna připravená během čtvrtého experimentu (vlevo zvětšení 1000x, vpravo 5000x)

Vlákna ze čtvrtého experimentu (viz obr. č. 16 a 17) mají v porovnání s vlákny ze třetího experimentu menší průměr a jejich povrch je hladší. Fenomén dvou vláken spojených k sobě přetrvává.

Dále bylo testováno zvláknování roztoku s aditivem TBAI, což k vláknům nevedlo. Vlákna se podařilo vytvořit pouze při sedmém experimentu z roztoku, kde byla přítomna aditiva PEG i TBAI.



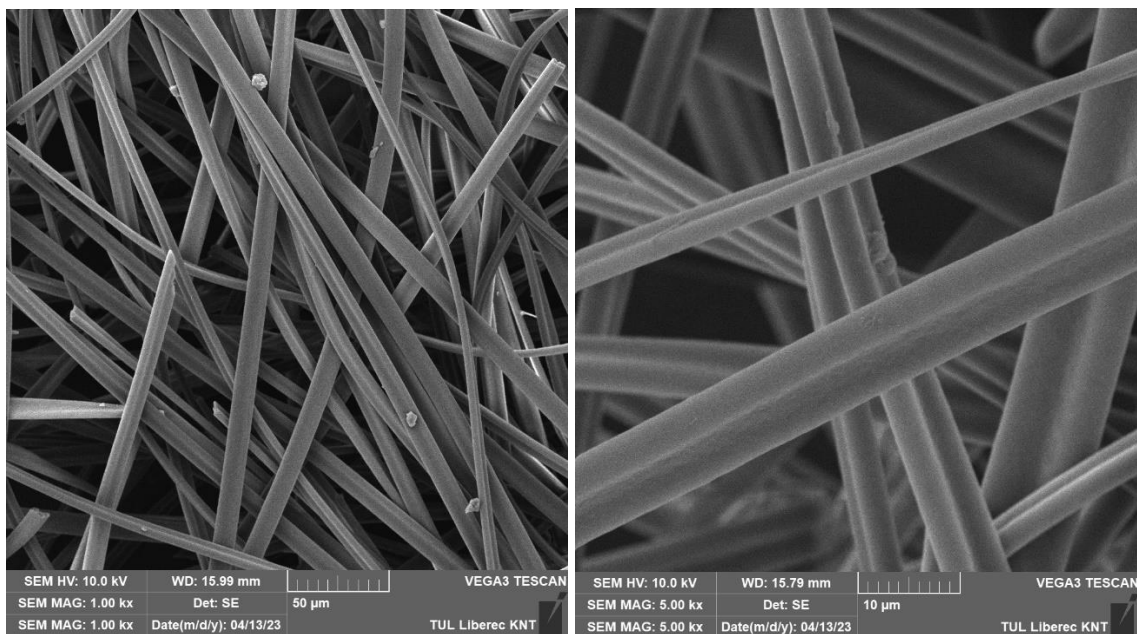
Obr. č. 18 a 19: Vlákna připravená při sedmém experimentu (vlevo zvětšení 1000x, vpravo 5000x)

Vlákna ze sedmého experimentu (viz obr. č. 18 a 19) jsou v porovnání s experimenty 3 a 4 nejméně pravidelná, jejich povrch je nejhrubší a obsahují největší množství defektů. Nicméně mají nejmenší rozměry a je u nich nejméně výrazný fenomén dvou vláken spojených k sobě (přítomen je ale stále, tudíž pravděpodobně není způsoben použitým aditivem).

Vhodné podmínky pro elektrostatické zvlákňování byly nalezeny. Pro další zkoumání byla připravena vrstva z roztoku s hmotnostní koncentrací polymeru 15 % a PEG 0,3 %.

### 3.3.2 Stabilita ve vodném prostředí

Pro následné experimenty bylo nutné provést zkoušku stability vláken ve vodném prostředí. Vzorek byl ponechán přes noc ve vodě, následně byl vysušen v exsikátoru.

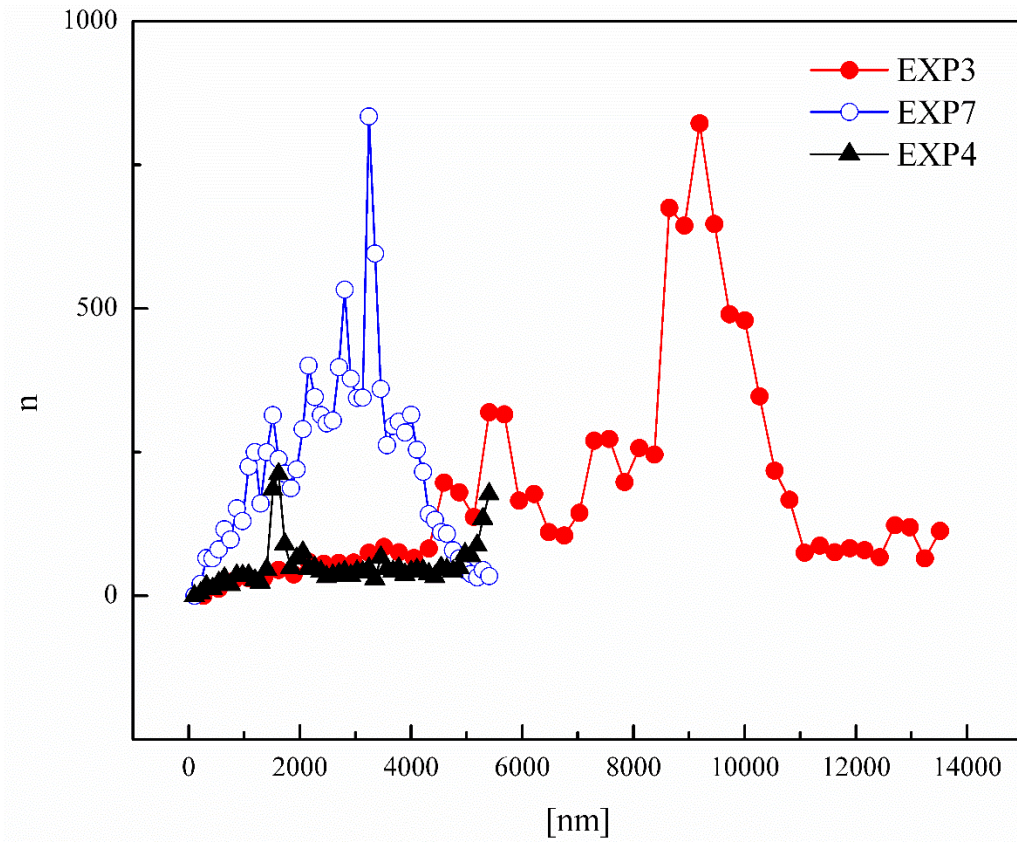


Obr. č. 20 a 21: vlákna vysušená v exsikátoru (vlevo zvětšení 1000x, vpravo 5000x)

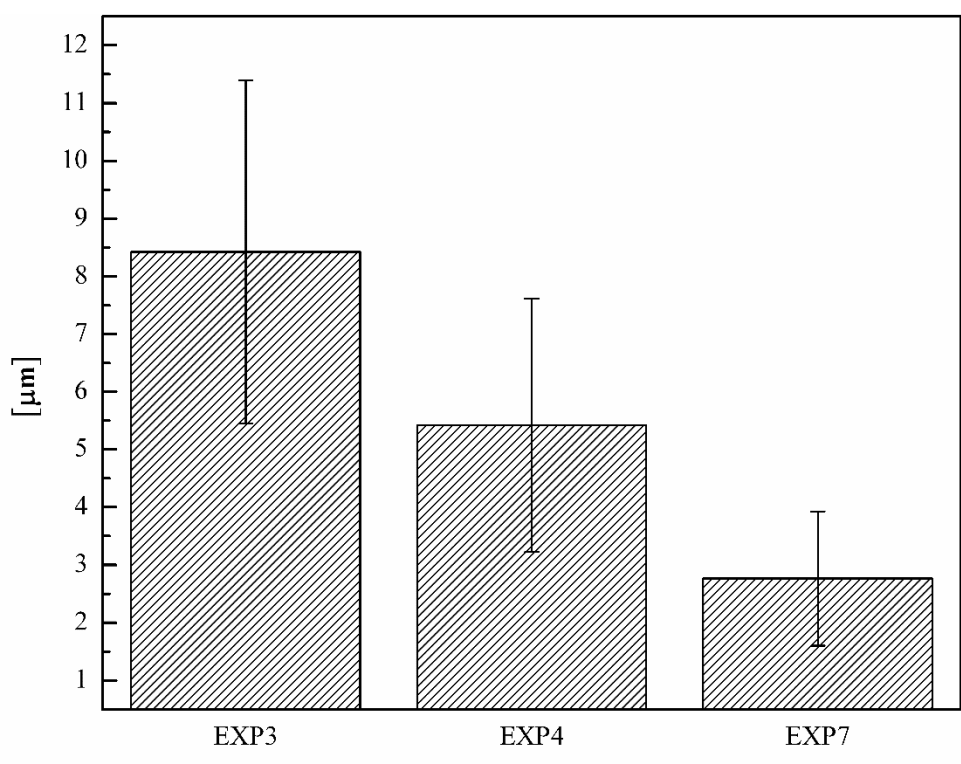
Z obrázku č. 20 je patrné, že vlákna jako taková zůstala po namočení a následném vysušení neporušená, jejich struktura je totožná s vlákny, která tímto procesem neprošla. Ze snímků je patrné i mechanické poškození vláken, které je ale s největší pravděpodobností způsobeno spíše manipulací se vzorkem.

### 3.3.3 Obrazová analýza

Vlákna z experimentů 3, 4 a 7 byla vyhodnocena obrazovou analýzou pomocí programu v prostředí Matlab. Dvě propojená vlákna byla vždy analyzována dohromady, průměr samotného vlákna je tedy dle předpokladu zhruba poloviční. Výsledky obrazové analýzy jsou graficky znázorněny distribučním diagramem (graf č. 1) a histogramem (graf č. 2). Nejširší distribuci průměrů vláken poskytl experiment č. 3 (graf č. 1). Jak již bylo očividně patrné z SEM snímků, nejmenší průměry měla vlákna z experimentu č. 7, s průměrnou hodnotou 2765 nm (graf č. 2). Experimenty č. 3 a 4 poskytly vlákna s průměrnou hodnotou průměru 8422 nm, resp. 5419 nm.



Graf. č. 1: Distribuce průměrů vláken (osa X: průměr vláken, osa Y: počet sledování)



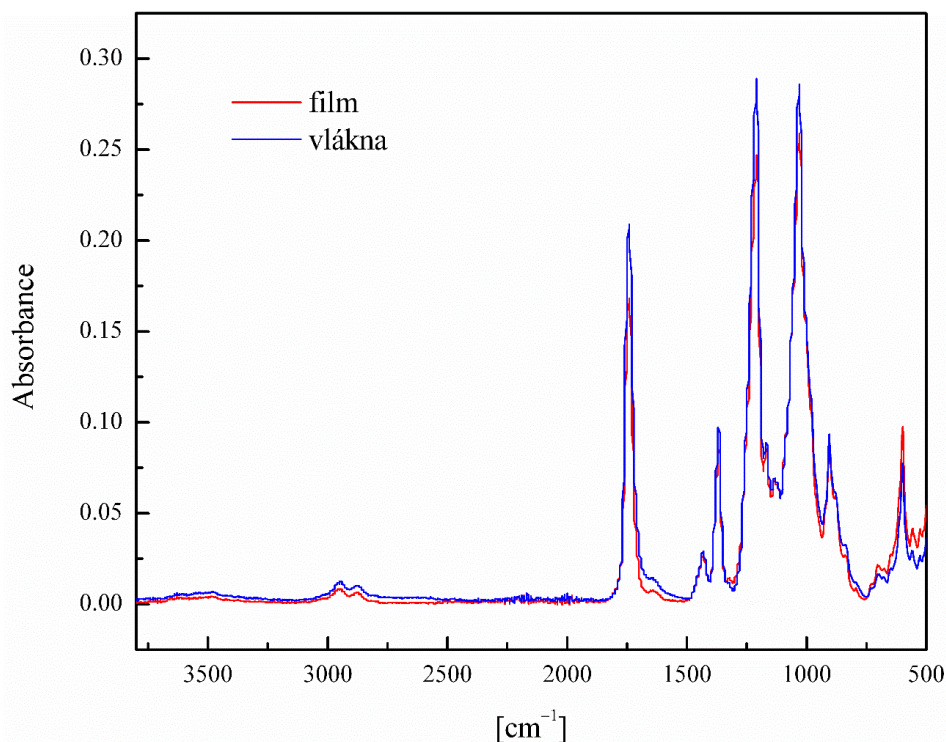
Graf č. 2: Histogram průměrů vláken (průměry na ose Y)



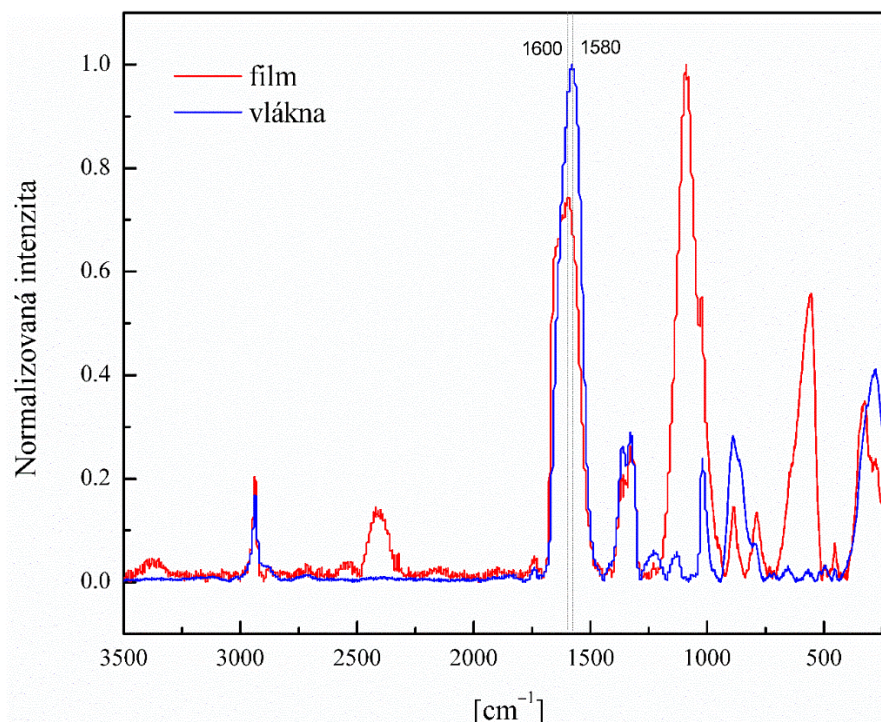
### 3.3.4 Spektrální charakteristiky

Infračervená spektra polymeru ve formě filmu a vláken (graf č. 3) jsou v zásadě totožná, s charakteristickým pásem okolo  $1750\text{ cm}^{-1}$  pro karbonylovou skupinu acetylu glukopyranosové jednotky na polymeru. Významné odlišnosti však vykazují Ramanova spektra znázorněná na grafu č. 4. Charakteristický pás pro C-C vibraci dvojné vazby vykazuje v případě vláken červený posun o přibližně  $20\text{ cm}^{-1}$  oproti filmu. To je pravděpodobně způsobeno tím, že v případě vláken jsou polymerní řetězce ve více rigidním agregovaném stavu a dochází významnějším způsobem k meziřetězcovým interakcím, což způsobuje absorpci při nižší energii. Elektrostatický proces také pravděpodobně vedl k extenzi konjugace polymerních řetězců v rámci vláken. Pás okolo  $2400\text{ cm}^{-1}$  pro film, který není přítomen v případě vláken, je spojen s vlastnostmi objektivu, stejně tak to může být v případě pásu okolo  $600\text{ cm}^{-1}$ . Překvapující je intenzita pásu okolo  $1100\text{ cm}^{-1}$  v případě filmu charakteristická pro vibrace polární C-O vazby. Tento pás je v případě vláken významně potlačen tak jak lze očekávat u Ramanových spekter. Vysvětlení může spočívat opět ve strukturních efektech.

Bylo také zjištěno, že vlákna oproti filmu vykazují intenzivní fluorescenci, což může významným způsobem ovlivnit Ramanova spektra, a tak není možné striktně interpretovat výsledky porovnávacího měření.



Graf č. 3: Infračervená spektra polymeru ve formě filmu a vláken



Graf č. 4: Ramanova spektra polymeru ve formě filmu a vláken.

### 3.4 Vyhodnocení cílů

V experimentální části byly nalezeny vhodné podmínky pro elektrostatické zvláknování helikálně chirální látky s motivem polyacetylenového řetězce, což bylo cílem č. 2 této bakalářské práce. Následné charakteristiky však prokázaly, že nebylo dosaženo rozměrů, které by splňovaly kritéria nanovláken, jedná se tedy o mikroválkna, popřípadě submikroválkna. Průměry vláken se s experimenty zmenšovaly, nejmenších rozměrů bylo dosaženo v experimentu č. 7, kde byla do roztoku použita obě aditiva (PEG a TBAI). Pro další hledání podmínek by tedy bylo vhodné testovat roztoky s oběma aditivy.

Vzhledem k vysoké ceně polymeru nebyla provedena širší parametrická studie přípravy vláken, která by mohla dále vést ke snižování průměru vláken, popř. k objasnění pozorovaných efektů. Významnou roli hrál i časový faktor. Byla provedena zkouška stability ve vodném prostředí, dále obrazová analýza pro zjištění průměrů vláken. Materiály byly charakterizovány pomocí Ramanovy a infračervené spektroskopie. Pro hledání využití vlákenné vrstvy by bylo zapotřebí otestovat mechanické vlastnosti, zachování chiralitu po zvláknovacím procesu a případně její biokompatibilitu. V současnosti je materiál testován jako membrána pro chirální separace bioaktivních

molekul. V případě, že se prokáže její účinnost, bude možné dále vylepšovat technologické postupy její přípravy. Dále probíhá testování na biokompatibilitu a pomocí cirkulárního dichroismu se ověřuje zachování chiralitu. Zároveň by bylo dále vhodné zkoumat důvod, proč se vlákna tvoří téměř pravidelně spojená vždy dvě k sobě, případně zvážit, jaké výhody a nevýhody by tento jev měl pro využití vláken v praxi. Cíl č. 3 byl tedy splněn pouze částečně.

Čtvrtý cíl bakalářské práce neboli návrh pro využití nově vzniklé vrstvy v praxi je diskutován dále v kapitole č. 5.



## 4 Diskuze

Jak již bylo zmíněno, zvlákňování helikálně chirální látky je téměř neznámou otázkou z důvodu rigidity molekuly. Z tohoto důvodu se relevantní zdroje zabývající se touto problematikou téměř nevyskytují. V experimentální části bakalářské práce byly nalezeny vhodné podmínky pro elektrostatické zvlákňování látky s motivem polyacetylenového řetězce a úspěšně se podařilo připravit vlákennou vrstvu z tohoto materiálu. Hlavním limitačním faktorem byl omezený čas výzkumu, špatná dostupnost a vysoká pořizovací cena polymeru.

## **5 Návrh doporučení pro praxi**

Mikrovlákenná vrstva z experimentální části by měla být dále testována, aby bylo nalezeno její konkrétní využití pro praxi. Z dosavadně zjištěných vlastností se nejlépe jeví varianta, kdy by připravená mikrovlákenná vrstva sloužila jako membrána pro separaci racemických směsí, jako například aminokyseliny. Výsledky obsaženy v této práci jsou tvoří podklad připravovaného manuskriptu k odeslání do impaktovaného časopisu (Materiálové vědy).

## 6 Závěr

V této bakalářské práci bylo hlavním cílem nalézt vhodné podmínky pro elektrostatické zvlákňování helikálně chirální látky s motivem polyacetylenového řetězce, což je náročná výzva vzhledem k rigiditě konjugovaného řetězce. Podmínky byly nalezeny, ale rozměrů nanovláken se docílit nepodařilo. Vlákna byla dále charakterizována pomocí SEM, obrazové analýzy, infračervené a Ramanovy spektroskopie. Pro praktické využití je třeba další podrobnější výzkum, nicméně připravená mikrovlákenná vrstva by po dalším zkoumání mohla sloužit jako membrána k separaci racemických směsí, například aminokyselin.

## Seznam použité literatury

AL-AZZAWI, A. G. S. et al. 2023. A Mini Review on the Development of Conjugated Polymers: Steps towards the Commercialization of Organic Solar Cells. *Polymers*. **15**(1), 164–202. DOI 10.3390/polym15010164.

ANDĚROVÁ, Jana. 2013. *Biomechanická reflexe scaffoldu na mechanické zatěžování*. Praha. Diplomová práce. Univerzita Karlova. Fakulta tělesné výchovy a sportu.

ANON. 2006. Isomeric forms of polyacetylene [obrázek v knize]. In: MATTILA, H. R. ed. 2006. *Intelligent Textiles and Clothing*. Sawston: Woodhead Publishing. ISBN 978-1-84569-005-2.

ANON. 2009. Schematic diagram of an electrospinning set-up [obrázek v časopise]. In: LUKÁŠ, David et al. 2009. *Physical principles of electrospinning (Electrospinning as a nano-scale technology of the twenty-first century)*. *Textile progress*. **41**(2), 59–140. DOI 10.1080/00405160902904641.

ANON, 2013. Schematic Illustration of the GOD/EOF Quickly Detecting Glucose. [obrázek v časopise]. In: ZHOU, Cuisong et al. 2013. *Development of a Fast and Sensitive Glucose Biosensor Using Iridium Complex-Doped Electrospun Optical Fibrous Membrane*. *Analytical chemistry*. **85**(2), 1171–1176. DOI 10.1021/ac303107d.

ANON, 2016. [Příklad helikálně chirální látky] [online obrázek]. In: MORAVEC, Robert. 2016. *Stereometrie a izomerie*. [Praha]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/10599285-Izomerie-a-stereochemie.html>

ANON, 2017. Structural evaluation of sample prepared using P2C1 emulsion through side view optical imaging of as-spun sample and SEM: cotton-wool-like 3D nano-/microfibrous scaffold [obrázek v časopise]. In: PAL, Pallabi et al. 2017. *Nano-/Microfibrous Cotton-Wool-Like 3D Scaffold with Core–Shell Architecture by Emulsion Electrospinning for Skin Tissue Regeneration*. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. **3**(12), 3563–3575. DOI 10.1021/acsbiomaterials.7b00681.

ANON, 2018. Characterization of various fibrous scaffolds, SEM images [obrázek v časopise]. In: SUN, Luyano et al. 2018. *Enhanced wound healing in diabetic rats by nanofibrous scaffolds mimicking the basketweave pattern of collagen fibrils in native skin*. *Biomaterials science*. **6**(2), 340–349. DOI 10.1039/c7bm00545h.

ANON, 2023. Schematic diagram of the device configuration of an OFET. [obrázek v časopise]. In: AL-AZZAWI, A. G. S. et al. 2023. *A Mini Review on the Development of Conjugated Polymers: Steps towards the Commercialization of Organic Solar Cells*. *Polymers*. **15**(1), 164–202. DOI 10.3390/polym15010164.

HUDÁK, Radovan et al. 2013. *Memorix anatomie*. Praha: Triton. ISBN 978-80-7387-674-6

CHOCHOLATA, P. V. KULDA a V. BABUSKA. 2019. *Fabrication of Scaffolds for Bone-Tissue Regeneration*. *Materials*. **12**(4), 568–593. DOI 10.3390/ma12040568.

- JAHANGIRIAN, Hossein et al. 2018. A review of using green chemistry methods for biomaterials in tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*. **2018**(13), 5953–5969. DOI 10.2147/IJN.S163399.
- KRATOVHVÍL, B, V.ŠVORČÍK a D. VOJTĚCH. 2005. Úvod do studia materiálů. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. ISBN 80-7080-568-4.
- KRCHOVÁ, Silvie et al. 2014. Nanovlákná v hojení kožních ran. *Česká dermatovenerologie*. **4**(4), 234–240.
- LAHIRI, Dibyajit et al. 2021. Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. *Int J Mol Sci*. **22**(23). DOI 10.3390/ijms222312984.
- LIAO, Caizhi a Feng YAN. 2013. Organic Semiconductors in Organic Thin-Film Transistor-Based Chemical and Biological Sensors. *Polymer Reviews*. **53**(3), 352-406. DOI: 10.1080/15583724.2013.808665.
- MACAGNANO, A, E. ZAMPETTI a E. KNY, eds. 2015. Electrospinning for High Performance Sensors. Švýcarsko: Springer International Publishing. ISBN: 978-3-319-14406-1.
- MACKUROVÁ, Kateřina. 2019. *Využití nanomateriálů pro kultivaci kostních buněk*. Pardubice. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice. Fakulta chemicko-technologická.
- MASUDA, Toshio. 2016. Substituted Polyacetylenes: Synthesis, Properties, and Functions. *Polymer reviews*. **57**(1), 1–14. DOI 10.1080/15583724.2016.1170701.
- MCMURRY, John. 2015. Organická chemie. Praha: VŠCHT Praha. ISBN 978-80-7080-930-3.
- PAL, Pallabi et al. 2017. Nano-/Microfibrous Cotton-Wool-Like 3D Scaffold with Core–Shell Architecture by Emulsion Electrospinning for Skin Tissue Regeneration. *ACS Biomaterials Science & Engineering*. **3**(12), 3563–3575. DOI 10.1021/acsbiomaterials.7b00681.
- RASOULI, Rahimeh et al. 2019. Nanofibers for Biomedical and Healthcare Applications. *Macromolecular Bioscience*. **19**(2), 1–27. DOI 10.1002/mabi.201800256.
- RICHTER, Aleš. 2023. *Elektrické a magnetické pole živých organismů* [přednáška]. Liberec: Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií, 12.1.2023.
- SEDLÁČEK, Jan et al. 2017. Unexpectedly Facile Rh(I) Catalyzed Polymerization of Ethynylbenzaldehyde Type Monomers: Synthesis of Polyacetylenes Bearing Reactive and Easy Transformable Pendant Carbaldehyde Groups. *Macromolecular Rapid Communications*. **38**. DOI: 10.1002/marc.201600792.
- SENTHAMIZHAN, A., B. BALUSAMY a T. UYAR. 2019. Recent progress on designing electrospun nanofibers for colorimetric biosensing applications. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. **13**. 1–8. DOI: 10.1016/j.cobme.2019.08.002.
- SOCHOVÁ, Lenka. 2017. *Stanovení biokompatibility materiálů*. Brno. Bakalářská práce. Masarykova univerzita. Přírodovědecká fakulta.

- STANISLAV, Lukáš. 2015. *Produkce nanovláken metodou tažení*. Liberec. Disertační práce. Technická univerzita v Liberci. Fakulta strojní.
- SUN, Luyano et al. 2018. Enhanced wound healing in diabetic rats by nanofibrous scaffolds mimicking the basketweave pattern of collagen fibrils in native skin. *Biomaterials science*. **6**(2), 340–349. DOI 10.1039/c7bm00545h.
- TASHAKORI, Masha et al. 2020. Conductive carbon nanofibers incorporated into collagen bio-scaffold assists myocardial injury repair. *International Journal of Biological macromolecules*. **163**, 1136–1146. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.06.259.
- VELU, Rajkumar et al. 2020. A Comprehensive Review on Bio-Nanomaterials for Medical Implants and Feasibility Studies on Fabrication of Such Implants by Additive Manufacturing Technique. *Materials*. **13**(1), 92–115. DOI 10.3390/ma13010092.
- VOKURKA, Martin a Jan HUGO. 2015. *Velký lékařský slovník*. 10th ed. Praha: Maxdorf. ISBN 978-80-7345-456-2.
- WANG, Xianyan et al. 2002. Electrospun nanofibrous membranes for highly sensitive optical sensors. *Nano Letters*. **2**(11), 1273–1275. DOI 10.1021/nl020216u.
- XUE, Jiajia et al. 2019. Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chemical Reviews*. **119**(8), 5298-5415. DOI 10.1021/acs.chemrev.8b00593.
- ZHENG, Xinmin et al. 2021. Application of nanomaterials in tissue engineering. *RSC Adv*. **11**, 19041–19058. DOI 10.1039/d1ra01849c.
- ZHOU, Cuisong et al. 2013. Development of a Fast and Sensitive Glucose Biosensor Using Iridium Complex-Doped Electrospun Optical Fibrous Membrane. *Analytical chemistry*. **85**(2), 1171-1176. DOI 10.1021/ac303107d.