

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

KRISTÝNA PIPEKOVÁ

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická

Studium toxicity nanotrubiček  
Bakalářská práce

2022

Kristýna Pipeková

University of Pardubice  
Faculty of chemical technology

Study of Nanotube Toxicity  
Bachelor thesis

2022

Kristýna Pipreková

Univerzita Pardubice  
Fakulta chemicko-technologická  
Akademický rok: 2021/2022

# ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Kristýna Pipreková**  
Osobní číslo: **C19285**  
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**  
Téma práce: **Studium toxicity nanotrubiček**  
Téma práce anglicky: **Study Of Nanotube Toxicity**  
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

## Zásady pro vypracování

1. Bakalářskou práci na téma studium toxicity nanotrubiček zpracujte na základě literární rešerše. V úvodní části práce klasifikujte a charakterizujte hlavní typy nanomateriálů na základě jejich velikosti, tvaru, složení a dalších fyzikálně chemických vlastností. Podrobněji se věnujte nanomateriálům uspořádaným do podoby nanotrubiček.
2. V hlavní části bakalářské práce se zaměřte zejména na výrobu nanotrubiček, definujte podmínky a technologické postupy jejich přípravy. Shrněte možnosti jejich současného využití a případně i možného budoucího uplatnění. Dále popište potenciální rizika toxicity nanotrubiček a nanomateriálů obecně. Pokuste se shrnout aktuální in vitro studie, které se cytotoxicitou nanotrubiček zabývají a uveďte konkrétní příklady studií.
3. Jako zdroj informací pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce využijte odborné články publikované v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**  
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**  
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jiří Handl, Ph.D.**  
Katedra biologických a biochemických věd  
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Jana Báčová**  
Katedra biologických a biochemických věd  
Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

**prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.**  
děkan

L.S.

**prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.**  
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Studium toxicity nanotrubiček jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že 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, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019. Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 24.6.2022

Kristýna Pipeřková v. r.

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala vedoucímu bakalářské práce Mgr. Jiřímu Handlovi, Ph.D. za jeho cenné rady, věcné připomínky a věnovaný čas při zpracovávání této práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině za podporu během studia.

## **ANOTACE**

Tato bakalářská práce je věnována nanomateriálům se zaměřením především na uhlíkové nanotrubičky a jejich cytotoxicitu. V první části jsou shrnuty fyzikálně-chemické vlastnosti nanomateriálů, které mohou ovlivnit případnou toxicitu materiálů, a rozdělení nanomateriálů dle jejich struktury. V hlavní části jsou popsány struktury uhlíkových nanotrubiček a jejich způsoby výroby. Na závěr je kladen důraz na současné studie *in vivo* a *in vitro*, které popisují potenciální negativní účinky nanotrubiček včetně cytotoxicity.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Nanomateriály, Uhlíkové nanotrubičky, Cytotoxicita, Plicní toxicita, Nefrotoxicita

## **TITLE**

Study of Nanotube Toxicity

## **ANNOTATION**

This bachelor's thesis is devoted to nanomaterials, focusing mainly on carbon nanotubes and their cytotoxicity. The first part summarizes the physicochemical properties of nanomaterials that can affect the potential toxicity of the materials and the classification of nanomaterials according to their structure. In the main part, the structures of carbon nanotubes and their fabrication methods are described. Finally, emphasis is placed on *in vivo* and *in vitro* studies describing the effect of nanotubes on various organs in the human body. The entire work includes the latest studies in the context of nanotube toxicity.

## **KEYWORDS**

Nanomaterials, Carbon nanotubes, Cytotoxicity, Pulmonary toxicity, Nephrotoxicity



# OBSAH

ÚVOD .....	12
1. Nanomateriály .....	13
1.1 Klasifikace nanomateriálů .....	13
1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti nanomateriálů .....	15
1.2.1 Velikost a tvar .....	16
1.2.2 Povrch .....	17
1.2.3 Povrchový náboj .....	18
1.2.4 Chemické složení .....	19
1.2.5 Agregace .....	19
2. Nanočástice .....	20
2.1 Uhlíkové nanotečky .....	20
2.2 Fullereny .....	21
2.3 Kovové nanočástice .....	21
2.3.1 Stříbrné nanočástice .....	22
2.3.2 Zlaté nanočástice .....	23
3. Nanotrubičky .....	24
3.1 Uhlíkové nanotrubičky .....	24
3.1.1 Struktura uhlíkových nanotrubiček .....	25
3.1.2 Syntéza uhlíkových nanotrubiček .....	28
3.2 Nanotrubičky nitridu boru .....	31
3.3 Nanotrubičky oxidu titaničitého .....	32
4. Vícerozměrné nanomateriály .....	34
4.1 Grafen .....	34
4.2 Lipozomy .....	35
5. Toxicita uhlíkových nanotrubiček .....	36
5.1 Plicní toxicita uhlíkových nanotrubiček .....	37

5.1.1 Zánět .....	39
5.1.2 Oxidační stres .....	40
5.1.3 Fibróza .....	41
5.2 Dermální a oční toxicita uhlíkových nanotrubiček .....	42
5.3 Nefrotoxicita způsobená uhlíkovými nanotrubičkami .....	43
5.4 Kardiovaskulární toxicita uhlíkových nanotrubiček .....	44
5.5 Hepatotoxicita uhlíkových nanotrubiček .....	45
ZÁVĚR .....	47
POUŽITÁ LITERATURA .....	48

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Klasifikace nanomateriálů.....	14
Obrázek 2: Tvar a velikost nanočástic .....	17
Obrázek 3: Struktura Grafenu, Fullerenů a 1D Uhlíkových nanotrubiček .....	24
Obrázek 4: Struktura jednostěnné a vícestěnné uhlíkové nanotrubičky .....	26
Obrázek 5: Struktury uhlíkových nanotrubiček .....	27
Obrázek 6: Stone-Walesův defekt na boční stěně nanotrubičky .....	28
Obrázek 7: Znárodnění plic krys po inhalaci uhlíkových nanotrubic .....	38
Obrázek 8: Působení jednostěnných uhlíkových nanotrubiček na kuřecí embrya .....	39
Obrázek 9: Účinky expozice uhlíkových nanotrubiček na dermální a podkožní orgány .....	43
Obrázek 10: Toxicita uhlíkových nanotrubiček na renální systém.....	44
Obrázek 11: Účinky uhlíkových nanotrubiček na jaterní buňky .....	45
Obrázek 12: Zbarvení myších jater po vystavení jednostěnným uhlíkovým nanotrubičkám...	46

## SEZNAM ZKRATEK

0D	Nularozměrné NM
1D	Jednorozměrné NM
2D	Dvourozměrné NM
3D	Trojrozměrné NM
BNNT	Nanotrubičky nitridu boru
CND	Uhlíkové nanotečky
CNT	Uhlíkové nanotrubičky
CVD	Chemická depozice z plynné fáze
FL	Fullereny
GF	Grafen
MWCNT	Vícestěnné uhlíkové nanotrubičky
NMs	Nanomateriály
NPs	Nanočástice
ROS	Reaktivní formy kyslíku
SWCNT	Jednostěnné uhlíkové nanotrubičky
TNT	Nanotrubičky oxidu titaničitého

## ÚVOD

Vznik a vývoj nanotechnologií, který se uskutečnil v posledních letech, znamená pokrok a nové inovativní aplikace v nanomedicině. Je kladen velký důraz na vývoj nových nanomateriálů, které by byly prospěšné v biomedicínských oblastech. Mnoho studií však zdůrazňuje, že různé fyzikálně-chemické vlastnosti nebo průběh výroby může ovlivnit jejich toxicitu. Mezi různé fyzikálně-chemické vlastnosti můžeme zařadit velikost, tvar, povrch, chemické složení aj. Jejich malá nano-struktura je činí reaktivnějšími a toxičtějšími než větší částice, avšak se změnou velikosti, či tvaru nanomateriálů můžeme ovlivnit jejich cytotoxické vlastnosti, proto je důležité se i nadále věnovat vývoji těchto materiálů.

V této práci jsou zmíněny různé druhy nanomateriálů rozdělené dle jejich struktury na 0D, 1D, 2D a 3D rozměrné. Podle chemického složení je poté můžeme rozdělit také na anorganické a organické. V této práci se zmiňuji o různých druzích nanomateriálů rozdělených dle jejich struktury jako jsou např. nanotečky, nanorodky, nanotrubičky, grafen, fullereny, lipozomy aj. Největší pozornost je však věnována právě uhlíkovým nanotrubičkám, které můžeme rozdělit na jednostěnné a vícestěnné. Uhlíkové nanotrubičky se nejčastěji vyrábějí pomocí chemické depozice z plynné fáze, obloukového výboje nebo laserové ablace. Chemická depozice z plynné fáze je nejoblíbenější metoda pro hromadnou výrobu uhlíkových nanotrubiček. Různé techniky používané pro výrobu poté ovlivňují vlastnosti nanotrubiček jako např. jejich mechanické, elektrické a tepelné vlastnosti.

Nejčastějším způsobem expozice uhlíkových nanotrubiček u člověka je inhalace či dermální kontakt, zejména během výrobních a manipulačních procesů. Jelikož toxicita uhlíkových nanotrubiček může zasáhnout různé části lidského těla, je prováděno nespočet studií a pokusů *in vitro* a *in vivo*.

Cílem předložené bakalářské práce bylo zaměřit se především na uhlíkové nanotrubičky, jejich strukturu, výrobu a toxicitu. V práci je však také shrnuta problematika ostatních druhů nanotrubiček. Podstatná část práce je věnována cílovým orgánům, které jsou toxicitou nanotrubiček nejčastěji zasaženy.

## 1. Nanomateriály

Požadavky moderní společnosti a rychlý vývoj nových technologií kladou zvýšené nároky na vývoj nových materiálů. V této souvislosti se nyní výzkumné týmy zaměřují na vývoj vysoce rozvětvených a funkcionalizovaných struktur nanomateriálů (NMs) (Martinelli a Strumia, 2017). NMs jsou definovány jako materiály s jedním nebo více vnějšími rozměry o velikosti od 1 nm do 100 nm. Takové materiály mají typické chemické, biologické, optické, mechanické a magnetické vlastnosti, které je odlišují od jejich objemových protějšků (Bleeker et al., 2013). Hlavním důvodem, proč NMs přitahují tolik pozornosti, je jejich široké potenciální využití v celé řadě nejen průmyslových odvětví (Wang a Gu, 2015).

Původ nanotechnologií lze vysledovat až do roku 1959, kdy fyzik Richard Feynman rozpoznal potenciál manipulace s jednotlivými atomy a molekulami v nanometrovém měřítku a navrhl, že materiály v tomto měřítku mají jedinečné fyzikální vlastnosti. Oblast nanotechnologií zahrnuje koncepty a přístupy hluboce zakořeněné ve fyzice, polymerní a koloidní chemii, farmacii, biomateriálech, ale i buněčné a molekulární biologii a biofyzice (Hey, 2018). Termín „nanotechnologie“ použil a definoval v roce 1974 Norio Taniguchi (Aflori, 2021).

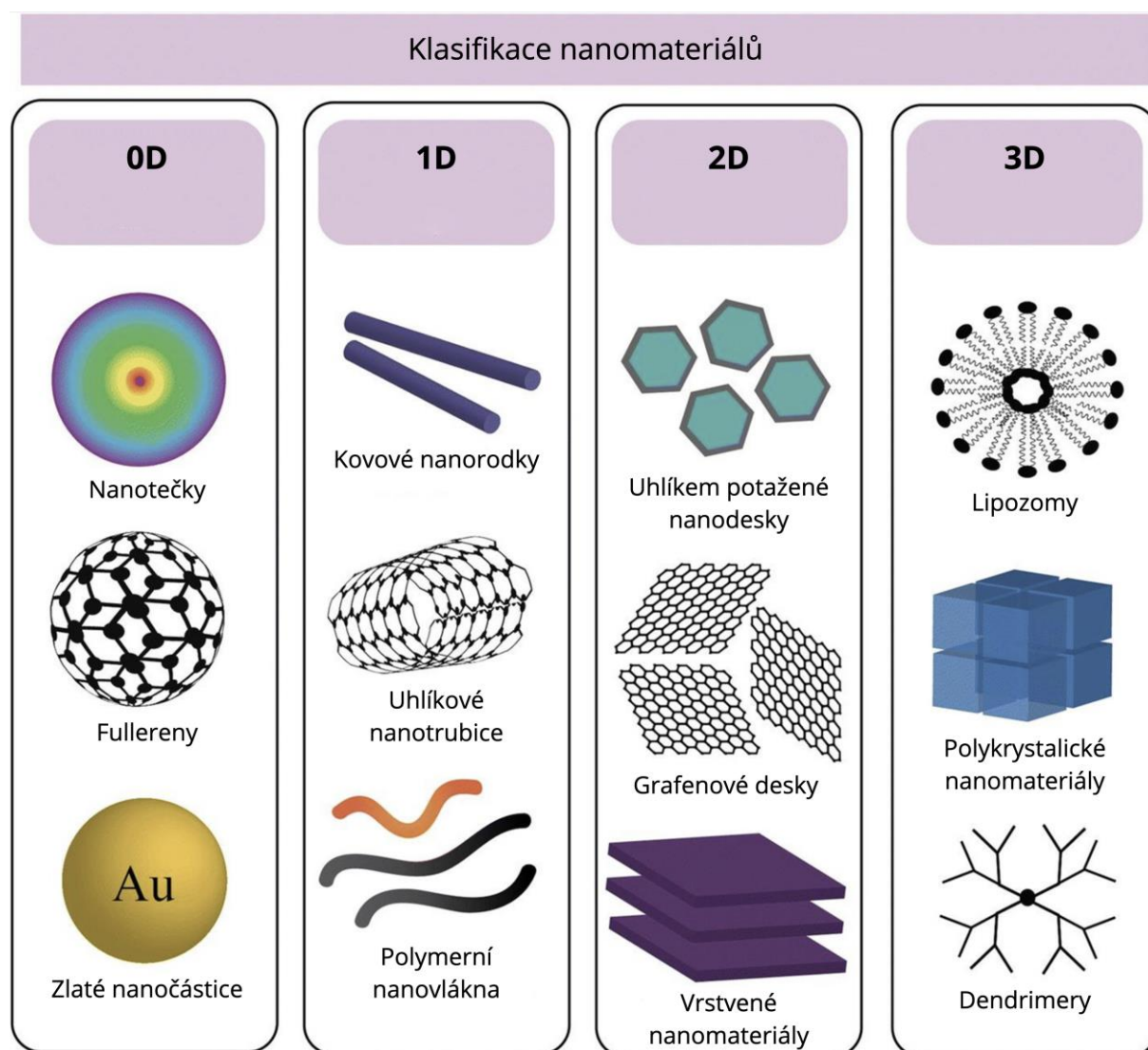
V oblasti farmaceutických a biotechnologických věd je v dnešní době nanotechnologie velmi žádaná a vede k vývoji požadovaných produktů nebo terapeutickým výsledkům. Vývoji nanomateriálů se stále více přiděluje velký počet studií v akademických a průmyslových skupinách, z důvodu vytvoření inženýrsky pokročilých materiálů a biomedicínských systémů (Borandeh et al., 2021). Potřeba adaptace vedla k vývoji tzv. chytrých nanomateriálů, které mohou reagovat na širokou škálu podnětů přizpůsobením svých vlastností, jako je tvar, povrch, velikost, propustnost, rozpustnost, mechanické vlastnosti a další. V závislosti na schopnosti nanomateriálu obnovit svůj původní stav může být reakce reverzibilní (Aflori, 2021).

### 1.1 Klasifikace nanomateriálů

NMs mohou mít různé tvary a složitou morfologii, což je umožňuje zařadit do čtyř základních skupin, tj. 0, 1, 2 a 3 rozměrné (0, 1, 2 a 3D) NMs (Obr. 1). Všechny dohromady představují základní stavební kameny nebo aktivní složky v dynamicky rostoucí oblasti bioinženýrství (Pryjmaková et al., 2020).

Nularozměrné NMs (0D) mají všechny své rozměry v nanoměřítku, tj. velikosti pod 100 nm. 0D nanomateriály zahrnují zejména sférické NMs, krychle a kvantové tečky

Jednorozměrné NMs (1D) jsou materiály, jejichž jeden rozměr není v nanoměřítku. 1D NMs zahrnují kovová a polymerní nanovlákná, nanotrubičky a nanodrátky. Dvourozměrné nanomateriály (2D) mají pouze jeden rozměr v nanoměřítku, zatímco ostatní dva rozměry nikoli. Mezi 2D NMs můžeme zařadit jednovrstvé, vícevrstvé, krystalické či amorfni materiály, tenké filmy, nanoplátky a nanopovlaky. 3D NMs kombinují více nanokrystalů v různých směrech, příkladem mohou být fullerény, či polykrystaly (Seleh, 2020). Takové NMs mohou reagovat s biologickými systémy na molekulární a nadmolekulární úrovni. NMs mohou reagovat na specifické buněčné prostředí, a dokonce mohou indukovat i požadované fyziologické reakce v buňkách, při minimalizaci nežádoucích vedlejších účinků (Juanola-Feliu E., 2009).



Obrázek 1: Klasifikace nanomateriálů (NMs): 0D rozměrné NMs, 1D rozměrné NMs, 2D rozměrné NMs, 3D rozměrné NMs; (upraveno dle Poh et al., 2018).

Podle chemického složení můžeme NMs rozdělit na anorganické a organické (Li et al., 2019). Anorganické NMs mohou být nejčastěji definovány jako částice oxidu kovu nebo částice obsahující kov, které mají alespoň jeden rozměr v rozsahu nanometrů (Bhattacharya a Mukherjee, 2008). Ve srovnání s organickými NMs mají anorganické NMs výhody v jedinečných fyzikálně-chemických vlastnostech, jako je optický, elektrický, magnetický, ultrazvukový a katalytický výkon. Kromě toho anorganické NMs mají lepší chemickou a mechanickou stabilitu než většina organických nanomateriálů, a to z důvodu, neschopnosti dosáhnout přesné kontroly morfologie organických NMs změnou struktury a vlastností stavebních bloků (Zarscher et al., 2016). Lepší předvídatelnost velikosti a tvaru organických materiálů lze dosáhnout řízením sestavování organických stavebních bloků jako jsou např. hydrofobní a hydrofilní interakce,  $\pi$ -skládání, vodíkové vazby, elektrostatické a Van der Waalovy síly atd. Hierarchické uspořádání těchto supramolekulárních uspořádání do nanostruktur vyššího řádu poté taktéž napomáhá k předvídatelnosti velikosti a tvaru (Pramod et al., 2009). U organických NMs je často používanou technikou elementární analýza založená na spalování, kterou lze úspěšně použít pro analýzu určitých materiálů s vysokým obsahem uhlíku (Rasmussen et al., 2018).

Uhlíkové nanomateriály jsou nejrozšířenějším typem běžně používaných nanomateriálů. Syntéza prvního uhlíkového NMs, fullerenu, v roce 1985 způsobila revoluci v aplikaci materiálů na bázi uhlíku ve všech oblastech výzkumu. Poměrně rychle bylo zjištěno, že různé uhlíkové alotropy mají různá uspořádání  $sp^2$  hybridizovaných uhlíkových atomů, což každému z nich dává jedinečné fyzikální, elektrické a optické vlastnosti. Další uhlíkové alotropy, uhlíkové nanotrubičky (CNT) a grafen (GF) byly poprvé syntetizovány v roce 1991 a 2004 (Alagarsamy et al., 2021). V nanorozměrech představují CNT, GF, fullereny (FL), uhlíkové nanotečky (CND), grafénové kvantové tečky, uhlíková vlákna, nanodiamanty, uhlíkové nanoionty a amorfnní uhlíkové nanostruktury alotropy uhlíku. Kvantové tečky a fullereny jsou 0D NMs. CNT a GF jsou klasifikovány jako 1D NMs, zatímco vrstvené struktury jako GF jsou klasifikovány jako 2D NMs. Nanodiamanty poté řadíme mezi trojrozměrné uhlíkové nanostruktury (Riley a Narayan, 2021).

## 1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti nanomateriálů

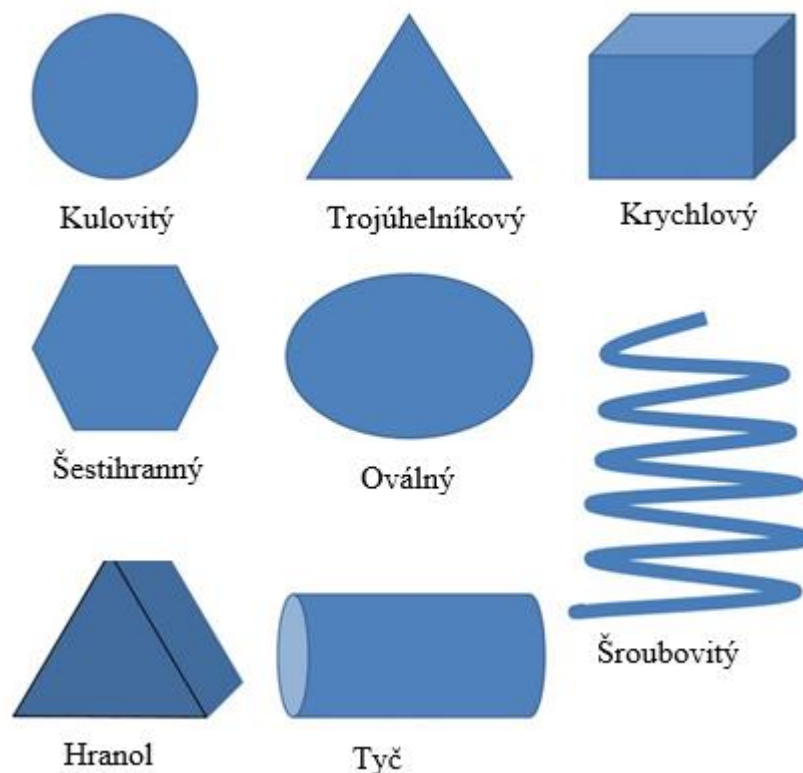
Adekvátní a jednoznačná identifikace posuzovaného materiálu je prvním krokem každého hodnocení rizik. U různých materiálů slouží k identifikaci dostatečné informace o chemické identitě a molekulární struktuře, zatímco u NMs je také nezbytná fyzikální a podrobnější chemická charakterizace (Rasmussen et al., 2018). Ve skutečnosti mají NMs



ve srovnání se svými objemovými protějšky jedinečné vlastnosti, avšak díky těmto vlastnostem mohou také vykazovat jedinečné mechanismy toxicity. Obecně se má za to, že toxicita souvisí s velikostí, povrchem, složením a tvarem NMs (Gatoo et al., 2014). Existuje několik způsobů, jak můžeme být vystaveni rizikovému účinku NMs. Nejčastěji se jedná o rizika spojená s inhalací (nos a plíce) a kontaktem (kůže a oči) s nanomateriály (Borandeh et al., 2021). Vstup částic přítomných ve vzduchu přes dýchací systém umožňuje translokaci nanočástic (NPs) do jiných primárních orgánů, z tohoto důvodů může být dýchací systém jedním z primárních míst toxického působení nanomateriálů (Poh et al., 2018). Pracovníci, kteří pracují s NMs, jsou vystaveni vysokému riziku při přípravě nebo manipulaci s NMs. Z tohoto důvodu je nezbytné vyhodnotit potenciální rizika a nebezpečí NMs z hlediska lidského zdraví a bezpečnosti (Borandeh et al., 2021). V této souvislosti je důležité pochopit, jak různé fyzikálně-chemické vlastnosti NMs ovlivňují jejich distribuci a chování *in vivo*. To vyžaduje spolehlivé techniky pro studium různých fyzikálně-chemických charakteristik NMs. Důsledný přístup ke spolehlivé charakterizaci NMs je nezbytný pro zajištění kvality a bezpečného racionálního rozvoje nanomedicíny (Lin et al., 2014).

### **1.2.1 Velikost a tvar**

Velikost částic a povrchová plocha hrají hlavní roli v interakci materiálů s biologickým systémem. Zmenšování velikosti materiálů vede k exponenciálnímu nárůstu plochy povrchu vzhledem k objemu, čímž se povrch nanomateriálu stává reaktivnějším. Velikost částic, plocha povrchu a tvar určují, jak okolní systém reaguje na materiály, jak je distribuují a jak je eliminuje (Obr. 2) (Powers, 2009). NMs mají velikosti od přibližně jednoho nanometru do několika stovek nanometrů, což je srovnatelné s mnoha biologickými makromolekulami, jako jsou enzymy, protilátky, DNA či plazmidy (Moustafa et al., 2016). U upravených NMs je velikost zásadním faktorem, který reguluje cirkulaci a navigaci NMs v krevním řečišti a pronikání přes lékové bariéry. Konečná velikost a struktura nanomateriálů však závisí na přísadách solí, povrchově aktivních látek, koncentracích reakčních složek a reakčních teplotách použitých během jejich syntézy (Lin et al., 2014).



Obrázek 2: Tvar a velikost nanočástic (upraveno dle Gato et al., 2014).

Několik studií využívajících různé třídy NPs ukázalo, že plocha povrchu je také kritickým faktorem při zobrazování toxických projevů (Holgate, 2010). Menší NPs o rozměrech  $<100$  nm způsobují nepříznivé respirační zdravotní účinky ve srovnání s většími částicemi ze stejného materiálu. Vdechované částice různých velikostí vykazují různé frakční depozice v lidském dýchacím traktu. Bylo prokázáno, že ultrajemné částice s průměrem  $<100$  nm se ukládají ve všech oblastech, zatímco částice  $<10$  nm se ukládají v tracheobronchiální oblasti. Částice mezi 10 a 20 nm se ukládají v alveolární oblasti. V důsledku toho bylo zjištěno, že translokace nebo distribuce NPs jsou závislé na velikosti, což zase rozhoduje o jejich toxicitě (Gato et al., 2014).

### 1.2.2 Povrch

Interakce mezi NMs a biologickými organismy se typicky odehrávají na povrchu částice, proto má povrchová plocha primární význam při určování možných toxických účinků (Powers, 2006). Nanostrukturní materiály mají mnohem větší specifický povrch než jiné sytké materiály. Interakce mezi povrchem a jeho okolím by proto byla relevantnější pro NMs než pro sytké materiály (Rasmussen et al., 2018). Povrchová úprava může ovlivnit cytotoxické vlastnosti NPs změnou jejich fyzikálně-chemických vlastností, jako jsou

magnetické, elektrické a optické vlastnosti a chemická reaktivita (Gatoo et al., 2014). Na druhou stranu může být povrchová úprava také použita ke snížení problémů s toxicitou NPs. Obecně může úprava zmírnit nebo eliminovat nepříznivé účinky NPs. Zejména správná úprava může vést ke stabilizaci NPs a také k zamezení uvolňování toxických iontů z nanomateriálu (Kirchner et al., 2005).

Povrchové modifikace NMs by měly být uzpůsobeny k tomu, aby se následné vlastnosti NMs daly využít pro vývoj nových technologií či řešení současných problémů. Mezi tyto modifikace řadíme stabilitu ve složitých biologických médiích, specifickou vůči konkrétní biologické entitě a zajištění, aby NMs nebyly cytotoxické. Takové seznámení s biologickými aktivitami závislými na funkcionalizaci povrchu NMs může mít dopad na navrhování účinných terapeutických NMs pro diagnostiku a léčbu nemocí (Mout et al., 2012).

### **1.2.3 Povrchový náboj**

Povrchový náboj je hlavním faktorem při určování charakteristik disperze částic a ovlivňuje adsorpci iontů a biomolekul. To může změnit způsob, jakým buňky vnímají a reagují na částice. Standardně jsou povrchové náboje částicových systémů aproximovány měřením zeta potenciálu (Adamson a Gast, 1997). Zeta potenciál je funkcí povrchového náboje částice, adsorbovaných látek na jejím povrchu a také složením a iontové síly okolního roztoku. Zeta potenciály NPs se typicky detekují metodami na principu elektroforézy s rozptylem světla (Powers, 2006).

Je třeba poznamenat, že kladně nabitě NPs vykazují významnou buněčnou absorpci ve srovnání s negativně nabitými a neutrálními nanočásticemi, a to díky jejich zvýšené opsonizaci plazmatickými proteiny (Goodman et al., 2004). Bylo také pozorováno, že povrchový náboj NPs mění integritu hematoencefalické bariéry a transmembránovou permeabilitu. V tomto ohledu bylo zjištěno, že záporně nabitě částice v rozmezí velikostí 50 až 500 nm pronikají kůží po dermálním podání, zatímco u kladně nabitých a neutrálních částic, bez ohledu na jejich velikost, nebyly žádné tyto účinky pozorovány. Záporně nabitě NPs s velikostí 50 nm prostupují kůží kvůli malé velikosti a velkému specifickému povrchu, zatímco částice 500 nm prostupují kůží, protože vysoký počet a hustota nabitých skupin vede k vysoké koncentraci náboje, která překonává kožní bariéru (Kohli et al., 2004).

### 1.2.4 Chemické složení

Chemické složení NMs také definuje jeho funkci. Koncentrace povrchově modifikovaných funkčních skupin na NMs se zvyšuje se snižující se velikostí částic. Chemické složení povrchu je funkcí molekulárního složení částice a struktury povrchu. I když je koncentrace povrchových skupin větší na NPs než na jemných částicích, které mají velikosti 100 až 2500 nm, je stále obtížné identifikovat a kvantifikovat jejich atomové složení kvůli omezené velikosti vzorku. Pro stanovení chemického složení povrchu NPs se používají metody jako rentgenová fotoelektronová spektroskopie a elektronová spektroskopie pro chemickou analýzu (Oberdörster et al., 2005). Metody pro stanovení chemického složení by měly být pečlivě vybrány s ohledem na očekávané složení NMs a nečistot, jelikož některé techniky jsou vhodné pouze pro některé typy materiálů, je třeba brát zřetel na rozdíly mezi organickými a anorganickými materiály (Rasmussen et. al., 2018).

Přítomnost nečistot může významně ovlivnit účinnost léčiva nebo dokonce způsobit nepříznivé vedlejší účinky. Obecně lze určit čistotu nanomateriálů pomocí analýzy jejich chemického složení. Před dokončením formulace nanomateriálu a pokračováním v analýze složení jsou vyžadovány správné procesy čištění, aby se odstranily veškeré zbytkové výrobní složky nebo vedlejší produkty a aby se zajistila nepřítomnost kontaminace endotoxiny (Crist et. al., 2013).

### 1.2.5 Agregace

Kromě velikosti je třeba rozumně zvážit i agregační faktor, který však byl často považován za triviální pro mnoho biologických a lékařských aplikací. Ačkoli bylo vyrobeno mnoho NMs s cílovou velikostí, která může být ultra malá, mohou tyto částice často tvořit mnohem větší koloidní agregáty (Navya a Daima, 2016).

Agregace NPs také ovlivňuje jejich toxicitu. Schopnost agregace NPs závisí mimo jiné na velikosti, povrchovém náboji a složení NPs. Bylo pozorováno, že uhlíkové nanotrubičky se akumulují hlavně v játrech, slezině a plicích, aniž by se jejich přítomnost projevila v podobě akutní toxicity. Cytotoxické účinky se většinou projeví až po delší době po vytvoření a akumulaci agregátů (Yang et al., 2008). Stabilita připravených NMs proti agregaci je vždy zásadním problémem před tím, než se tyto nanomateriály použijí pro jakoukoli biomedicínskou aplikaci. Stabilita syntetizovaných NMs závisí na pH prostředí, ve kterém jsou nanomateriály dispergovány a na koncentraci elektrolytu v rozpouštědle (Kallay et al., 2002).

## 2. Nanočástice

Nejčastějším zastoupením 0D NMs jsou sférické NPs. Mohou být amorfní či jednodimenzionální. Do této třídy spadají jednotné materiály s nanodimenzemi jako jsou molekuly, shluky, fullereny, kruhy, částice a zrna. Obvyklými zástupci této třídy jsou kovové NPs, jako jsou NPs stříbra a zlata, kvantové tečky, CND atd. (Asha a Narain, 2020). Od svého prvního objevu v roce 2004 se CND s nulovým rozměrem nebo uhlíkové kvantové tečky postupně staly novým členem rodiny uhlíkových nanomateriálů. Díky své silné luminiscenci se CND na rozdíl od makroskopického uhlíku označují také jako nanosvětla nebo fluorescenční uhlík (Garg a Bisht, 2016).

### 2.1 Uhlíkové nanotečky

Uhlíkové nanotečky jsou novou třídou NMs. CND jsou slibnými molekulárními šablonami pro různé typy aplikací včetně zobrazovacích a snímacích technik, dodávání léků, fotokatalýzy a další. Snadno se připravují ze škrobu a jiných uhlíkatých zdrojů. Jejich nízký index toxicity, kromě fluorescenčních vlastností, slibuje četné biomedicínské aplikace (Ngu-Schwemlein et al., 2016). Obecně jsou CND nanočástice, které obsahují amorfní až nanokrystalická jádra o průměru menším než 10 nm. Bylo prokázáno, že vnitřní část CND je primárně složena z  $sp^2$  hybridizovaných atomů uhlíku, zatímco  $sp^3$  hybridizované atomy uhlíku jsou přítomny ve vnější části (Garg a Bisht, 2016). CND se celkově skládají hlavně z atomů uhlíku, kyslíku, vodíku a dusíku, přičemž poměr těchto prvků se může v surových a čištěných CND výrazně lišit. Bylo například zjištěno, že chemické složení surových CND (91,7 % C, 1,8 % H, 1,8 % N, 4,4 % O) se značně liší od složení čištěných CND (36,8 % C, 5,9 % H, 9,6 % N, 44,7 % O) (Liu et al., 2007).

CND vykazují dobré optické vlastnosti, jako je např. laditelná emisní vlnová délka, dobrá fotostabilita, neblíkání atd. Za zmínku stojí, že CND vykazují vnitřní fotoluminiscenci citlivou na pH, což naznačuje jejich velký potenciál pro snímání pH, zejména při biotickém snímání pH. Jelikož jejich fotoluminiscence závisí na pH, tak se se změnou pH odpovídajícím způsobem mění také fotoluminiscence spektra nebo intenzita CND. Je dobře známo, že pH hraje klíčovou roli v průmyslových, zemědělských, environmentálních a biomedicínských oblastech. Má velký význam jak pro vědecký výzkum, tak pro aplikace při monitorování pH při diagnostice onemocnění, environmentálním vyšetření, analýze potravin a nápojů atd. (Liu et al., 2021). Fotoluminiscenční emise CND, včetně excitačních vlnových délek závislých i nezávislých, je jednou z nejatraktivnějších vlastností a lze ji použít k manipulaci

s fotoindukovaným přenosem elektronů. Z tohoto důvodu může připravit cestu pro nové aplikace v přeměně energie (Garg a Bisht, 2016).

## 2.2 Fullereny

Do skupiny 0D nanomateriálů dále řadíme Fullereny. Fullereny jsou kulovité nebo elipsoidní uzavřené prostorové struktury, jejichž molekuly jsou složeny ze sudého počtu atomů uhlíku (Obr. 3). Nejběžnějším FL je molekula  $C_{60}$  s kulovitou strukturou. Jedná se o zkrácený dvacetistěn připomínající fotbalový míč (Świdwińska-Gajewska a Czerczak, 2016). Tyto molekuly se v pevném skupenství navzájem vážou a vytvářejí krystalovou mříž s křišťálovou strukturou uprostřed. V mřížce je každá molekula  $C_{60}$  oddělena od další molekuly 1 nm a pohromadě je spojují Van der Waalsovy síly (Aska a Narain, 2020). FL nejsou široce používány jen v diagnostice a medicíně, ale také v elektronickém a energetickém průmyslu (Świdwińska-Gajewska a Czerczak, 2016). FL mohou být produkovány širokou škálou přirozeně se vyskytujících událostí, jako např. sopečnou erupcí a požáry (Chang a Violi, 2006).

Při uvolnění FL do atmosféry může dojít k inhalaci dýchacími cestami (Chang a Violi, 2006). Díky jejich malým aerodynamickým poloměrům získávají tyto částice přístup do alveolárního prostoru a rezidentních makrofágů na povrchu dýchacích cest. NMs s efektivním aerodynamickým poloměrem 0,1-1  $\mu\text{m}$  jsou dostatečně malé, aby prošly alveolárním epitelem a vstoupily do sousedního krevního řečiště a cirkulujících monocytů. Větší shluky NMs ( $> 1 \mu\text{M}$ ) opouštějí plíce přes mukociliární eskalátor a mohou putovat z jícnu do střeva, kde se setkávají se střevním imunitním systémem (Oberdörster et al., 2005). Po intravenózním podání se FL hromadí především v játrech, ale také ve slezině a ledvinách. Při pokusech na zvířatech nedošlo k žádnému podráždění nebo senzibilizaci kůže způsobené FL, ale pouze k mírnému podráždění očí. Orální podání FL nevede k závažným nepříznivým účinkům. FL nebyly v experimentálním výzkumu mutagenní, genotoxické ani karcinogenní (Świdwińska-Gajewska a Czerczak, 2016).

## 2.3 Kovové nanočástice

Kovové NMs byly použity pro různé aplikace, většinou ve formě NPs v měřítku 1-200 nm. Díky svým optickým vlastnostem a sklonu k rozptylu světla jsou kovy optimálními materiály pro diagnostiku a byly použity v zobrazování jako kontrastní látky pro detekci rakoviny nebo terapii onemocnění. Kovové NPs jsou syntetizovány různými chemickými nebo fyzikálními metodami (Kyriakides et al., 2021). V posledních letech bylo také dosaženo určitých úspěchů v oblasti kovových NMs jako heterogenních katalyzátorů. Tyto katalyzátory

mají velmi vysokou katalytickou aktivitu a selektivitu pro specifické reakce. Nanokatalyzátory můžeme použít pro katalytické chemické reakce, mezi které patří především oxidační reakce, redukční reakce, kopulační reakce a elektrochemická reakce (Wang a Gu, 2015).

Při chemické syntéze podléhají kovové soli redoxní reakci buď elektrochemickou syntézou, která zahrnuje vedení proudu elektrolytickým roztokem. Sonochemickou syntézou, kde se ke generování radikálů používá vysokoenergetický puls. Nebo také chemickou redukcí, která využívá prekurzory kovů. Fyzikální metody syntézy zahrnují tepelný rozklad, který využívá vysoké teploty k vytvoření NMs, a laserovou ablaci, kdy je kov odstraněn laserem za účelem vytvoření vysoce kontrolovaných NMs (Kyriakides et al., 2021).

### 2.3.1 Stříbrné nanočástice

Když byly objeveny antibakteriální vlastnosti stříbra, bylo stříbro zavedeno do lékařské oblasti pro hojení ran a léčbu popálenin. Na počátku 40. let 20. století nastala éra antibiotik a stříbro bylo z velké části nahrazeno penicilinem. V současné době se objevuje stále více bakteriálních kmenů odolných vůči antibiotikům. Z tohoto důvodu bylo stříbro znovu zavedeno jako slibný materiál při vývoji nových baktericidů (Vimbela et al., 2017). Poptávka po NMs s obsahem stříbra není pouze ve zdravotnictví, ale také v optoelektronice, právě díky jejich antibakteriálním, tepelným, elektricky vodivým a dalším vlastnostem. Rozšiřování výroby a aplikace stříbrných NMs musí být doprovázena kontrolou dopadů těchto materiálů na zdraví při práci, veřejnou bezpečnost a životní prostředí. Bylo provedeno mnoho studií *in vitro* a *in vivo* toxicity stříbrných NMs, ale jejich výsledky jsou často neprůkazné (Theodorou et al., 2014).

Nedávné studie uvádějí, že velikost a povrchový povlak NPs stříbra hrají velkou roli v antibakteriální aktivitě, přičemž bylo pozorováno, že menší NPs poskytují vyšší míru toxicity (Vimbela et al., 2017). Elementární stříbro bylo považováno za málo toxické pro člověka, ačkoli bylo hlášeno několik případů argyrie. To je v podstatě předávkování stříbrem v důsledku ukládání solí stříbra v těle. Předávkování se projevuje nevratnou pigmentací kůže. Toxicita stříbrných NPs byla prokázána u několika druhů obratlovců, bezobratlých, prokaryotických a eukaryotických mikroorganismů, a stejně tak u savčích buněčných linií. Toxikologické výsledky po expozici stříbrných NMs zahrnují oxidační stres, peroxidaci lipidů, inhibici mitochondriální aktivity, poškození DNA a buněčnou apoptózu (Theodorou et al., 2014).

Nové techniky syntézy stříbrných NMs jsou studovány s cílem vynalézt alternativy ke konvenční syntéze a prozkoumat vlastnosti, které vykazují kompozitní a hybridní stříbrné NMs. Konvenční syntéza stříbrných NPs vyžaduje počáteční redukci kovových solí na čisté kovy a stabilizační činidla, aby se zabránilo agregaci NPs do klastrů. Nejčastěji se syntetizují chemickou redukcí dusičnanu stříbrného nebo chloridu stříbrného, což vede ke stabilním koloidním disperzím v rozpouštědle (Vimbela et al., 2017).

### **2.3.2 Zlaté nanočástice**

Sférické zlaté nanočástice jsou jednou z nejpoužívanějších zlatých nanostruktur v aplikacích pro dodávání léků. Velké množství zlatých NPs lze snadno syntetizovat s relativně vysokou jednoduchou disperzí, a to redukcí vodné kyseliny chlorozlatité citrátem sodným. Změnou stechiometrického poměru kyseliny chlorozlaté a citrátu sodného lze řídit velikost sférických NPs. Při této syntéze působí citrát nejen jako redukční činidlo, ale také jako stabilizátor (Kong et al., 2017). Bezpečnější výrobní alternativy využívají šetrná rozpouštědla, ekologicky šetrné redukční nebo stabilizační materiály, mírné experimentální podmínky, a dokonce zahrnují aplikaci biologických materiálů. Mezi biologické materiály k použití můžeme zařadit rostlinné extrakty, bakterie, houby nebo jejich lyzáty (Rónavári et al., 2021).

Toxicita NPs zlata, včetně toxických účinků na rostliny a zvířata, je v současné době předmětem zkoumání. V experimentech *in vivo* prováděných s použitím myšího modelu byla myším podávána každý den po dobu sedmi týdnů injekce s obsahem 8 mg/kg zlatých NPs s velikostí od 3 nm do 100 nm. Přestože byly myším podávány netoxické NPs, výsledky ukázaly, že injekce měly na většinu testovaných zvířat smrtící účinky. Další studie, zaměřená na možné toxické účinky zlatých NMs na krmné a potravinářské plodiny, prokázala, že zlaté NPs, které byly umístěny kolem kořenů kukuřice se hromadí v jejích kořenech a listech. V důsledku toho pak dochází k inhibici růstu rostlin (Vimbela et al., 2017).

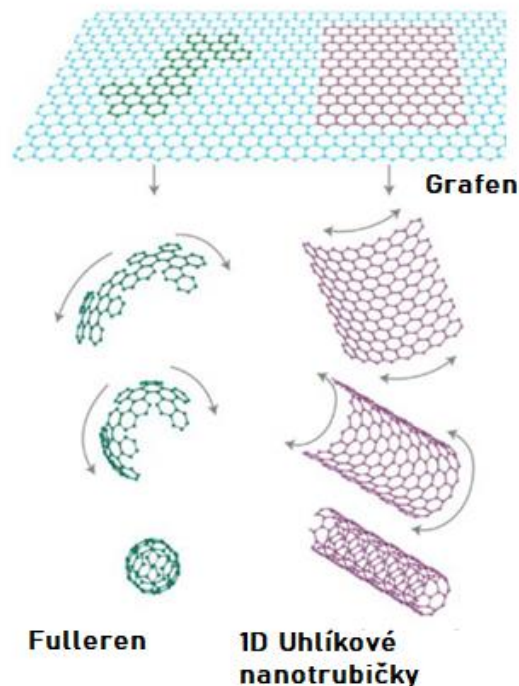


### 3. Nanotrubičky

Jedním z nejpoužívanějších druhů 1D NMs jsou právě nanotrubičky, které se mohou vyrábět z nitridu boru, oxidu titaničitého, uhlíku a mnoha dalších materiálů. Z jednotlivých typů nanotrubiček se v průmyslovém odvětví, biomedicině a inženýrství nejvíce využívají uhlíkové nanotrubičky.

#### 3.1 Uhlíkové nanotrubičky

CNT byly poprvé vyrobeny japonským vědcem Iijimou v roce 1991 v laboratoři NEC v Tsukubě v Japonsku. CNT byly poprvé charakterizovány pomocí transmisního elektronového mikroskopu s vysokým rozlišením (Iijima, 1991). Tyto NMs jsou alotropy uhlíku, vyrobené z grafenu (He et al., 2013), definovány jako NMs složené ze souvislé, nepřerušené hexagonální sítě atomů uhlíku (Iijima, 1991) s nanometrovým měřítkem v průměru a několika milimetrů na délku (Obr. 3) (He et al., 2013). Chemická vazba v nanotrubičkách se skládá výhradně z vazeb  $sp^2$ , které jsou silnější než vazby  $sp^3$  nalezené např. v alkanech, a poskytující nanotrubičkám jedinečnou pevnost. Je zajímavé, že CNT mají mnohem vyšší poměr délky k průměru než jiné existující materiály (tj. až 132 000 000:1) (Wang et al., 2009). Jejich strukturní, mechanické a elektronické vlastnosti jsou způsobeny jejich malou velikostí a hmotností, neuvěřitelnou mechanickou pevností a vysokou elektrickou a tepelnou vodivostí (He et al., 2013).

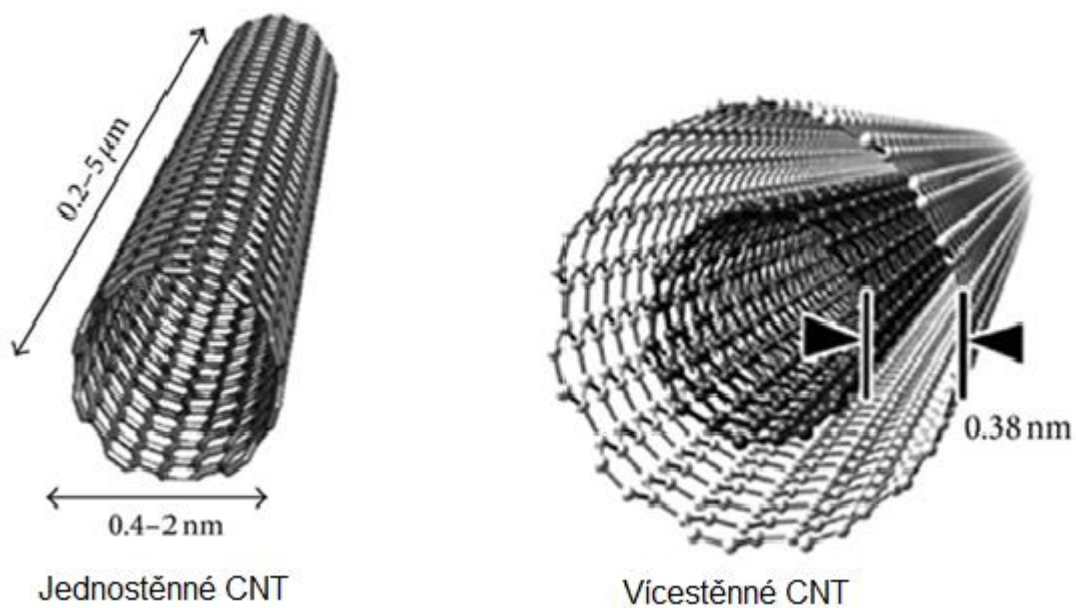


Obrázek 3: Struktura Grafenu, Fullerenu a 1D Uhlíkových nanotrubiček (upraveno dle Lalwani et al., 2016).

Zejména schopnost CNT účinně procházet buněčnými membránami a přenášet velké množství molekul, jako jsou léky, proteiny, protilátky, DNA, enzymy atd., podpořila návrh systémů pro dodávání léků na bázi nanotrubiček (Costa et al., 2016). Koncept dodávání léků pravděpodobně představil Paul Ehrlich v roce 1897, když zkoumal použití „*zauberkugeln*“ s cílem zlepšit účinnost dostupných terapeutik (Kreuter, 2007). Bylo prokázáno, že jsou vynikajícím vehikulem pro dodávání léků tím, že pronikají přímo do buněk a udržují lék neporušený bez jeho metabolického zpracování během transportu v těle. Mnoho studií prokázalo, že když jsou molekuly navázány na CNT, jsou do buněk dodávány efektivněji a bezpečněji než tradičními metodami (He et al., 2013). Navzdory jejich nepopíratelnému potenciálu se objevily obavy ohledně jejich toxicity, jelikož různé zprávy ukázaly, že nedotčené CNT by mohly způsobit biologické poškození (Poland et al., 2008). Nadměrná délka CNT, přítomnost nečistot z procesu syntézy a zavedení karboxylových skupin na povrch CNT by mohly vyvolat škodlivé buněčné reakce (Lanone et al., 2013). Takové parametry musí být, proto důkladně kontrolovány a charakterizovány, aby bylo možné navrhnout bezpečné a biokompatibilní CNT použitelné jako transportní systémy. Post-syntetická povrchová modifikace CNT hydrofilními molekulami, nazývaná jako funkcionalizace, byla popsána jako účinný postup ke zvýšení jejich disperzi ve vodě a snížení jejich toxicity (Costa et al., 2016).

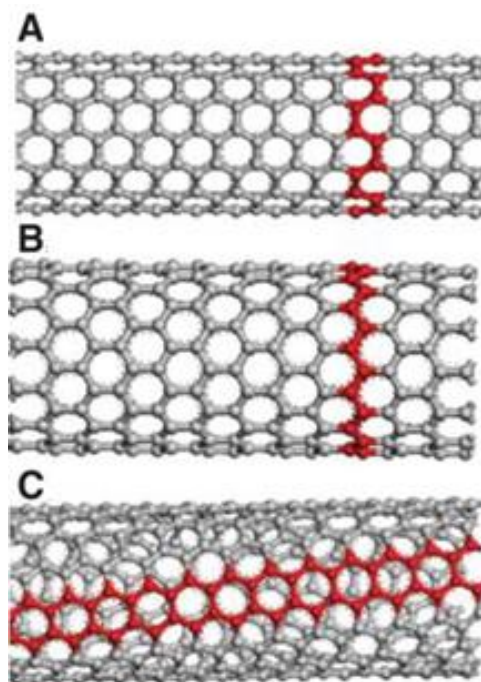
### **3.1.1 Struktura uhlíkových nanotrubiček**

Na základě počtu vrstev jsou struktury CNT klasifikovány do dvou typů: jednovrstevné CNT (SWCNT) a vícevrstevné CNT (MWCNT) (Obr. 4). CNT však mají tendenci agregovat do svazků s velkým počtem kovových a polovodičových SWCNT ve směsi. Vlastnosti svazků jsou ale obecně horší než vlastnosti izolovaných SWCNT (Karimi et al., 2015).



*Obrázek 4: Struktura jednotěnné a vícetěnné uhlíkové nanotrubičky (CNT);  
(upraveno dle He et al., 2013)*

SWCNT se skládají z jednoho grafenového válce s průměrem pohybujícím se mezi 0,4 až 2 nm, obvykle se vyskytují jako šestiúhelníkové, těsně zabalené svazky. Příslušné listy jsou pak válcovány pod určitými chirálními úhly. Nakonec o vlastnostech válcovaných CNT rozhoduje poloměr a úhel válcování (Das et al., 2014). Způsob zabalení těchto grafenových listů do válce, je vyjádřen indexy  $n$  a  $m$ . Indexy  $n$  a  $m$  znamenají počet jednotkových vektorů podél dvou směrů ve voštinové krystalové mřížce grafenu. Když se index  $m = 0$ , struktura nanotrubičky se označuje jako klikatá, když je však  $n = m$ , struktura nanotrubičky se nazývá „křeslo“. Jinak je struktura nanotrubiček označována jako chirální (Obr. 5) (Ying et al., 2011).

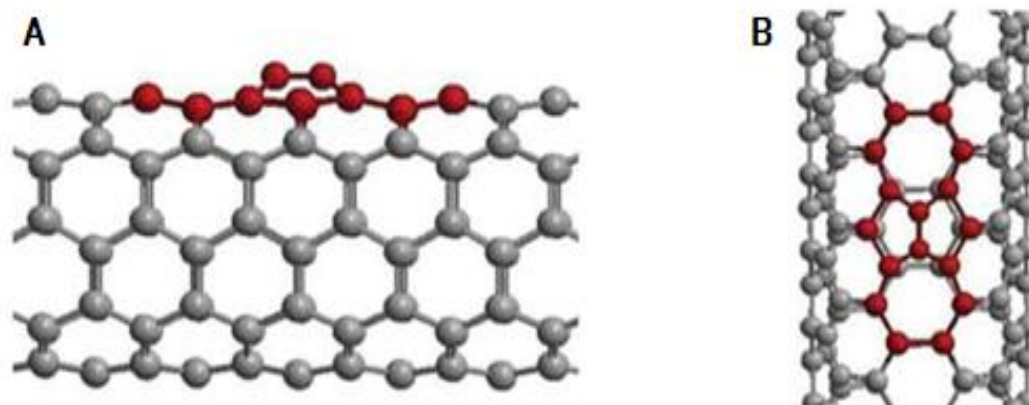


Obrázek 5: Struktury uhlíkových nanotrubiček; A – „křeslo“, B – „klikatá“, C – „chirální“; (upraveno dle Karimi et al., 2015).

MWCNT se skládají ze dvou až několika koaxiálních válců, z nichž každý je vyroben z jednoho grafenového listu obklopujícího duté jádro. Vnější průměr MWCNT se pohybuje od 2 do 100 nm, zatímco vnitřní průměr je v rozsahu 1 až 3 nm a jejich délka je 0,2 až několik  $\mu\text{m}$  (He et al., 2013). Vzdálenost mezi dvěma grafenovými listy v MWCNT je typicky 0,340 nm, o něco větší než vzdálenost mezi dvěma po sobě jdoucími vrstvami v monokrystalovém grafitu, která je rovna 0,335 nm (Popov, 2004). V nejobecnějším případě se MWCNT skládají ze soustředného uspořádání mnoha válců. Takovéto SWCNT mohou právě dosahovat až 100 nm. Speciálním případem těchto MWCNT jsou dvoustěnné CNT složené pouze ze dvou soustředných válců (Karimi et al., 2015). Mezi SWCNT a MWCNT je mnoho rozdílů. Zatímco SWCNT mají jednodušší struktury, MWCNT mají jednodušší zpracovatelské techniky s lepšími elektrickými vlastnostmi. Také funkcionalizační proces je jednodušší a efektivnější v případě MWCNT ve srovnání s SWCNT. To je způsobeno lepší mezifázovou vazbou nanotrubic MWCNT s funkcionalizovanými ligandy. I přes tyto fyzikálně chemické rozdíly mají tyto dva typy CNT podobné výrobní techniky (Nag a Mukhopadhyay, 2022).

Ve skutečnosti však CNT nejsou ideální nebo dokonalé struktury, ale spíše obsahují defekty vzniklé během syntézy. Typicky se přibližně 1–3 % atomů uhlíku nanotrubičky nachází v místě defektu. Často se vyskytujícím typem vady je tzv. Stone–Walesův defekt

(Obr. 6). Tento typ defektu je znám jako defekt 7-5-5-7 kvůli dvěma párům pětičlenných a sedmičlenných prstenců. Stone–Walesův defekt vede k lokální deformaci tohoto zakřivení, přičemž adiční reakce jsou u těchto defektů nejvýhodnější na dvojných vazbách uhlík-uhlík (Karimi et al., 2015).



Obrázek 6: Stone-Walesův defekt na boční stěně nanotrubičky; A – pohled na defekt nanotrubičky z boku, B – pohled na defekt nanotrubičky ze shora (upraveno dle Karimi et al., 2015).

### 3.1.2 Syntéza uhlíkových nanotrubiček

Výroba CNT se prováděla v průběhu let za použití široké škály technik, které vyhovují potřebám dané aplikace. Každý proces syntézy vyvíjí CNT s různými elektrickými, mechanickými a tepelnými charakteristikami. Mezi základní způsoby výroby CNT patří tři primárně používané techniky. Jedná se o chemickou depozici z plynné fáze (CVD), laserovou ablaci a obloukový výboj (Nag a Mukhopadhyay, 2022). CVD se však osvědčilo jako oblíbená metoda pro hromadnou výrobu CNT. Různé CVD techniky používané pro výrobu CNT zahrnují techniky horkým drátem, horkým vláknem, mikrovlnnou plazmou, kyslíkem, aerosolem a pomocí vstříkovaní kapaliny (Manawi et al., 2018). Další soubor technik, nazývaný přístupy shora dolů nebo zdola nahoru, jsou výzkumníky využívány k vytvoření CNT méně (Nag a Mukhopadhyay, 2022).

#### 3.1.2.1 Syntéza pomocí chemické depozice z plynné fáze

CVD je nejoblíbenější technika používaná k výrobě CNT díky svým výrazným výhodám oproti ostatním technikám (Manawi et al., 2018). Metoda CVD pro výrobu CNT má výhody vysokého výtěžku nanotrubiček a nižších požadavků na teplotu (550–1000 °C), díky čemuž je proces levnější a dostupnější pro laboratorní aplikace. Kromě toho metoda CVD umožňuje kontrolu nad morfologií, strukturou produkovaných CNT a růstem

zarovnaných nanotrubiček v požadovaném směru. Metoda CVD má však nevýhodu v tom, že nanotrubičky jsou strukturálně defektnější než nanotrubičky vyrobené laserovým napařováním nebo metodou obloukového výboje. Obloukový výboj i laserové odpařování jsou považovány za vysokoteplotní procesy (nad 3000 K) s krátkou reakční dobou v mikrosekundách až milisekundách (Journet et al., 1997). Na druhé straně je katalytická CVD dlouhodobá reakce trvající minuty až hodiny a vyžadující střední teploty (700–1473 K) (Manawi et al., 2018).

Technika CVD pro hromadnou výrobu CNT využívá uhlovodík nebo jiné prekurzory obsahující uhlík v přítomnosti katalyzátoru a CNT se ukládají na substrát. Typická teplota v procesu CVD je normálně pod 1200 °C. Tento proces má výhodu ve výrobě CNT s požadovanou strukturou řízením jejich vyrovnání, délky, počtu stěn a průměru. Obecně je CVD považováno za nízkonákladový proces výroby CNT (Manawi et al., 2018), který lze optimalizovat změnou experimentálních parametrů, jako je tlak, katalyzátor, typ a rychlost proudění plynu, velikost zrna a další (Nag a Mukhopadhyay, 2022).

Nejběžnějším způsobem výroby CNT ve velkém měřítku je použití procesu s fluidním ložem. Základní kroky v potupu zahrnují disociaci molekul uhlovodíku, nasycení atomu uhlíku v nanočásticích katalyzátoru a vysrážení uhlíku z katalyzátoru za účelem vytvoření CNT. Výběr katalyzátoru je velmi důležitý při hromadné výrobě CNT, neboť jeho role v procesu je velice podstatná. Jako katalyzátor lze použít řadu přechodných kovů jako např. železo, molybden, kobalt, nikl atd. Nejvyužívanějším katalyzátorem při výrobě CNT je však Fe (Manawi et al., 2018). Ve studii Yao et. al. (Yao et al., 2008) bylo ukázáno použití CVD k výrobě CNT prostřednictvím katalytické depozice acetyleny a železa nanesených na mezoporézní oxid křemičitý. Výsledné CNT se skládaly z aerogelového nosiče, částic katalyzátoru a amorfního uhlíku jako nečistot, které byly odstraněny promytím kyselinou s následnou oxidací ve zředěném vzduchu. Vyčištěný produkt obsahoval více než 95 % CNT (Nag a Mukhopadhyay, 2022). Tato metoda však nevyžaduje žádné čištění, pokud není třeba odstranit kov katalyzátoru (Manawi et al., 2018).

### **3.1.2.2 Syntéza pomocí obloukového výboje**

Ačkoli výzkumníci získali CNT s optimalizovanějšími charakteristikami pomocí CVD ve srovnání s metodou obloukového výboje, tato metoda byla nejprimitivnější technikou pro vytvoření CNT. Také to byly první techniky, které byly použity pro vytvoření prvních MWCNT. Mezi výhody patří její jednoduchost, jelikož se jedná o nízkonákladový proces, který neklade žádné požadavky na víceřadové čištění (Sari et al., 2018). Nevýhodou této

metody může být použití nízkého tlaku a vzácných plynů (Ishigami et al., 2000). CNT produkované obloukovým výbojem jsou však vysoce krystalické a mají méně defektů než nanotrubičky vyrobené jinými metodami (Saravanan et al., 2010). Nejčastějšími nečistotami jsou NPs grafitu, amorfni uhlík, fulleren, katalytické částice a kovové částice, které jsou buď smíchány s nanotrubičkami, nebo jsou uchyceny na vnějším povrchu. Různé metody, jako je tepelná nebo chemická oxidace, sonikace a žihání, mohou snížit množství nečistot, amorfniho uhlíku a uhlíkových NPs (Sari et al., 2018).

Obloukový výboj je generován mezi dvěma grafitovými elektrodami umístěnými proti sobě v hlavní vzduchotěsné komoře stroje pod parciálním tlakem helia nebo argonu (600 mbar). Elektrický výboj, který je výsledkem, zvyšuje teplotu až na 6000 °C. Teplota je poté dostatečně vysoká na to, aby uhlík obsažený v grafitu sublimoval. Během sublimace mohou zúčastněné vysoké energie oddělit jednotlivé atomy uhlíku z plazmy tvořící pevnou látku. Tyto atomy se pohybují směrem k chladnějším zónám v komoře, což umožňuje hromadění nanotrubiček na katodě. Ve skutečnosti plyn v komoře ionizuje na elektrony. Elektrony dopadnou na anodu vysokou rychlostí a uhlíkový materiál dosáhne tak vysoké teploty, že dojde k vytvoření uhlíkové páry, a poté se uhlík ionizuje za vzniku uhlíkových iontů (Yousef et al., 2012). Typ CNT, který se vytvoří, závisí rozhodujícím způsobem na přítomnosti kovových katalyzátorů. Pokud jsou do cílového grafitu zavedena malá množství přechodných kovů, jako je Fe, Co, Ni nebo Y, pak jsou dominantním produktem SWCNT (Karimi et al., 2015).

### **3.1.2.3 Syntéza pomocí Laserové ablace**

Laserové zpracování je technologie, která využívá interakci mezi laserem a materiálem k řezání, svařování, povrchové úpravě, mikroobrábění atd. Fotony ultrafialového světla s nízkou vlnovou délkou mají vysokou energii, což umožňuje jednotlivým fotonům s vysokou energií přímo narušit chemické vazby materiálů. Laser dokáže zpracovávat struktury CNT v mikrometrových nebo dokonce nanometrových rozměrech, které mají vysoký a stabilní proud při nízké intenzitě elektrického pole. Jedná se o vysoce nelineární proces, který umožňuje zpracovávat materiály s ostrými hranami (Zhao et al., 2021).

Právě proto je třetí nejoblíbenější technikou zpracování prekurzorů CNT na bázi uhlíku laserová ablace (Mehrabi et al., 2017). Tato technika byla provedena pomocí několika různých typů laserů. Kvalita CNT byla zkoumána s ohledem na určité parametry, jako je výkon laseru, pulz na index, frekvence a rychlost. Obecně se zdroj uhlíku, jako je grafit, odpařuje pomocí laserového systému za podmínek řízené teploty, tlaku a plynného prostředí

(Yuge et al., 2012). Metodou laserové ablace lze dosáhnout SWCNT asi s 90% čistotou a s lepší strukturou než ty, které se vyrábějí v obloukovém procesu. Laserová ablace může produkovat malé množství CNT, ale s vysokou čistotou, a naopak, metoda obloukového výboje může produkovat velké množství CNT, ale s významnými nečistotami (Mase et al., 2001).

### **3.2 Nanotrubičky nitridu boru**

Nanotrubičky nitridu boru (BNNT) byly poprvé předpovězeny v roce 1994 a experimentálně realizovány v následujícím roce 1995. BNNT si získaly významnou pozornost zejména v posledních letech díky svým zajímavým vlastnostem, které postrádají ostatní NMs (Lee et al., 2016). BNNT mají podobnou tubulární strukturu jako CNT, ve které jsou atomy uhlíku zcela nahrazeny atomy boru a dusíku. Tyto atomy jsou uspořádány v hexagonální mřížce (Kim et al., 2018). Elektronová hustota boru je přitahována k atomům dusíku díky své vyšší elektronegativitě. Vazby B–N mají tedy částečně iontový charakter, což způsobuje mezeru mezi valenčním a vodivostním pásem. Vazby B–N se proto chovají jako polovodič se širokým pásmem (Kalay et al., 2015). Není překvapením, že díky podobnosti s CNT sdílejí BNNT i CNT některé identické vnitřní charakteristiky, jako jsou vynikající mechanické vlastnosti a vysoká tepelná vodivost. Mimořádné, a přesto i některé odlišné vlastnosti BNNT vyvolaly velký zájem o základní studie vlastností a aplikací tohoto nového materiálu. Na rozdíl od výzkumu v oblasti CNT, který byl dobře zaveden v průběhu desetiletí, je studie BNNT stále nezralá a mnohem méně rozvinutá než uhlíkový protějšek (Kim et al., 2018). Vzhledem k jejich vysoce hydrofobnímu charakteru byly BNNT použity k přípravě super hydrofobních povrchů. Hydrofobní povrch byl připraven syntézou BNNT na povrchu substrátu z nerezové oceli, kde bylo zjištěno, že kontaktní úhel je větší než 170°. Původ těchto super hydrofobních vlastností byl připisován povrchové morfologii a adsorpční kapacitě BNNT pro molekuly ve vzduchu. BNNT byly také použity k přípravě kompozitních materiálů ke zlepšení jejich fyzikálních vlastností (Kalay et al., 2015).

BNNT byl syntetizován hlavně metodami, které byly dobře zdokumentovány dříve pro výrobu CNT, včetně obloukového výboje, CVD, laserové ablace atd. Základním faktorem zajišťujícím efektivní proces syntézy BNNT je rychlost přeměny ze zdrojů boru a dusíku na radikály. Každá výrobní technika byla vědecky vyvinuta v různých a odlišných strategiích, zahrnujících specifické prekurzory, podmínky a vybavení pro podporu růstu BNNT (Kim et al., 2018).



Nitrid boru, ze kterého se vyrábějí BNNT, má strukturní charakteristiky podobné uhlíkovým 2D materiálům (GF a jeho deriváty). Jeho vrstvená struktura byla využita k vytvoření různých nanostruktur, jako jsou nanotrubičky, nanočástice a nanovrstvy. Na rozdíl od GF a dalších 2D materiálů na bázi uhlíku má nitrid boru vyšší chemickou stabilitu. Díky těmto vlastnostem se nitrid boru používá v různých aplikacích jako plnivo, mazivo a jako ochranný povlak. Nitrid boru se také do určité míry používá v biomedicínské oblasti, ale mnohem méně než jiné 2D uhlíkové materiály (Merlo et al., 2018).

BNNT byly nejprve syntetizovány metodou obloukového výboje s vnitřním průměrem 1–3 nm a délkou 200 nm. Obloukový výboj byl generován mezi šestihrannou wolframovou tyčí naplněnou BN jako anodou a chlazenou měděnou elektrodou jako katodou (Kalay et al., 2015). Kvůli izolační vlastnosti tyče BN, která může bránit procesu vybíjení, byla později nahrazena vysoce vodivými chemickými sloučeninami obsahujícími bor a nikl, nebo směsí kobaltu a dusíku. Dusík byl použit jako okolní plyn. Tím se nejen zvýšila vodivost anody, ale také byla poskytnuta katalytická aktivita směrem k růstu BNNT (Kim et al., 2018). CVD je dobře známá, ekonomická metoda, která se široce používá pro syntézu CNT a BNNT, protože generuje produkty s vysokým výtěžkem a vyžaduje jednoduché experimentální postupy (Kalay et al., 2015). Spolu s borem bylo zjištěno, že oxidy kovů (např. MgO, FeO) jsou účinnými prekurzory pro produkci reaktivních par oxidu boritého pro reakci v prostředí amoniaku. K zahájení chemické reakce při 1300 °C pro syntézu BNNT byla použita indukční ohřívací komora a metoda CVD. Tato technika byla dále vylepšena, a proto bylo možné produkovat BNNT s přiměřeně nízkým obsahem nečistot. Tento proces byl velmi úspěšný pro produkci BNNT v gramovém množství v laboratorním prostředí. Vzhledem k dostupnosti těchto BNNT, vyrobených pomocí CVD, výzkumná skupina dále zahájila další související práce, jako je čištění, disperze a funkcionalizace, doping, polymerní kompozity atd. (Lee et al., 2016).

### **3.3 Nanotrubičky oxidu titaničitého**

Mezi různými biomateriály používanými v materiálech implantátů v ortopedii a stomatologii v poslední době přitahují pozornost titan a jeho slitiny. Ve srovnání s jinými biokovy používanými jako implantáty poskytují titan a jeho slitiny biokompatibilitu nízkého uvolňování iontů, vynikající odolnosti proti korozi, vysokou tvrdost, nízký modul pružnosti a nízkou hustotu. Biokompatibilita titanu je výsledkem přítomnosti povrchové nativní oxidové vrstvy o tloušťce 2–5 nm, která přirozeně vzniká, když je titan vystaven

působení vzduchu. Tato nativní oxidová vrstva chrání materiál před korozí a činí jej bioinertním (Hamlekhan et al., 2014).

Výzkum nanotrubiček oxidu titaničitého (TNT) začal asi před 15 lety. Tento výzkum podnítily dřívější studie o CNT, které byly zaměřeny hlavně na zvýšení jejich adsorpčních vlastností. TNT byly použity úspěšně solárních článcích při pokusech zvýšit účinnost přeměny světla na elektřinu (Pichat, 2014). Zejména použití samostatně sestavených nanostruktur oxidu titaničitého našlo uplatnění také v různých oblastech funkčních biomedicínských aplikací, zejména díky vysoce efektivní povrchové ploše. Ve skutečnosti má extrémně účinná plocha povrchu vertikálně orientovaných TNT za následek vytvoření povrchové energie, což vede ke zvýšení počáteční adsorpce proteinů, která může zlepšit buněčné interakce (Lorenzetti et al., 2016).

TNT lze syntetizovat mnoha způsoby jako např. anodickou oxidací titanu, hydrotermální syntézou, sol-gelem, naočkovaným růstem, templátováním oxidu hlinitého, syntézou řízenou povrchově aktivní látkou, chemickou depozicí par atd. (Pichat, 2014). Anodická oxidace titanu je relativně jednoduchý a účinný proces pro výrobu dobře zarovnaných a vysoce uspořádaných TNT (Galstyan et al., 2013). Tato oxidace umožňuje získat TNT, které lze přímo použít v solárních článcích citlivých na barvivo, a to z důvodu, že jsou TNT připojeny k titanové fólii, na které jsou vytvořeny. Tato syntéza se provádí v konvenčním elektrochemickém článku. Hlavními parametry jsou napětí a použitý elektrolyt. Může být použito několik různých napětí postupně nebo může být napětí střídavě zvyšováno. Jako elektrolyt se často používá vodný HF nebo  $\text{NH}_4\text{F}$ . Můžeme také použít organická rozpouštědla, hlavně tedy alkoholy (Pichat, 2014).

Příprava TNT hydrotermální syntézou se obvykle provádí v autoklávu. Autokláv obsahuje nanočástice  $\text{TiO}_2$ , které se nacházejí ve vodném roztoku NaOH při teplotě nad bodem varu vody po dobu několika hodin. Tento proces rozbije některé vazby Ti-O-Ti a vytvoří vazby Ti-O-Na. Následné promytí, obvykle vodným roztokem HCl, odstraní  $\text{Na}^+$  ionty a vytvoří TNT (Pichat, 2014).

## 4. Vícerozměrné nanomateriály

2D materiály jako grafen, oxidy přechodných kovů a další byly v posledních několika desetiletích široce studovány. Ve srovnání s přechodnými 0D a 1D nanomateriály vykazovaly 2D materiály jedinečné vlastnosti a výhody díky tloušťce atomové vrstvy, velkému povrchu, vysoké elektrické vodivosti a silné mechanické pevnosti. Právě tyto vlastnosti z nich dělají vynikající kandidáty pro návrh a výrobu multifunkčních NMs pro aplikace v energetice, životním prostředí, tkáňovém inženýrství, biomedicině, elektronických zařízeních, jako senzory, a mnoho dalších (Wan et al., 2021). 2D NMs jsou atomicky tenké listy materiálů s jedním rozměrem v nanoměřítku. Další dva rozměry se již ve velikosti nanoměřítku nacházet nemusí. Do skupiny 2D NMs můžeme zařadit nanofilmy a nanovrstvy, které vykazují tvary destiček. Nejnovější zástupce 2D NMs je grafen, který obsahuje uhlíkovou vrstvu (Asha a Narain, 2020).

3D nanomateriály, jsou materiály jejichž rozměr již nemusí splňovat rozměry v nanoměřítku. Tyto materiály mají tři libovolné rozměry nad 100 nm. Nicméně 3D nanomateriály mají nanokrystalickou strukturu, která zahrnuje přítomnost prvků v nanoměřítku. Také mohou obsahovat dispergované nanočástice, nanodrátky a nanotrubičky (Asha a Narain, 2020).

### 4.1 Grafen

GF je jedním z nejpoužívanějších 2D uhlíkových nanomateriálů v biomedicínských aplikacích (Geim a Novoselov, 2007). Od své izolace v roce 2004 si GF a jeho deriváty získaly značnou pozornost v chemii, fyzice a biomedicině (Novoselov et al., 2004). Jeho charakteristická struktura obsahuje jednotné 2D uspořádání atomů uhlíku připomínající včelí plástve (Obr. 3) (Alagarsamy et al., 2021). GF s aromatickou strukturou má v rovině mnoho vazeb uhlík-uhlík, které poskytují volné  $\pi$  elektrony a reaktivní místa pro povrchové reakce (Allen et al., 2010). Molekulární struktura GF může být chemicky modifikována, což umožňuje připojení různých požadovaných molekul. Tato funkce podpořila vývoj vysoce výkonných biosenzorů. Schopnost připojit více molekul na GF nanonosič pro onkology znamená příležitost dodávat léky, či nukleové kyseliny do konkrétní tkáně nebo definovaného typu buněk. Kromě toho mohou být elektrické a optické vlastnosti takových nosičů využity ke sledování dodávání genů nebo léků a k aplikaci tepelné terapie na konkrétní omezeně dostupná místa na těle (Pryzhkova, 2013).

Fyzikální vlastnosti GF vyplývají z dlouhých  $\pi$ -konjugačních vazeb, které poskytují vynikající mechanické, tepelné a elektrické vlastnosti. GF má tloušťku 1 atomu s modulem pružnosti v rozmezí od 0,5 do 1 TPa, zatímco konečná pevnost v tahu činí 130 GPa. Slabá Van Der Waalsova přitažlivá síla, která je mezi různými vrstvami GF, jej činí měkkým a lehkým, což zvyšuje jeho potenciál pro použití v lékařské nanotechnologii (Alagarsamy et al., 2021).

GF lze syntetizovat pomocí různých fyzikálních a chemických metod (Lalwani et al., 2016). Tyto metody jsou označovány jako metody „*zdola nahoru*“ nebo „*shora dolů*“. Metoda „*zdola nahoru*“ zahrnuje především chemickou depozici z plynné fáze, organickou syntézu a solvotermální syntézu. Metoda „*shora dolů*“ zahrnuje především mechanické, fyzikální a chemické metody exfoliace (Lin et al., 2016). V závislosti na metodě syntézy může GF existovat v různých morfologiích, jako jsou listy, destičky, stuhy, cibule a kvantové tečky. Nedotčený GF je nepolární a velmi hydrofobní, z tohoto důvodu je třeba jej oxidovat, aby se zlepšila jeho schopnost disperze ve vodném prostředí (Lalwani et al., 2016).

## 4.2 Lipozomy

Během posledního desetiletí došlo k významnému pokroku v oblasti lipozomů a nanomedicíny. Lipozomy jsou syntetické vezikulární nosiče, které jsou vyrobeny z jedné nebo více fosfolipidových dvojvrstev (Najafi-Hajivar et al., 2016). Lipozomy mohou být jednovrstvé nebo vícevrstvé a mají velikosti v rozmezí od 30 nm do několika  $\mu\text{m}$  (Kyriakides et al., 2021). Vzhledem k důležitosti lipozomálního systému při podávání léčiv je věnována zvláštní pozornost jejich interakci s biologickým systémem. Distribuce, velikost, povrchový náboj a agregace nanosystémů byly navrženy k překonání nežádoucích imunitních interakcí a nepříznivých účinků těchto systémů (Najafi-Hajivar et al., 2016).

První lipozomová reakce ve studii na lidech byla hlášena, když byla pacientům s rakovinou aplikována vysoká dávka lipozomů v roce 1986 (Najafi-Hajivar et al., 2016). Nejoblíbenější metoda syntézy je v dnešní době sonikace suspenze obsahující lipidové membrány za účelem narušení vrstev a umožnění samosestavení do menších váček. Vícevrstvou lipozomální suspenzi lze také přefiltrovat přes polykarbonátový filtr, kdy se získají částice s průměrem blízkým velikosti pórů filtru. Další populární metodou je metoda ohřevu, jelikož nezahrnuje žádné toxické složky. Ve vodě rozpustná léčiva mohou být rozpuštěna ve vodné suspenzi použité k dispergování dvojvrstvy, přičemž následně dojde k zachycení molekuly léčiva ve vodném jádru lipozomu (Kyriakides et al., 2021).

## 5. Toxicita uhlíkových nanotrubiček

Uhlíkové nanotrubičky jsou velkým příslibem pro vytváření nových a lepších produktů, avšak jejich potenciální nepříznivý vliv na lidské zdraví je v tomto ohledu hlavním problémem. K expozici člověka CNT dochází primárně prostřednictvím inhalace a dermálního kontaktu zejména během výrobních a manipulačních procesů. Četné *in vivo* studie prokázaly potenciální plicní a dermální rizika spojená s expozicí CNT. Zatímco *in vitro* studie hodnotily účinky expozice CNT na různé buněčné chování. Potenciální zdravotní rizika expozice CNT byla zvýšena zejména z důvodu jejich malé velikosti. Nanostruktura uhlíkových nanotrubiček je činí reaktivnějšími a toxičtějšími než větší částice. Vysoký poměr stran a způsob expozice je podobný azbestovým vláknům, což přispívá ke zvýšení obav z jejich potenciální toxicity. V neposlední řadě je riziková i jejich grafitická struktura, u které se očekává vysoká trvanlivost a bioperzistence (Luanpitpong et al., 2014). Kromě *in vitro* studií k prozkoumání vlivu různých faktorů na toxicitu CNT hrají studie *in vivo* také hlavní roli při zkoumání toxicity CNT. Studie *in vivo* jsou upřednostňovány před studiemi *in vitro*, jelikož zohledňují celkovou reakci organismu na potenciální nanotoxicitu. Nedávné *in vivo* toxikologické studie Madani et al. se zaměřením na mnohočetné orgánové systémy naznačují, že CNT iniciují toxickou reakci v mnohočetných orgánových systémech (Madani et al., 2013).

Mezi způsoby podávání CNT patří orální podání, intravenózní injekce, inhalace, transdermální podání, subkutánní injekce a intraperitoneální podání. Ačkoli první čtyři metody jsou nejběžnější pro použití u lidí, většina dosud shromážděných údajů *in vivo* je založena na intratracheální instilaci a inhalaci u hlodavců. Ačkoli zatím nebyl definován nejtoxičtější způsob vstupu CNT do těla, některé studie ukázaly, že intravenózní injekce, orální a dermální podání CNT mají za následek pouze mírný zánět, zatímco inhalace CNT může vést k těžkému zánětu (Foldvari a Bagonluri, 2008). Při počáteční expozici CNT, mohou způsobovat nemoci jako je astma, bronchitida a rozedma plic. Při dlouhodobé expozici CNT způsobují rakovinu plic. CNT ovlivňují ale také ostatní části těla, jako je například gastrointestinální trakt, a to tím, že mohou způsobit Crohnovu chorobu a rakovinu tlustého střeva. V oběhovém systému způsobují srážení krve a srdeční onemocnění. CNT se také hromadí v játrech a slezině (Jain a Tiwari, 2021).

Je důležité si uvědomit, že ne všechny nanomateriály jsou toxické. Jak již bylo zmíněno dříve, změna tvaru, velikosti a složení může změnit toxicitu CNT. Nicméně podobnost jehlovitého tvaru vláken CNT s částicemi azbestu přiměly výzkumníky k dalšímu

zkoumání nanotoxicity CNT na dýchací systém. Azbestová vlákna jsou dlouhé tenké krystaly, které mohou být díky své nízké hmotnosti vdechnuty do plic a způsobit jejich poškození. Plicní toxicitou na po expozici CNT zkoumali i již zmíněná studie Madani et al., 2013. Další studie pak poskytla důkazy o tom, že dlouhé vláknité MWCNT vykazují dokonce větší tendenci k indukci zánětu a fibróze v peritoneální dutině než dlouhá azbestová vlákna (Fujita et al., 2015).

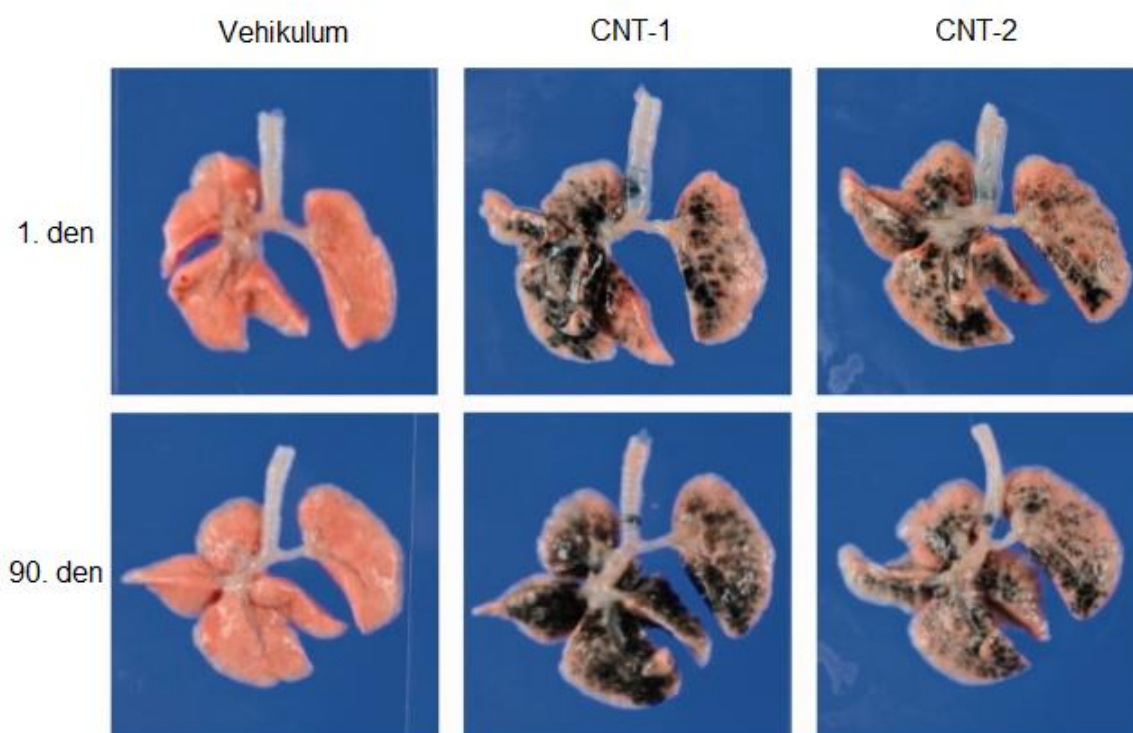
Navzdory různým vládním organizacím, které monitorují expozici CNT u pracovníků, kteří běžně přicházejí do styku s těmito materiály, stále neexistují žádné standardy pro definování úrovně rizika expozice CNT. Metoda monitorování CNT v pracovním prostředí zahrnuje pouze měření elementárního uhlíku, u kterého je doporučená úroveň expozice  $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ . Tento limit, jehož hodnota nemusí znamenat bezpečnost expozice, byl často překročen a naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí od  $2,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$  do  $45 \mu\text{g}/\text{m}^3$  v závislosti na konkrétním analyzovaném pracovišti (Barbarino a Giordano, 2021).

## 5.1 Plicní toxicita uhlíkových nanotrubiček

Hlavním cílovým orgánem expozice CNT jsou plíce prostřednictvím inhalace (Luanpitpong et al., 2014). Materiály jsou vdechovány do plic a fagocytovány alveolárními makrofágy, které uvolňují zánětlivé cytokiny a chemokiny, což u opakované expozice dýchacích materiálů v plicích vyvolává přetrvávající zánět a poškození. To poté vede k plicní fibróze a rakovině dýchacích cest v důsledku přebytných nebo abnormálních reparačních procesů (Kobayashi et al., 2017). Epidemiologické studie z USA uvádějí významné hladiny CNT ve vzduchu v několika typech pracovního prostředí, kde se vyrábějí nebo používají CNT. Studie zkoumala celkem 108 účastníků z 12 zařízení po celé USA. Krevní vzorky těchto pracovníků měly zvýšené hladiny časných biomarkerů toxicity souvisejících právě s oxidačním stresem a plicní fibrózou (Chen et al., 2019).

Délka částic může ovlivnit pronikání CNT do intersticia nebo pleury plic. Řada studií prezentovala účinky délky CNT na zánět a tvorbu granulomů, cytotoxicitu, oxidační stres a na funkci epitelální bariéry. Mimo to může délka ovlivnit i zadržování a odstraňování CNT z plic. V pleurální dutině plic následně dochází k akutnímu zánětu a progresivní fibróze. Tloušťka CNT přispívá k jejich zánětlivosti a karcinogenitě v mezoteliálních buňkách, přičemž tenčí MWCNT způsobují výraznější efekt (Manke et al., 2013). Pitva potvrdila, že agregáty SWCNT, které se nejčastěji projevují vznikem černých, hnědých nebo šedých skvrn, byly přítomny v preparovaných plicích ze skupin CNT-1 (kratší CNT)

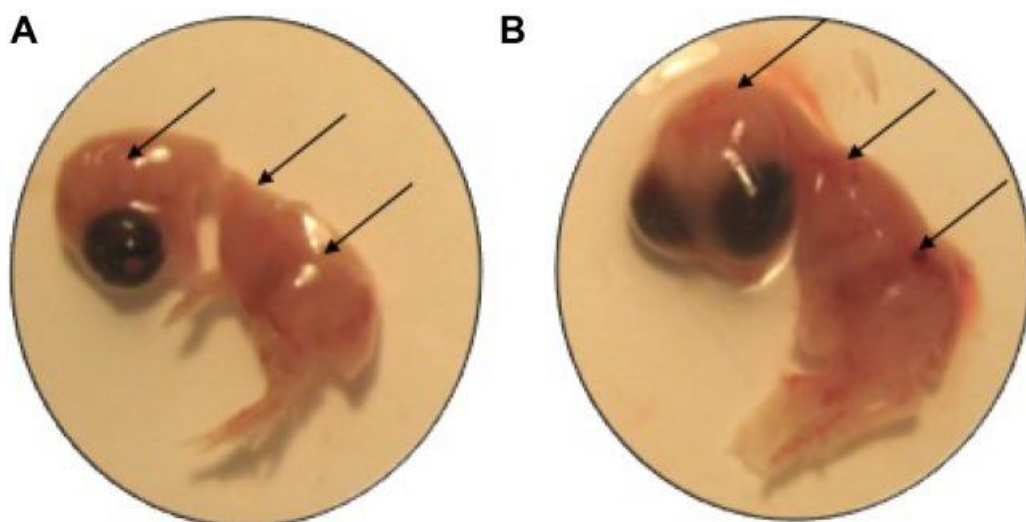
nebo CNT-2 (delší CNT) během období pozorování, zatímco v kontrolní skupině s vehikulem nebyly pozorovány žádné zjevné morfologické změny (Obr. 7) (Fujita et al., 2015).



*Obrázek 7: Znárodnění plic krys po inhalaci uhlíkových nanotrubic (CNT-1, CNT-2) po dobu 90 dní. CNT-1 (použití kratších uhlíkových nanotrubiček), CNT-2 (použití delších uhlíkových nanotrubiček); (upraveno dle Fujita et al., 2015).*

Změny ve funkci respirační bariéry jsou zvláště důležité pro toxicitu vyvolanou CNT, protože respirační epitelální buňky představují ochrannou bariéru proti vdechovaným částicím. Epitelální buňky jsou zodpovědné za tvorbu a udržování bariéry, umožňují pouze polarizované sekreční funkce a brání přístupu ke xenobiotikům a patogenům. V důsledku toho hraje funkce respirační bariéry klíčovou roli v nebezpečí inhalace související s CNT (Manke et al., 2013).

SWCNT v některých případech inhibují nebo vyvolávají buněčnou proliferaci a apoptózu, prostřednictvím několika důležitých kontrolních genů a apoptózy buněk (Moustafa et al., 2016). Tyto studie naznačují, že SWCNT mohou vyvolat toxicitu v bronchiálních tkáních a pravděpodobně i v dalších orgánových tkáních exponovaných organismů. Paralelně bylo prokázáno několika výzkumy, že SWCNT mohou ovlivnit embryo exponovaných organismů. V provedené studii bylo embryo vystavené SWCNT menší v porovnání s kontrolou. SWCNT také inhibovali vývoj krevních cév u embryí ošetřených SWCNT ve srovnání s kontrolou (Obr. 8) (Moustafa et al., 2016).



Obrázek 8: Působení jednotěnných uhlíkových nanotrubiček (SWCNT) na kuřecí embrya, 12 dní inkubace. A – embryo vystavené SWCNT; B – kontrola, embryo nebylo vystaveno SWCNT; šípky poukazují na vývoj krevních cév u embryí ošetřených a neošetřených SWCNT; (upraveno dle Moustafa et al., 2016).

Vylučování CNT je řízeno řadou parametrů, jako je funkcionalizace, rozptyl a rozsah. Tvar a velikost jsou hlavním faktorem, který ovlivňuje vylučování CNT. Menší CNT s nízkým poměrem stran jsou pohlceny makrofágy. Při větší velikosti a poměru stran je obtížné CNT z organismu odstranit, jelikož se shromažďují ve tkáních, kde podporují karcinogenezi. Pokud ovšem disponují větší rozpustností je možné CNT vylučovat močí, a tak se vyhnout jejich hromadění. Svazky CNT při nadměrné reaktivitě mohou způsobit zánět imunitního systému, což také vede k rozvoji rakoviny (Jain a Tiwari, 2021).

### 5.1.1 Zánět

Při vdechování CNT je běžně pozorován zánět. Charakterizace zánětlivého procesu po expozici CNT je nezbytná, protože je zánět spojen s dalšími patologickými poruchami, jako je fibróza a rakovina. Vzhledem k souhře mezi zánětlivou odpovědí a generací reaktivních forem kyslíku (ROS) jsou oba účinky úzce propojeny a jeden vede k druhému. Ukládání částic v plicích způsobuje rozšíření zánětlivých buněk, které generují ROS (Manke et al., 2013). Během zánětlivého procesu bylo zjištěno, že *cross-talk* mezi zánětlivými buňkami a poškozenými alveolárními buňkami přispívá k patogenezi mezoteliomu a také k dalším respiračním onemocněním, jako je plicní fibróza a rakovina plic (Barbarino a Giordano, 2021).

Podobnost mezi MWCNT a azbestem v důsledku jejich zánětlivého a oxidačního



potenciálu byla nedávno prokázána *in vivo*. Expozice dlouhých vláken vedla k rozvoji a progresi zánětlivých lézí podél pleury, ke zvýšení markerů oxidačního stresu a genotoxicitě. Všechna exponovaná zvířata vykazovala pleurální léze, tedy mezoteliální hyperplazii, fibrózu a chronický zánět (Barbarino a Giordano, 2021). Vdechovaná vlákna MWCNT jsou vyloučena z plic mukociliárním eskalátorem tracheobronchiálního epitelu. Také se mohou translokovat z plic do lymfatické uzliny a mnoha dalších orgánů včetně mozku a pleurální dutiny. Měření retence MWCNT v orgánech, včetně plic, je důležité pro interpretaci toxicity v důsledku inhalace MWCNT. K určení vztahu mezi dynamikou aerosolu uloženého MWCNT a lézemi indukovanými v plicích jsou nezbytná sekvenční měření plicní zátěže během inhalační expozice. Metoda stanovení zahrnuje navázání a adsorpci markeru benzoperylenu na CNT s jejich následnou desorpcí a měřením pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (Fukushima et al., 2018).

### 5.1.2 Oxidační stres

Jedním z nejčastěji uváděných koncových bodů toxicity je tvorba reaktivních forem kyslíku. Oxidační stres je nerovnováha mezi produkcí ROS a jejich eliminací obrannými systémy hostitele. Oxidační stres způsobuje poškození DNA, peroxidaci lipidů a aktivaci signálních sítí spojených se ztrátou buněčného růstu, fibrózou a karcinogenezí (Manke et al., 2013). Oxidační poškození DNA je často charakteristické pro chronický zánět, který je základem mezoteliální transformace (Barbarino a Giordano, 2021). Hlavním zdrojem a cílem oxidačního stresu jsou mitochondrie, které nejen produkují ATP, ale také obsahují několik antivirových signálních proteinů kritických pro vrozenou imunitní signalizaci (Chen et al., 2019).

Po expozici CNT jsou ROS indukovány v buňce, externě nebo nepřímo prostřednictvím účinku internalizovaných CNT na mitochondriální dýchání. Mezi kritické faktory, které řídí tvorbu ROS indukovanou CNT, patří aktivní redoxní cyklování na povrchu NPs, oxidační funkční skupiny na NPs a interakce neutrofilů a makrofágů, zejména v plicích, kde je bohatá zásoba producentů ROS. Oxidační stres vyvolaný CNT je následován především zánětem, poškozením buněk, apoptózou a aktivací buněčných signálních drah (Manke et al., 2013).

Expozice MWCNT indukuje produkci ROS v různých buněčných liniích i *in vivo*. Podobně jako u MWCNT mohou tvorbu ROS indukovat i SWCNT ve více buněčných liniích. Tato zjištění naznačují, že oxidační stres vyvolaný CNT může sloužit jako důležitý přechodný cíl při hodnocení plicní toxicity CNT (Manke et al., 2013).

### 5.1.3 Fibróza

Plicní fibrózu může vyvolat celá řada činitelů včetně vláknitých nanočástic, kovů, léků a mikrobů. Během rozvoje fibrózy dochází k poškození epiteliálních buněk, infiltraci zánětlivých buněk, proliferaci a transformaci fibroblastů na myofibroblasty (Manke et al., 2013). Fibróza plic se projevuje nadměrným ukládáním kolagenových vláken v extracelulární matrix a remodelací alveolárního parenchymu, což vede k progresivní ztrátě funkce plic. Zahrnuje první akutní zánětlivou fázi, kdy zánětlivé buňky infiltrují tkáň, vylučují prozánětlivé mediátory jako jsou cytokiny TNF $\alpha$ , IL1 $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL6, chemokin CCL2 a fibrogenní růstové faktory TGF- $\beta$ 1 a PDGF-A, přičemž se kolagen ukládá v extracelulární matrix. Po této časně reakci jsou detekovatelná granulomatózní fibrotická ložiska kolem lézí. Aktivace fibroblastů, tvorba myofibroblastů a přechod z epitelu na mezenchym alveolárních buněk typu II jsou hnacími silami tohoto procesu (Barbarino a Giordano, 2021). Bioperzistence CNT je kritická při určování koncových bodů plicní toxicity. Faktory jako disperze a agregace mohou určovat perzistenci CNT v plicích. Předchozí studie ukázaly, že distribuce CNT v plicích může ovlivnit stupeň fibrózy. Bylo zjištěno, že špatně rozptýlené SWCNT jsou omezeny na proximální alveolární oblasti, což vede ke vzniku granulomatózních lézí, zatímco dobře rozptýlené CNT se ukládají hlouběji do alveolárních intersticiálních a pleurálních oblastí plic a způsobují parenchymální granulomy a intersticiální fibrózu (Manke et al., 2013).

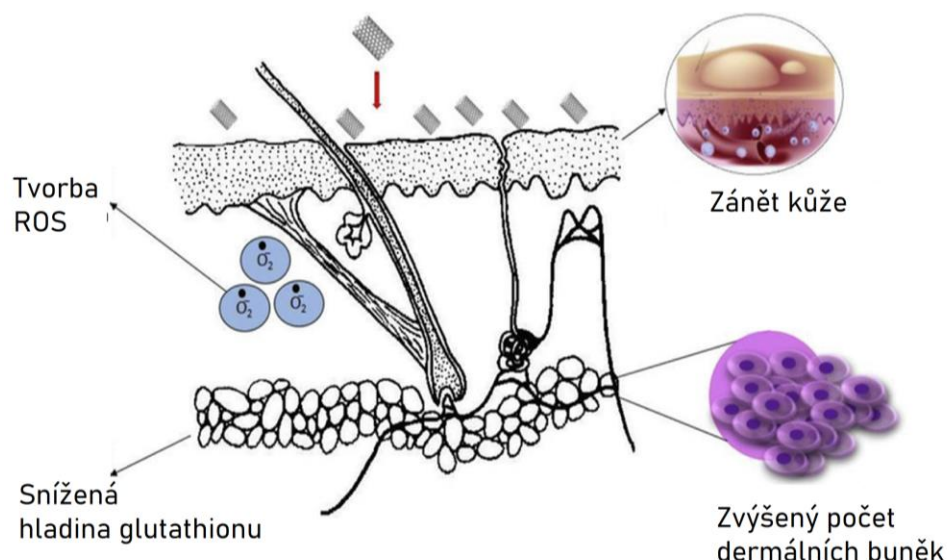
Není známo, zda plicní fibróza a faktory související s fibrózou způsobené expozicí CNT přímo ovlivňují transformaci a proliferaci normálních epiteliálních buněk na rakovinné buňky. Nicméně studie Chang et al. uvádí, že plicní fibróza indukovaná SWCNT u myší byla spojena s epiteliálně-mezenchymálním přechodem, konkrétně fibrózou odvozenou z epiteliálních buněk s funkcí produkce kolagenu (Chang et al., 2011). Plicní fibróza, jako je idiopatická plicní fibróza, je doprovázena rakovinou plic s vysokou frekvencí. Při chronických inhalačních studiích azbestu se vlákna, která vyvolala plicní fibrózu, vyvinula v plicní nádor (Kobayashi et al., 2017). O riziku a možnosti fibrogenní odpovědi po expozici CNT u stavů s již existujícím zánětem bylo popsáno jen málo. U myší s předchozí bakteriální infekcí podporuje aspirace SWCNT zánětlivou odpověď, syntézu kolagenu, snižuje fagocytózu bakterií pomocí makrofágů a bakteriální clearance z plic, čímž zvyšuje náchylnost hostitele k plicní fibróze (Manke et al., 2013).

## 5.2 Dermální a oční toxicita uhlíkových nanotrubiček

Dermální depozice má potenciál být hlavní cestou expozice během výroby, použití a likvidace CNT. Bylo prokázáno, že vystavení sazí a umělým vláknům u lidí způsobuje podráždění kůže, hyperkeratózu, pruritus a dermatitidu (Murray et al., 2009). Informace o podráždění a senzibilizaci kůže a očí jsou základní součástí identifikace nebezpečných chemických látek. Studie podráždění kůže, očí a senzibilizace kůže jsou základními složkami minimálního souboru screeningu toxicity, který poskytuje základní charakterizaci potenciálních rizik nanomateriálů (Ema et al., 2011).

Oko je náchylné k řadě problémů a abnormalit. CNT po určité době expozice prokázaly toxické účinky na oči. V rámci testování akutního podráždění očí u králíků Ema et al. provedli experiment skládající se z různých typů SWCNT a MWCNT. Výsledek ukázal, že žádný z SWCNT nebyl toxický a pouze jeden z produktů MWCNT byl dráždivý pro oči. Produkt MWCNT způsobil mírný erytém za 24 hodin, ale ne za 72 hodin. Dále se projevilo zarudnutí spojivek a hyperémie krevních cév za 1 hodinu, ale ne za 24 hodin. Toto zjištění ukázalo, že pouze MWCNT a nikoli SWCNT se ukázaly jako mírně dráždivé pro oči (Ema et al., 2011).

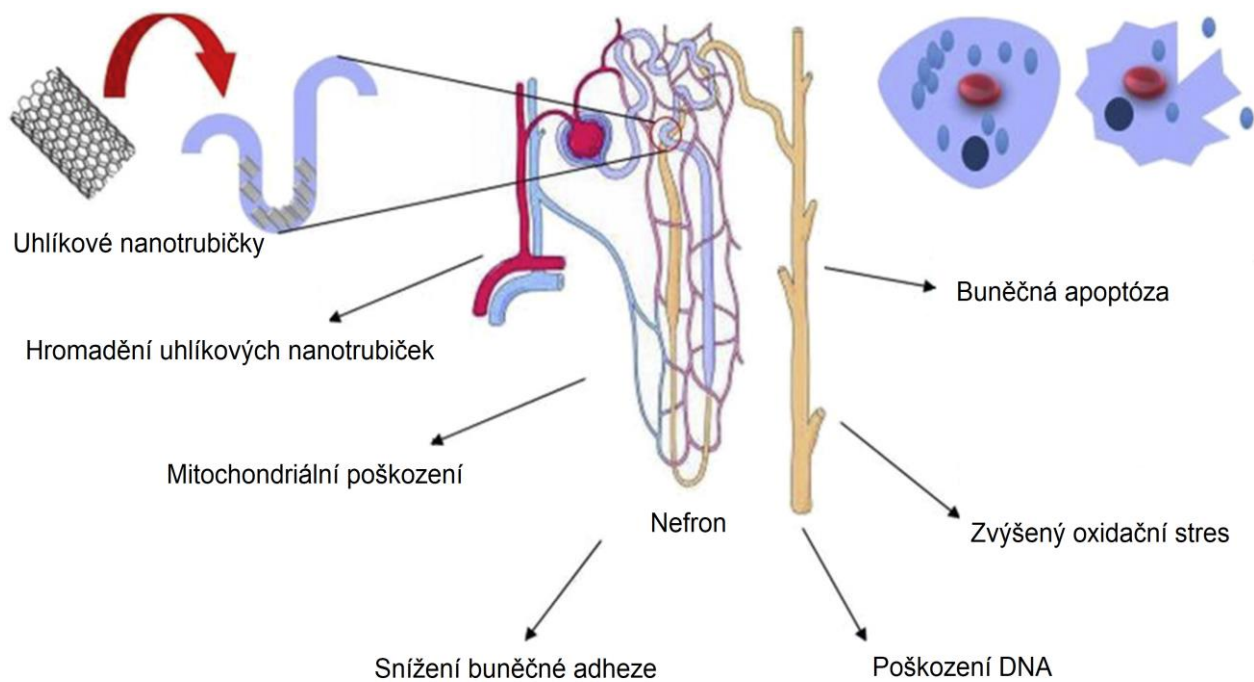
V experimentu prováděném za účelem studia účinků SWCNT *in vitro* a *in vivo* byly testovány dobře upravené umělé kožní tkáně a myší kůže. Výsledky ukázaly oxidační stres a zánět v kožních buňkách, což ukazuje na toxickou povahu SWCNT pro dermální tkáň. Když byly myšim injektovány surové SWCNT výsledky prokázaly vyčerpání glutathionu, oxidační stres, ztlustění kůže a zvýšení počtu dermálních buněk (Obr. 9). Speciální vlastnosti jako geometrie, povrchová funkcionalizace a tvar SWCNT mohly být příčinou, která vedla k dermální penetraci a dalšímu ukládání v kožních tkáních (Mohanta et al., 2019). V žádné skupině nebyly pozorovány klinické příznaky nebo změny v nárůstu tělesné hmotnosti. Po expozici SWCNT nebo MWCNT nebyl pozorován žádný erytém nebo edém ve skupinách léčených SWCNT nebo MWCNT a neléčených skupinách (Ema et al., 2011).



Obrázek 9: Účinky expozice uhlíkových nanotrubiček na dermální a podkožní orgány; (upraveno dle Mohanta et al., 2019).

### 5.3 Nefrotoxicita způsobená uhlíkovými nanotrubičkami

Protože ledviny hrají klíčovou roli v procesu vylučování tělesných toxinů, výzkumy naznačují, že jsou ohroženy akumulací CNT a mohou vést k renální toxicitě. Aby bylo možné prozkoumat biokompatibilitu SWCNT, byla analyzována interakce lidských embryonálních ledvinových buněk HEK-293 s SWCNT. Výsledky ukázaly zvýšení indukce buněčné apoptózy. Ošetřené buňky také vykazovaly sníženou schopnost buněčné adheze. CNT ovlivnily buněčný cyklus, což by mohlo být způsobeno poklesem počtu buněk v S-fázi, pravděpodobně v důsledku neregulované exprese P16, která inhibuje aktivitu CdK2, CdK4 a CdK6. V důsledku toho je buňkám zabráněno v přechodu do S-fáze a to vede k zástavě buněčného cyklu ve fázi G1. MWCNT byly testovány na buněčných liniích lidských embryonálních ledvin, což vedlo ke zvýšené produkci IL6 a IL8. To také vyvolalo poškození DNA v buňkách. Větší míra toxicity byla zaznamenána v případě buněčných liniích lidských embryonálních ledvin. MWCNT zvýšily oxidační stres vedoucí k poškození mitochondrií, čímž způsobily významnou cytotoxicitu (Mohanta et al., 2019).



Obrázek 10: Toxicita uhlíkových nanotrubiček na renální systém; (upraveno dle Mohanta et al., 2019).

#### 5.4 Kardiovaskulární toxicita uhlíkových nanotrubiček

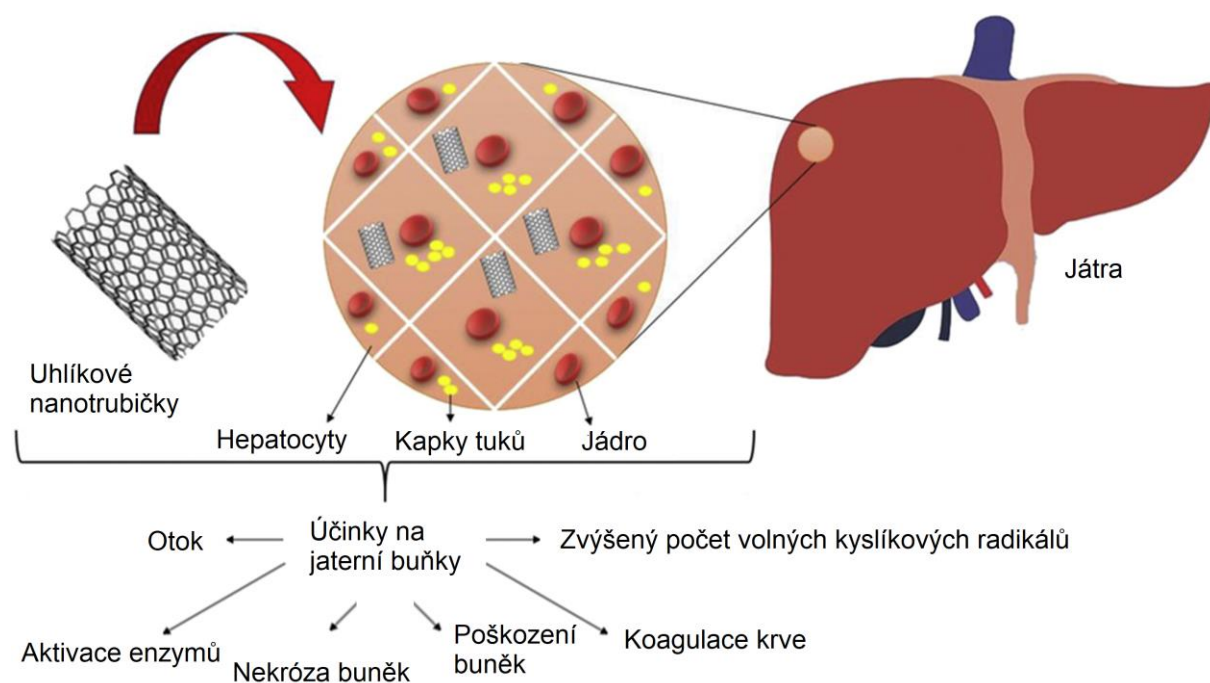
Kardiovaskulární toxicita je způsobena interakcí CNT s buňkami srdečního svalu. Interakce indukuje poškození srdce a způsobuje buněčnou proliferaci, poškození svalů, omezení průtoku krve a také vaskulární aterosklerózu. Hlavními příčinami, které byly interpretovány prostřednictvím různých experimentálních výzkumů, byly oxidační stres a zánět, které přispívají ke kardiovaskulární toxicitě (Mohanta et al., 2019).

Expozice dýchacích cest SWCNT způsobila nejen plicní toxicitu, ale také kardiovaskulární toxicitu u myši a potkanů. Snížená srdeční frekvence a počet baroreflexních sekvencí byly pozorovány u potkanů, kterým byly intratracheálně injektovány SWCNT. Bylo navrženo, že SWCNT ovlivňují regulaci autonomní kardiovaskulární kontroly a mění funkci baroreflexu. SWCNT měly vaskulární účinky související s oxidativními modifikacemi a zrychlenou tvorbou ateromu. SWCNT také ovlivnily regulaci autonomní kardiovaskulární kontroly a změnily funkci baroreflexu. Zvýšená rozpustnost, disperze a kovové nečistoty zesílily nepříznivé účinky SWCNT (Ema et al., 2016). Při výzkumu prováděném za účelem hodnocení buněčné proliferace a tvaru byly potkaní srdeční buňky H9c2 vystaveny vysoce purifikovanému SWCNT (0,2 mg/ml). Mikroskopická analýza prokázala vazbu CNT na buněčné membrány vedoucí k mírně konformační změně tvaru buňek. Experiment dospěl

k závěru, že dlouhodobá expozice CNT vyvolala zjevnou kardiovaskulární toxicitu (Mohanta et al., 2019).

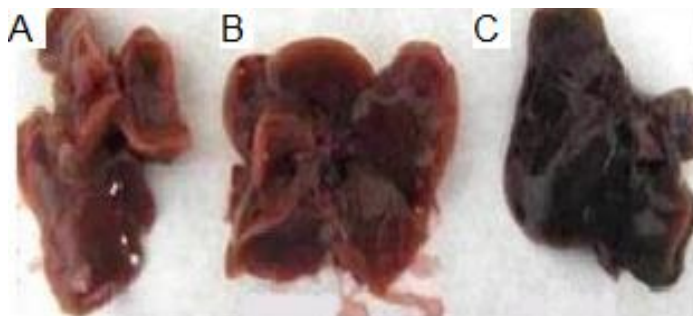
## 5.5 Hepatotoxicita uhlíkových nanotrubiček

Játra jsou jedním z důležitých orgánů v těle a hrají klíčovou roli v rámci celé řady metabolických pochodů. Jakékoli léčivo podávané tělu je tedy zpracováváno játry buď přímo, nebo nepřímo. Je tedy nezbytné studovat a analyzovat toxické účinky CNT na jaterní tkáň. Je důležité studovat, jak se tyto NPs metabolizované v našich bio-systémech rozkládají na jednodušší sloučeniny, které lze snadno z těla vyloučit. Bohužel kvůli nedostatku analytického vybavení je těžké tyto metabolické procesy určit nebo vysledovat. Různé analýzy *in vivo* skenováním pomocí transmisního elektronového mikroskopu a rastrovacího elektronového mikroskopu ukázaly akumulaci CNT v jaterních buňkách (Davern, 2012). Pro histopatologická pozorování byla zvířata usmrcena a byla jim vyjmuta játra. Tkáň byla řádně omyta, fixována v Bouinově roztoku a zalita v parafínu. Po rutinním zpracování byly nařezány parafínové řezy o tloušťce 5  $\mu\text{m}$  a kontrastně obarveny hematoxylinem-eosinem pro cytoplazmatický kontrast. Histopatologické změny v myších játrech vyvolané MWCNT zahrnovaly poraněné makrofágy, nespecifický zánět, bodovou nekrózu a krevní koagulaci (Obr. 11) (Awasthi et al., 2013).



Obrázek 11: Účinky uhlíkových nanotrubiček na jaterní buňky; (upraveno dle Mohanta et al., 2019).

Játra zvířat vystavených SWCNT vykazovala dle studií tmavší barvu. Agregáty SWCNT přetrvávající v játrech myši, jsou detekovatelné již 24 hodin po třetí injekci a nejvyšší akumulace agregátů dosahují o 3 týdny později bez dalšího podávání. Tyto údaje jasně naznačují, že játra byla hlavním místem akumulace SWCNT (Obr. 12).



*Obrázek 12: Zbarvení myších jater po vystavení jednotěným uhlíkovým nanotrubičkám; A – zdravá játra, B – po 24 hod., C – po 3 týdnech; (upraveno dle Noonan et al., 2016).*

V játrech byly agregáty SWCNT distribuovány všudypřítomně v cytoplazmatickém i extracelulárním prostoru. Optická mikroskopie při větším zvětšení ukázala, že SWCNT byly lokalizovány hlavně blízko Kupfferových buněk, což naznačuje přímé zapojení těchto makrofágů do internalizace SWCNT fagocytózou (Noonan et al., 2016).

## ZÁVĚR

Rozvoj výroby a používání uhlíkových nanotrubiček s sebou přináší mnoho úskalí. Ačkoliv by uhlíkové nanotrubičky mohly být velkým přínosem díky jejich schopnosti pronikat přímo do buněk, udržovat lék neporušený a tím dodávat molekuly léčiva do buněk efektivněji a bezpečněji než tradičními metodami. Existují studie, které potvrzují jejich cytotoxicitu, a z tohoto důvodu je stále zapotřebí rozvíjet tyto studie. Toxicita uhlíkových nanotrubiček totiž omezuje jejich možné využití v praxi.

Tato bakalářská práce přináší komplexní shrnutí aktuální problematiky cytotoxicity nanotrubiček na různé orgány v těle, jako jsou plíce, ledviny, játra, kardiovaskulární systém aj. Nejčastějším poškozeným orgánem jsou plíce, díky inhalaci uhlíkových nanotrubiček, přičemž dochází ke vzniku a následnému přetrvávání zánětu. Díky tomu dochází k poškození plic, což může vést až k plicní fibróze a karcinomu dýchacích cest. Při průniku uhlíkových nanotrubiček např. kůží dochází v mnoha případech k jejímu podráždění, ale nedochází k závažnějšímu poškození.

Vedle podrobného shrnutí cytotoxického působení nanotrubiček je část práce věnována také nejčastěji využívaným způsobům výroby nanotrubiček. Pro jejich výrobu se využívá mnoho metod, avšak mezi nejpoužívanější metody patří syntéza pomocí chemické depozice z plynné fáze, obloukového výboje a laserové ablace. Dále jsou v práci mimo jiné shrnuty i další druhy nanomateriálů a jejich vlastnosti, včetně možných způsobů jejich výroby.



## POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Aflori Magdalena: Smart Nanomaterials for Biomedical Applications. *Nanomaterials*. 2021, vol. 11, issue 2, ISSN 2079-4991, p. 1-33, doi:10.3390/nano11020396.
- [2] Alagarsamy Keshav Narayan, Mathan Sajitha, Yan Weiang et al.: Carbon nanomaterials for cardiovascular theranostics: Promises and challenges. *Bioactive Materials*. 2021, vol. 6, issue 8, ISSN 2452199X, p. 2261-2280, doi:10.1016/j.bioactmat.2020.12.030.
- [3] Allen Matthew J., Tung Vincent C., Kaner Richard B.: Honeycomb Carbon: A Review of Graphene. *Chemical Reviews*. 2010, vol. 110, issue 1, ISSN 0009-2665, p. 132-145 doi:10.1021/cr900070d.
- [4] Al Moustafa Ala-Eddin, Mfoumou Etienne, Dacian Roman et al.: Impact of single-walled carbon nanotubes on the embryo: a brief review. *International Journal of Nanomedicine*. 2016, vol. 2016, issue 11, ISSN 1178-2013, p. 349-355, doi:10.2147/IJN.S96361.
- [5] Awasthi K. K., John P.J., Awasthi A. et al.: Multi walled carbon nano tubes induced hepatotoxicity in Swiss albino mice. *Micron*. 2013, vol. 44, ISSN 09684328, p. 359-364, doi:10.1016/j.micron.2012.08.008.
- [6] Banik Brittany L., Fattahi P., Brown Justin L.: Polymeric nanoparticles: the future of nanomedicine. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*. 2016, vol. 8, issue 2, ISSN 1939-5116, p. 271-299, doi:10.1002/wnan.1364.
- [7] Barbarino Marcella, Giordano Antonio: Assessment of the Carcinogenicity of Carbon Nanotubes in the Respiratory System. *Cancers*. 2021, vol. 13, issue 6, ISSN 2072-6694, p. 1-17, doi:10.3390/cancers13061318.
- [8] Benozir Asha Anika, Narain Ravin: Nanomaterials properties. *Polymer Science and Nanotechnology*. 2020, vol. 2020, ISBN 9780128168066, p. 343-359, doi:10.1016/B978-0-12-816806-6.00015-7.
- [9] Bhattacharya R., Mukherjee P.: Biological properties of “naked” metal nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2008, vol. 60, issue 11, ISSN 0169409X, p. 1289-1306, doi:10.1016/j.addr.2008.03.013.
- [10] Bleeker Eric A.J., De Jong Wim H., Geertsma Robert E. et al.: Considerations on the EU definition of a nanomaterial: Science to support policy making. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2013, vol. 65, issue 1, ISSN 02732300, p. 119-125, doi:10.1016/j.yrtph.2012.11.007.
- [11] Borandeh Sedigheh, Alimardani Vahid, Abolmaali Samira Sadat et al.: Graphene Family Nanomaterials in Ocular Applications: Physicochemical Properties and Toxicity. *Chemical Research in Toxicology*. 2021, vol. 34, issue 6, ISSN 0893-228X, p. 1386-1402, doi:10.1021/acs.chemrestox.0c00340.

- [12] Costa Pedro M., Bourgoignon M., T-W Wang J. et al.: Functionalised carbon nanotubes: From intracellular uptake and cell-related toxicity to systemic brain delivery. *Journal of Controlled Release*. 2016, vol. 241, ISSN 01683659, p. 200-219, doi:10.1016/j.jconrel.2016.09.033.
- [13] Crist Rachael M., Grossman Jennifer H., Patri Anil K. et al.: Common pitfalls in nanotechnology: lessons learned from NCI's Nanotechnology Characterization Laboratory. *Integrative Biology*. 2013, vol. 5, issue 1, ISSN 1757-9708, p. 66-73, doi:10.1039/c2ib20117h.
- [14] Das Rasel, Eaqub Ali Md., Hamid Sharifah Bee Abd: Carbon nanotube membranes for water purification: A bright future in water desalination. *Desalination*. 2014, vol. 336, ISSN 00119164, p. 97-109, doi:10.1016/j.desal.2013.12.026.
- [15] Davern Timothy J.: Drug-Induced Liver Disease. *Clinics in Liver Disease*. 2012, vol. 16, issue 2, ISSN 10893261, p. 231-245 doi:10.1016/j.cld.2012.03.002.
- [16] Ema Makoto, Matsuda Akitaka, Kobayashi Norihiro et al.: Evaluation of dermal and eye irritation and skin sensitization due to carbon nanotubes. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2011, vol. 61, issue 3, ISSN 02732300, p. 276-281, doi:10.1016/j.yrtph.2011.08.007.
- [17] Foldvari Marianna, Bagonluri Mukasa: Carbon nanotubes as functional excipients for nanomedicines: II. Drug delivery and biocompatibility issues. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2008, vol. 4, issue 3, ISSN 15499634, p. 183-200, doi:10.1016/j.nano.2008.04.003.
- [18] Fujita Katsuhide, Fukuda Makiko, Endoh Shigehisa et al.: Size effects of single-walled carbon nanotubes on in vivo and in vitro pulmonary toxicity. *Inhalation Toxicology*. 2015, vol. 27, issue 4, ISSN 0895-8378, p. 207-223, doi:10.3109/08958378.2015.1026620.
- [19] Fukushima Shoji, Kasai Tatsuya, Umeda Yumi et al.: Carcinogenicity of multi-walled carbon nanotubes: challenging issue on hazard assessment. *Journal of Occupational Health*. 2018, vol. 60, issue1, ISSN 1341-9145, p. 10-30, doi:10.1539/joh.17-0102-RA.
- [20] Galstyan Vardan, Comini Elisabetta, Faglia Guido et al.: TiO<sub>2</sub> Nanotubes: Recent Advances in Synthesis and Gas Sensing Properties. *Sensors*. 2013, vol. 13, issue 11, ISSN 1424-8220, p. 14813-14838, doi:10.3390/s131114813.
- [21] Gattoo Manzoor Ahmad, Naseem Sufia, Arfat Mir Yasir et al.: Physicochemical Properties of Nanomaterials: Implication in Associated Toxic Manifestations. *BioMed Research International*. 2014, vol. 2014, ISSN 2314-6133, p. 1-8, doi:10.1155/2014/498420.
- [22] Goodman Catherine M., Mccusker Catherine D., YilmazI T. et al.: Toxicity of Gold Nanoparticles Functionalized with Cationic and Anionic Side Chains. *Bioconjugate*

- Chemistry*. 2004, vol. 15, issue 4, ISSN 1043-1802, p. 331-338, doi:10.1021/bc049951i.
- [23] Garg Bhaskar, Bisht Tanuja: Carbon Nanodots as Peroxidase Nanozymes for Biosensing. *Molecules*. 2016, vol. 21, issue 12, ISSN 1420-3049, p. 1-16, doi:10.3390/molecules21121653.
- [24] Hamlekhan Azhang, Butt Arman, Patel Sweetu et al. Fabrication of Anti-Aging TiO<sub>2</sub> Nanotubes on Biomedical Ti Alloys. *PLoS ONE*. 2014, vol. 9, issue 5, ISSN 1932-6203, p. 1-10, doi:10.1371/journal.pone.0096213.
- [25] He Hua, Pham-Huy Lien Ai, Dramou Pierre et al.: Carbon Nanotubes: Applications in Pharmacy and Medicine. *BioMed Research International*. 2013, vol. 2013, ISSN 2314-6133, p.1-12, doi:10.1155/2013/578290.
- [26] Hey Anthony: Feynman and Computation. 2018, vol. 1, p. 1-464, ISBN 9780429500459.
- [27] Holgate Stephen T.: Exposure, Uptake, Distribution and Toxicity of Nanomaterials in Humans. *Journal of Biomedical Nanotechnology*. 2010 vol. 6, issue 1, ISSN 15507033, p. 1-19, doi:10.1166/jbn.2010.1098.
- [28] Chang Chih-Ching, Tsai Mei-Ling, Huang Hui-Chun: Epithelial-mesenchymal transition contributes to SWCNT-induced pulmonary fibrosis. *Nanotoxicology*. 2011, vol. 6, issue 6, ISSN 1743-5390, p. 600-610, doi:10.3109/17435390.2011.594913.
- [29] Chang Rakwoo, Violi Angela: Insights into the Effect of Combustion-Generated Carbon Nanoparticles on Biological Membranes: A Computer Simulation Study. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006, vol. 110, issue 10, ISSN 1520-6106, p. 5073-5083, doi:10.1021/jp0565148.
- [30] Chen H., Humes Sara T., Robinson Sarah E. et al. Single-walled carbon nanotubes repress viral-induced defense pathways through oxidative stress. *Nanotoxicology*. 2019, vol. 13, issue 9, ISSN 1743-5390, p. 1176-1196, doi:10.1080/17435390.2019.1645903.
- [31] Iijima S.: Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature*. 1991, vol. 354, p. 56-58, doi.org/10.1038/354056a0.
- [32] Ishigami M., Cumings J., Zettl A. et al.: A simple method for the continuous production of carbon nanotubes. *Chemical Physics Letters*. 2000, vol. 319, issue 5-6, ISSN 00092614, p. 457-459, doi:10.1016/S0009-2614(00)00151-2.
- [33] Jain Nidhi, Tiwari Seema: Biomedical application of carbon nanotubes (CNTs) in vulnerable parts of the body and its toxicity study: A state-of-the-art-review. *Materials Today: Proceedings*. 2021, vol. 46, ISSN 22147853, p. 7608-7617, doi:10.1016/j.matpr.2021.01.895.

- [34] Journet C., Maser W. K., Bernier P. et al.: Large-scale production of single-walled carbon nanotubes by the electric-arc technique. *Nature*. 1997, vol. 388, issue 6644, ISSN 0028-0836, p. 756-758, doi:10.1038/41972.
- [35] Juanola-Feliu Esteve.: The nanotechnology revolution in Barcelona. *Management international*. 2009, vol. 13, ISSN 1918-9222, p. 111-123, doi:10.7202/037508ar.
- [36] Kallay Nikola, Žalac Suzana: Stability of Nanodispersions: A Model for Kinetics of Aggregation of Nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2002, vol. 253, issue 1, ISSN 00219797, p. 70-76, doi:10.1006/jcis.2002.8476.
- [37] Kalay Saban, Yilmaz Zehra, Sen Ozlem et al.: Synthesis of boron nitride nanotubes and their applications. *Beilstein Journal of Nanotechnology*. 2015, vol. 6, ISSN 2190-4286, p. 84-102, doi:10.3762/bjnano.6.9.
- [38] Karimi Mahdi, Solati Navid, Amiri Mohammad et al.: Carbon nanotubes part I: preparation of a novel and versatile drug-delivery vehicle. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2015, vol. 12, issue 7, ISSN 1742-5247, p. 1071-1087, doi:10.1517/17425247.2015.1003806.
- [39] Kim Jun Hee, Pham Thang Viet, Hwang Jae Hun et al.: Boron nitride nanotubes: synthesis and applications. *Nano Convergence*. 2018, vol. 5, issue 1, ISSN 2196-5404, p. 1-13, doi:10.1186/s40580-018-0149-y.
- [40] Kirchner Christian, Liedl Tim, Kudera Stefan et al.: Cytotoxicity of Colloidal CdSe and CdSe/ZnS Nanoparticles. *Nano Letters*. 2005, vol. 5, issue 2, ISSN 1530-6984, p. 331-338, doi:10.1021/nl047996m.
- [41] Kobayashi Norihiro, Izumi Hiroto, Morimoto Yasuo: Review of toxicity studies of carbon nanotubes. *Journal of Occupational Health*. 2017, vol. 59, issue 5, ISSN 1341-9145, p. 394-407, doi:10.1539/joh.17-0089-RA.
- [42] Kohli A.K., Alpar H.O.: Potential use of nanoparticles for transcutaneous vaccine delivery: effect of particle size and charge. *International Journal of Pharmaceutics*. 2004, vol. 275, issue 1-2, ISSN 03785173, p. 13-17, doi:10.1016/j.ijpharm.2003.10.038.
- [43] Kong Fen-Ying, Zhang Jin-Wei, Li Rong-Fang et al.: Unique Roles of Gold Nanoparticles in Drug Delivery, Targeting and Imaging Applications. *Molecules*. 2017, vol. 22, issue 9, ISSN 1420-3049, p. 1-13, doi:10.3390/molecules22091445.
- [44] Kreuter J.: Nanoparticles-a historical perspective. *International Journal of Pharmaceutics*. 2007, vol. 331, issue 1, ISSN 03785173, p. 1-10, doi:10.1016/j.ijpharm.2006.10.021
- [45] Kyriakides Themis R., Raj A., Tseng Tiffany H. et al.: Biocompatibility of nanomaterials and their immunological properties. *Biomedical Materials*. 2021, vol. 16, issue 4, ISSN 1748-6041, p. 1-49, doi:10.1088/1748-605X/abe5fa.

- [46] Lanone Sophie, Andujar Pascal, Kermanizadeh Ali et al.: Determinants of carbon nanotube toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013, vol. 65, issue 15, ISSN 0169409X, p. 2063-2069, doi:10.1016/j.addr.2013.07.019.
- [47] Lalwani Gaurav, D'agati Michael, Khan Amit Mahmud et al.: Toxicology of graphene-based nanomaterials. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, vol. 105, issue 105, ISSN 0169409X, p. 109-144, doi:10.1016/j.addr.2016.04.028.
- [48] Lee Chee, Bhandari Shiva, Tiwari Bishnu et al.: Boron Nitride Nanotubes: Recent Advances in Their Synthesis, Functionalization, and Applications. *Molecules*. 2016, vol. 21, issue 7, ISSN 1420-3049, p. 1-19, doi:10.3390/molecules21070922.
- [49] Lin Jing, Chen Xiaoyuan, Huang Peng: Graphene-based nanomaterials for bioimaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016, vol. 105, ISSN 0169409X, p. 242-254, doi:10.1016/j.addr.2016.05.013.
- [50] Lin P., Lin S., Wang Paul C. et al.: Techniques for physicochemical characterization of nanomaterials. *Biotechnology Advances*. 2014, vol. 32, issue 4, ISSN 07349750, p. 711-726, doi:10.1016/j.biotechadv.2013.11.006.
- [51] Liu Cui, Zhang Fang, Hu Jiao et al.: A Mini Review on pH-Sensitive Photoluminescence in Carbon Nanodots. *Frontiers in Chemistry*. 2021, vol. 8, ISSN 2296-2646, p. 1-9, doi:10.3389/fchem.2020.605028.
- [52] Liu Haipeng, Ye Tao, Mao Chengde: Fluorescent Carbon Nanoparticles Derived from Candle Soot. *Angewandte Chemie International Edition*. 2007, vol. 46, issue 34, ISSN 14337851, p. 6473-6475, doi:10.1002/anie.200701271.
- [53] Li Zihao, Wang Ling, Li Yu et al.: Carbon-based functional nanomaterials: Preparation, properties and applications. *Composites Science and Technology*. 2019, vol. 179, ISSN 02663538, p. 10-40, doi:10.1016/j.compscitech.2019.04.028.
- [54] Lorenzetti Martina, Gongadze Ekaterina, Kulkarni Mukta et al.: Electrokinetic Properties of TiO<sub>2</sub> Nanotubular Surfaces. *Nanoscale Research Letters*. 2016, vol. 11, issue 1, ISSN 1931-7573, p. 1-13, doi:10.1186/s11671-016-1594-3.
- [55] Luanpitpong Sudjit, Wang Liying, Rojanasakul Yon: The effects of carbon nanotubes on lung and dermal cellular behaviors. *Nanomedicine*. 2014, vol. 9, issue 6, ISSN 1743-5889, p. 895-912, doi:10.2217/nmm.14.42.
- [56] Madani Seyed Y., Mandel A., Seifalian Alexander M.: A concise review of carbon nanotube's toxicology. *Nano Reviews*. 2013, vol. 4, issue 1, ISSN 2000-5121, p. 1-16, doi:10.3402/nano.v4i0.21521.
- [57] Manawi Yehia, Ihsanullah, Samara Ayman et al.: A Review of Carbon Nanomaterials' Synthesis via the Chemical Vapor Deposition (CVD) Method. *Materials*. 2018, vol. 11, issue 5, ISSN 1996-1944, p. 1-36, doi:10.3390/ma11050822.

- [58] Manke Amruta, Wang Liying, Rojanasakul Yon: Pulmonary toxicity and fibrogenic response of carbon nanotubes. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 2013, vol. 23, issue 3, ISSN 1537-6516, p. 196-206, doi:10.3109/15376516.2012.753967.
- [59] Martinelli Marisa, Strumia Miriam: Multifunctional Nanomaterials: Design, Synthesis and Application Properties. *Molecules*. 2017, vol. 22, issue 2, ISSN 1420-3049, p. 1-11, doi:10.3390/molecules22020243.
- [60] Merlo A., Mokkalapati V. R. S. S., Pandit S. et al.: Boron nitride nanomaterials: biocompatibility and bio-applications. *Biomaterials Science*. 2018, vol. 6, issue 9, ISSN 2047-4830, p. 2298-2311, doi:10.1039/C8BM00516H.
- [61] Mohanta Debashish, Patnaik Soma, Sood Sanchit et al.: Carbon nanotubes: Evaluation of toxicity at biointerfaces. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2019, vol. 9, issue 5, ISSN 20951779, p. 293-300, doi:10.1016/j.jpha.2019.04.003.
- [62] Mout R., Moyano Daniel F., Rana S. et al.: Surface functionalization of nanoparticles for nanomedicine. *Chemical Society Reviews*. 2012, vol. 41, issue 7, ISSN 0306-0012, p. 1-7, doi:10.1039/c2cs15294k.
- [63] Murray A.R., Kisin E., Leonard S.S. et al.: Oxidative stress and inflammatory response in dermal toxicity of single-walled carbon nanotubes. *Toxicology*. 2009, vol. 257, issue 3, ISSN 0300483X, p. 161-171, doi:10.1016/j.tox.2008.12.023.
- [64] Nag Anindya, Mukhopadhyay Subhas Chandra: Fabrication and implementation of carbon nanotubes for piezoresistive-sensing applications: A review. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*. 2022, vol. 7, issue 1, ISSN 24682179, p. 1-10, doi:10.1016/j.jsamd.2021.100416
- [65] Najafi-Hajivar Saeedeh, Zakeri-Milani Parvin, Mohammadi Hamed et al.: Overview on experimental models of interactions between nanoparticles and the immune system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016, vol. 83, ISSN 07533322, p. 1365-1378, doi:10.1016/j.biopha.2016.08.060.
- [66] Navya P. N., Daima H. K.: Rational engineering of physicochemical properties of nanomaterials for biomedical applications with nanotoxicological perspectives. *Nano Convergence*. 2016, vol. 3, issue 1, ISSN 2196-5404, p. 1-14, doi:10.1186/s40580-016-0064-z.
- [67] Ngu-Schwemlein Maria, Chin Suk Fun, Hileman Ryan et al.: Carbon nanodots as molecular scaffolds for development of antimicrobial agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2016, vol. 26, issue 7, ISSN 0960894X, p. 1745-1749, doi:10.1016/j.bmcl.2016.02.047.
- [68] Novoselov K. S., Geim A. K., Morozov S. V.: Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science*. 2004, vol. 306, issue 5696, ISSN 0036-8075, p. 666-669, doi:10.1126/science.1102896.

- [69] Noonan Douglas M, Principi E., Girardello R. et al.: Systemic distribution of single-walled carbon nanotubes in a novel model: alteration of biochemical parameters, metabolic functions, liver accumulation, and inflammation in vivo. *International Journal of Nanomedicine*. 2016, vol. 11, ISSN 1178-2013, p. 4299-4316, doi:10.2147/IJN.S109950.
- [70] Oberdörster Günter, Oberdörster Eva, Oberdörster Jan: Nanotoxicology: An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. *Environmental Health Perspectives*. 2005, vol. 113, issue 7, ISSN 0091-6765, p. 823-839, doi:10.1289/ehp.7339.
- [71] Peres C., Matos Ana I., Conniot J. et al.: Poly(lactic acid)-based particulate systems are promising tools for immune modulation. *Acta Biomaterialia*. 2017, vol. 48, ISSN 17427061, p. 41-57, doi:10.1016/j.actbio.2016.11.012.
- [72] Pichat Pierre: Are TiO<sub>2</sub> Nanotubes Worth Using in Photocatalytic Purification of Air and Water? *Molecules*, 2014, vol. 19, issue 9, ISSN 1420-3049, p. 15075-15087, doi:10.3390/molecules190915075.
- [73] Poh Tuang Yeow, Ali Nur A'tikah Binte Mohamed, Mac Aogáin Micheál et al.: Inhaled nanomaterials and the respiratory microbiome: clinical, immunological and toxicological perspectives. *Particle and Fibre Toxicology*. 2018, vol. 15, issue 1, ISSN 1743-8977, p. 1-16, doi:10.1186/s12989-018-0282-0.
- [74] Poland C., Duffin R., Kinloch I. et al.: Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nature Nanotech*. 2008, vol. 3, p. 423–428, doi.org/10.1038/nnano.2008.111.
- [75] Popov V.: Carbon nanotubes: properties and application. *Materials Science and Engineering: R: Reports*. 2004, vol. 43, issue 3, ISSN 0927796X, p. 61-102, doi:10.1016/j.msere.2003.10.001.
- [76] Powers Kevin W., Brown Scott C., Krishna Vijay B. et al.: Research Strategies for Safety Evaluation of Nanomaterials. Part VI. Characterization of Nanoscale Particles for Toxicological Evaluation. *Toxicological Sciences*. 2006, vol. 90, issue 2, ISSN 1096-6080, p. 296-303, doi:10.1080/17435390701314902.
- [77] Powers Kevin W., Palazuelos M., Moudgil Brij M. et al.: Characterization of the size, shape, and state of dispersion of nanoparticles for toxicological studies. *Nanotoxicology*. 2009, vol. 1, issue 1, ISSN 1743-5390, p. 42-51, doi:10.1080/17435390701314902.
- [78] Pramod P., George T. K., George M. V.: Organic Nanomaterials: Morphological Control for Charge Stabilization and Charge Transport. *Chemistry - An Asian Journal*. 2009, vol. 4, issue 6, ISSN 18614728, p. 806-823 doi:10.1002/asia.200900014.

- [79] Prymková Jana, Kaimlová Markéta, Hubáček Tomáš et al.: Nanostructured Materials for Artificial Tissue Replacements. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020, vol. 21, issue 7, ISSN 1422-0067, p. 1-29, doi:10.3390/ijms21072521.
- [80] Pryzhkova Marina V.: Concise Review: Carbon Nanotechnology. *Stem Cells Translational Medicine*. 2013, vol. 2, issue 5, ISSN 2157-6564, p. 376-383, doi:10.5966/sctm.2012-0151.
- [81] Rasmussen Kirsten, Rauscher Hubert, Mech Agnieszka et al.: Physico-chemical properties of manufactured nanomaterials - Characterisation and relevant methods. An outlook based on the OECD Testing Programme. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2018, vol. 92, ISSN 02732300, p. 8-28, doi:10.1016/j.yrtph.2017.10.019.
- [82] Riley Parand R., Narayan Roger J.: Recent advances in carbon nanomaterials for biomedical applications: A review. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. 2021, vol. 17, ISSN 24684511, p. 1-9, doi:10.1016/j.cobme.2021.100262.
- [83] Rónavári Andrea, Igaz Nóra, Adamecz Dóra I. et al.: Green Silver and Gold Nanoparticles: Biological Synthesis Approaches and Potentials for Biomedical Applications. *Molecules*. 2021, vol. 26, issue 4, ISSN 1420-3049, p. 1-39, doi:10.3390/molecules26040844.
- [84] Saleh Tawfik A.: Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*. 2020, vol. 20, ISSN 23521864, p. 1-16, doi:10.1016/j.eti.2020.101067.
- [85] Saravanan M.S, Babu S.P., Sivaprasad K. et al.: Techno-economics of carbon nanotubes produced by open air arc discharge method. *International Journal of Engineering, Science and Technology*. 2010, vol. 2, issue 5, ISSN 2141-2839, p. 100-108, doi:10.4314/ijest.v2i5.60128.
- [86] Sari Amir Hossein, Khazali Arezoo, Parhizgar Sara Sadat: Synthesis and characterization of long-CNTs by electrical arc discharge in deionized water and NaCl solution. *International Nano Letters*. 2018, vol. 8, issue 1, ISSN 2008-9295, p. 19-23, doi:10.1007/s40089-018-0227-5.
- [87] Świdwińska-Gajewska A. M., Czerczak, S.: Fullerenes: Characteristics of the substance, biological effects and occupational exposure levels. *Medycyna Pracy*. 2016, vol. 67, issue 3, p. 397-410, doi.org/10.13075/mp.5893.00352.
- [88] Vimbela G., Ngo Sang M., Frazee C. et al.: Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*. 2017, vol. 12, ISSN 1178-2013, p. 3941-3965, doi:10.2147/IJN.S134526.
- [89] Wang Jiaqing, Gu Hongwei: Novel Metal Nanomaterials and Their Catalytic Applications. *Molecules*. 2015, vol. 20, issue 9, ISSN 1420-3049, p. 17070-17092, doi:10.3390/molecules200917070.



- [90] Wang Xueshen, Li Qunqing, Xie Jing et al.: Fabrication of Ultralong and Electrically Uniform Single-Walled Carbon Nanotubes on Clean Substrates. *Nano Letters*. 2009, vol. 9, issue 9, ISSN 1530-6984, p. 3137-3141, doi:10.1021/nl901260b.
- [91] Wan Keming, Li Yalin, Wang Yan et al.: Recent Advance in the Fabrication of 2D and 3D Metal Carbides-Based Nanomaterials for Energy and Environmental Applications. *Nanomaterials*. 2021, vol. 11, issue 1, ISSN 2079-4991, p. 1-33, doi:10.3390/nano11010246.
- [92] Yang Sheng-Tao, Wang Xiang, Jia Guang et al.: Long-term accumulation and low toxicity of single-walled carbon nanotubes in intravenously exposed mice. *Toxicology Letters*. 2008, vol. 181, issue 3, ISSN 03784274, p. 182-189, doi:10.1016/j.toxlet.2008.07.020.
- [93] Ying Lim Siang, Bin Mohd Salleh Mohamad Amran, Mohamed Yusoff Hamdan B. et al.: Continuous production of carbon nanotubes – A review. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 2011, vol. 17, issue 3, ISSN 1226086X, p. 367-376, doi:10.1016/j.jiec.2011.05.007.
- [94] Yousef S., Khattab A., Osman T. A. et al.: Fully automatic system for producing carbon nanotubes (CNTs) by using arc-discharge technique multi electrodes. In: *2012 First International Conference on Innovative Engineering Systems*. 2012, ISBN 978-1-4673-4439-5, s. 86-90, doi:10.1109/ICIES.2012.6530850.
- [95] Yuge Ryota, Toyama Kiyohiko, Ichihashi Toshinari et al.: Characterization and field emission properties of multi-walled carbon nanotubes with fine crystallinity prepared by CO<sub>2</sub> laser ablation. *Applied Surface Science*. 2012, vol. 258, issue 18, ISSN 01694332, p. 6958-6962, doi:10.1016/j.apsusc.2012.03.143.
- [96] Yunjin Yao, Zhang Suping, Yan Yongjie: CVD synthesis and purification of multi-walled carbon nanotubes. In: *2008 2nd IEEE International Nanoelectronics Conference*. 2008, ISBN 978-1-4244-1572-4, ISSN 2159-3531, p. 562-565, doi:10.1109/INEC.2008.4585550.
- [97] Zarschler Kristof, Rocks Louise, Licciardello Nadia et al.: Ultrasmall inorganic nanoparticles: State-of-the-art and perspectives for biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2016, vol. 12, issue 6, ISSN 15499634, p. 1663-1701, doi:10.1016/j.nano.2016.02.019.
- [98] Zhao Jiuzhou, Li Zhenjun, Cole Matthew Thomas et al.: Nanocone-Shaped Carbon Nanotubes Field-Emitter Array Fabricated by Laser Ablation. *Nanomaterials*. 2021, vol. 11, issue 12, ISSN 2079-4991, p. 1-13, doi:10.3390/nano11123244.