



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**STUDIUM OPTICKÝCH VLASTNOSTÍ ORGANICKÝCH
MATERIÁLŮ PRO NELINEÁRNĚ OPTICKÉ APLIKACE**

STUDY OF OPTICAL PROPERTIES OF ORGANIC MATERIALS FOR NONLINEAR OPTICAL APPLICATIONS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Silvie Hrbková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Mgr. Martin Vala, Ph.D.

BRNO 2016



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0930/2015	Akademický rok: 2015/2016
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Silvie Hrbková	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Spotřební chemie (2806R002)	
Vedoucí práce	doc. Mgr. Martin Vala, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název bakalářské práce:

Studium optických vlastností organických materiálů pro nelineárně optické aplikace

Zadání bakalářské práce:

Práce bude zaměřena na studium vztahu mezi chemickou strukturou látek a nelineárně optickými vlastnostmi. Pozornost bude věnována zejména vlivu uspořádání molekuly na dvoufotonový absorpční průřez a spektrum. Dále bude studován vliv struktury na kvantový výtěžek fluorescence. Cílem bude nalézt struktury, které jsou potenciálně vhodné pro použití ve dvoufotonové mikroskopii či dvoufotonové fotopolymerizaci.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2016

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Silvie Hrbková
Student(ka)

doc. Mgr. Martin Vala, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2016

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá vývojem metody pro stanovování dvoufotonových absorpčních parametrů a její následnou aplikací na nových látkách. V teoretické části jsou popsány děje dvoufotonové absorpce, nej-používanější metody ke stanovování dvoufotonových průřezů, podpořená rešerší v oblasti dosud zkoumaných molekul. Molekuly, kterými se tato práce zabývá jsou Rhodamin B a Rhodamin 6G, které jsou použity jako standardy pro vytvoření metodiky měření a ověření vyvinuté metody. Dále jsou zkoumány čtyři deriváty Diketopyrrolopyrrolů (U24, U37, U49 a U50) v roztocích DMSO, toluenu, acetonu a chloroformu. Pro všechny látky byly experimentálně zjištěny základní optické vlastnosti - absorpční a emisní spektra. Dvoufotonové absorpční charakteristiky se podařilo získat pomocí pikosekundového laseru a metody měření dvoufotonově excitované fluorescence (TPEF).

Srovnáním zjištěných TPA průřezů a TPA spekter Rhodaminu B a Rhodaminu 6G s publikovanými daty se podařilo ověřit vytvořenou metodiku. Dále se práce zaměřuje na absorpční a emisní solvatační děje vybraných nových Diketopyrrolopyrrolů, z kterých lze usuzovat jejich dvoufotonové vlastnosti. Nakonec jsou v práci diskutována TPA spektra těchto nových chromoforů.

Výsledkem práce je vyvinutá metoda měření dvoufotonových vlastností připravená pro budoucí využití. Dosažené výsledky umožňují další rozsáhlejší zkoumání molekul za použití naměřených standardů Rhodaminu B a 6G a navázání na průzkum vlastností Diketopyrrolopyrrolů.

ABSTRACT

This work deals with a development of a method for determination of two-photon parameters and its application. The theoretical part includes a description of two-photon absorption processes, most frequently used methods to determine two-photon cross sections and a summary of molecules researched to date in the field. The molecules studied in this work are Rhodamin B and Rhodamin 6G in ethanol, which are applied as standards for the implementation of the method. After that, Diketopyrrolopyrroles U24, U37, U49 and U50 dissolved in DMSO, toluene, acetone and chloroform, are researched. Basic optical characteristics - absorption and emission spectra were experimentally acquired for all the materials. Two-photon characteristics were obtained using a picosecond laser and a Two-Photon Excited Fluorescence (TPEF) method.

TPA cross-sections and TPA spectra of Rhodamin B and Rhodamin 6G were measured and discussed. Subsequently, this work focuses on absorption and emission solvation processes of the selected Diketopyrrolopyrroles. These processes indicate their two-photon efficiency. Finally, TPA spectra of the substances are discussed.

Contribution of this work is a developed method for measuring the two-photon characteristics suitable for further use. The outcomes achieved, enable extensive research of the Diketopyrrolopyrrols characteristics with the use of the measured standards of the Rhodamin B and Rhodamin 6G.

KLÍČOVÁ SLOVA

Nelineární optika, dvoufotonová mikroskopie, dvoufotonová absorpce, Rhodamin B, Rhodamin 6G, dvoufotonový absorpční průřez, Diketopyrrolopyrroly, U24, U37, U49, U50.

KEYWORDS

Nonlinear optics, two-photon microscopy, two-photon absorption, Rhodamin B, Rhodamin 6G, two-photon cross-section, Diketopyrrolopyrrols, U24, U37, U49, U50.

HRBKOVÁ, S. Studium optických vlastností organických materiálů pro nelineárně optické aplikace. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 41 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Mgr. Martin Vala, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. Mgr. Martinu Valovi, Ph.D. za odborný a pečlivý dohled a za čas, který mi věnoval. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Janu Koutnému za ochotu, za pomoc při práci v laboratoři a za odborné a cenné rady, které mi usnadnily vypracování této práce.

Obsah

1 Úvod	8
2 Teoretická část	9
2.1 Dvoufotonová absorpce	9
2.2 Metody měření TPA průřezů a spekter	10
2.2.1 Metoda z-Scan	10
2.2.2 Metoda měření dvoufotonové fluorescence (TPEF)	11
2.3 Látky s vysokými TPA průřezy	12
2.3.1 Dipolární molekuly	12
2.3.2 Kvadrupolární molekuly	13
2.3.3 Oktupolární molekuly	15
2.3.4 Diketopyrrolopyrroly	16
2.3.5 Další významné molekuly	20
3 Experimentální část	21
3.1 Materiály a přístroje	21
3.2 Přístroj pro měření dvoufotonových charakteristik	23
4 Výsledky a diskuze	24
4.1 Vývoj metody	24
4.1.1 Metoda zjištění TPA průřezů	24
4.1.2 Nalezení vhodných podmínek pro měření	25
4.1.3 Nalezení dat odpovídajících TPA	29
4.1.4 Výsledky optimalizace podmínek	29
4.2 Charakterizace nových materiálů - DPP	31
4.2.1 Jednofotonové optické vlastnosti	31
4.2.2 Dvoufotonová absorpce DPP	33
5 Závěr	35

1 Úvod

Dvoufotonovou absorpci (TPA) poprvé teoreticky předpověděla Marie Goëpert-Mayer v roce 1931. Tento předpoklad byl o pár desítek let později potvrzen díky vývoji laserových zdrojů záření, které jsou pro TPA vhodné. Již od svého objevení se TPA stala oblíbeným nástrojem ve fotochemických vědách k zjištění excitačních energií stavů se zakázanými přechody [1].

V 90. letech si TPA získala pozornost díky využití ve dvoufotonové excitační mikroskopii. Od té doby význam této techniky v biologických a medicínských laboratořích narostl a nyní jsou dvoufotonové excitační mikroskopy již komerčně dostupné. Vysoké prostorové rozlišení a hlubší pronikání záření do měkkých tkání umožňuje zobrazení buněk v hlubších vrstvách mozku, kůže, slinivky břišní a jiných orgánů [2].

Oblasti využití TPA se rozšířily s měřením dvoufotonových absorpčních spekter pro velké množství konjugovaných molekul a využíváním TPA jako prostředku k aktivování chemických a fyzikálních procesů. Příkladem takového procesu je dvoufotonová polymerace, která se stala velmi atraktivní metodou pro výrobu 3D mikro- a nano- struktur [3]. Další možné aplikace TPA jsou např. fotodynamická terapie, používaná k léčení kožních poškození, a tvorba 3D optických pamětí [4][5].

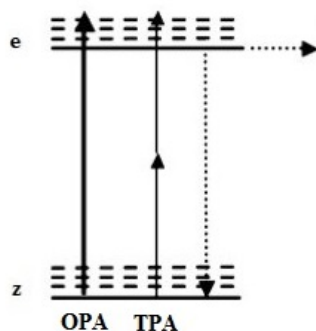
Moderní metody založené na multifotonové absorpci využívají femtosekundové lasery, avšak praktické aplikace vyžadují používání levnějších laserových zdrojů záření. Těmi jsou většinou diodové lasery emitující záření okolo vlnové délky 800 nm. Použití těchto laserových zdrojů vyžaduje vývoj látek s velmi vysokou pravděpodobností, že dojde k dvoufotonové absorpci (vysoký TPA průřez). Látky používané v těchto technikách jsou často strukturně navrženy k jednofotonovým procesům a poskytují nízkou dvoufotonovou odezvu. Stále existuje poptávka po nových látkách, které by mohly plnit funkci dvoufotonových fluorescenčních molekulových barviv.

Tato práce se zabývá zjišťováním dvoufotonových vlastností skupiny Diketopyrrolopyrrolů, které mají značný potenciál vykazovat vysokou TPA odezvu. Budeme u nich hledat korelaci mezi strukturou a výslednými TPA vlastnostmi. Tyto souvislosti jsou nezbytné pro návrh a syntézu účinných TPA barviv, které naleznou uplatnění ve zmiňovaných aplikacích. [1].

2 Teoretická část

2.1 Dvoufotonová absorpce

Dvoufotonová absorpce je proces, při kterém molekula nebo materiál současně absorbuje dva fotony. Tyto fotony mají dohromady stejnou energii, která je potřebná k dosažení excitovaného stavu v daném materiálu pomocí jednofotonové absorpce (OPA). To znamená, že každý jeden foton má přibližně poloviční energii (dvojnásobnou vlnovou délku).



Obrázek 1: Energetický diagram zobrazující proces OPA a TPA. Délky šipek jsou úměrné energiím fotonů. Tečkované šipky představují možné cesty deexcitace [6].

Toto je schématicky znázorněno na Obrázku 1, kde z je základní energetická hladina molekuly a e je nejnižší excitovaný stav molekuly. Přerušované čáry představují vibrační hladiny elektronových stavů. Za předpokladu, že je přechod dovolen výběrovými pravidly procesu, může být molekula excitována do stavu e absorpcí jednoho fotonu, který má stejnou energii jako je energický rozdíl mezi hladinami z a e (tlustá šipka na obrázku). Stejněho stavu může být dosaženo i absorpcí dvou identických fotonů s poloviční energií. Po OPA nebo TPA molekula obvykle podstupuje rychlou (v řádu ps) vnitřní konverzi do energetické hladiny e (excitaci). Z této hladiny systém může zrelaxovat zpět do hladiny základní (v řádu ns) a to zářivě či nezářivě (tečkované šipky) nebo přes jiné procesy [6].

Pravděpodobnost absorpce fotonu molekulou je úměrná intenzitě excitačního záření. Závislost mezi počtem excitovaných molekul a intenzitou excitačního záření u OPA vyjadřuje vztah:

$$n_1 = \sigma N_g \frac{I}{h\nu}, \quad (1)$$

kde n_1 je počet molekul excitovaných OPA v jednotce objemu materiálu za jednotku času, σ je absorpční průřez, N_g je hustota molekul v základním energetickém stavu z , I je intenzita excitačního zdroje a $h\nu$ je energie fotonu.

Pravděpodobnost současné absorpce dvou fotonů je úměrná čtverci intenzity excitačního záření dle vztahu:

$$n_2 = \frac{1}{2} \delta N_g \left(\frac{I}{h\nu} \right)^2, \quad (2)$$

kde n_2 je počet molekul excitovaných TPA v jednotce objemu za jednotku času, δ je TPA absorpční průřez pro foton s energií $h\nu$. Prefaktor $\frac{1}{2}$ vyjadřuje, že jsou potřeba dva fotony k excitaci jedné molekuly. Z toho vyplývá, že k excitaci dochází pouze v místech s velkou hustotou toku fotonů (např. v místě

zacílení laserového paprsku) a nedochází k ní v ostatních ozářených místech, na rozdíl od OPA, kde k excitaci dochází v celém ozářeném objemu. Díky tomu poskytuje TPA mechanismus, kterým mohou být aktivovány chemické nebo fyzikální procesy s vysokým prostorovým rozlišením. Tento fakt vychází ze skutečnosti, že excitace se snižuje s čtvercem vzdálenosti od místa zacílení paprsku [6][7]. Takto vysokých hustot fotonů se dosahuje buď kolimačními čočkami nebo lasery. Je potřeba alespoň 10^{28} fotonů/cm² k dosažení excitovaného stavu [1].

Mezi další výhody, vycházející z této vlastnosti TPA, je omezení fotovybělení, které se díky tomu projevuje pouze v malém lokalizovaném objemu. Dále u technik, využívajících pozorování fluorescence po aktivaci TPA, nedochází k rozmývání pozorovaného obrazu fluorescencí mimo ohniskovou rovinu. U mikroskopie díky tomu dochází k zostření pozorovaného objemu a není nutné používat prostorovou filtraci fluorescenčního obrazu. Pro TPA v barvivech, která jsou při OPA excitována UV zářením, postačuje infračervené (IR) záření (typicky 800 nm). Výhoda využití IR záření spočívá v hlubším pronikání záření do biologických médií, jelikož spadá do oblasti vlnových délek, kde mají tato média nízkou absorpci. Navíc IR záření poškozuje tkáň méně než více energetické UV záření. Delší vlnové délky jsou také mnohem méně rozptylovány při průchodu vzorkem než světlo v modré části spektra. Jelikož výběrová pravidla nejsou stejná pro jeden a dva fotony, může být TPA použita k zkoumání excitovaných stavů, kterých nemůže být dosaženo jednofotonovou absorpcí [8][9].

K stanovení účinnosti TPA v daném materiálu pro danou vlnovou délku slouží dvoufotonový absorpční průřez (TPA průřez). Odvozuje se z Lambert-Beerova zákona. Lambert-Beerův zákon pro jednofotonovou absorpci ve tvaru:

$$I(x) = I_0 e^{-\alpha c x}, \quad (3)$$

se pro dvoufotonovou absorpci mění na:

$$I(x) = \frac{I_0}{1 + \beta c x I_0}. \quad (4)$$

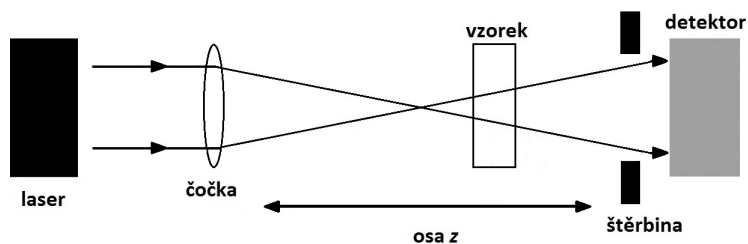
Absorpční koeficient α se stává dvoufotonovým koeficientem β - TPA průřezem. V praxi se často značí písmenem δ a je obvykle uváděn v jednotkách Goepper-Mayer (GM). 1 GM odpovídá $10^{-50} \text{ cm}^4 \cdot \text{s} \cdot \text{foton}^{-1}$.

2.2 Metody měření TPA průřezů a spekter

Existují dvě hlavní techniky měření TPA průřezů molekul. První je známá jako z-Scan a druhou je měření fluorescenčního signálu generovaného při TPA zvaná TPEF (two-photon excited fluorescence). Existují i další metody, které však nejsou příliš rozšířené.

2.2.1 Metoda z-Scan

Provedení této metody zahrnuje pohybování vzorkem po dráze laserového paprsku, měření intenzity jeho záření detektorem a vynesení závislosti měřené intenzity na pozici vzorku podél osy z. Uspořádání experimentu lze vidět na Obrázku 2.



Obrázek 2: Uspořádání experimentu při použití metody z-Scan [10].

Používají se dvě rozevření štěrbin, a to buď uzavřená nebo otevřená štěrbina. V případě uzavření je štěrbina umístěna tak, aby bránila průchodu části záření. Čočka soustřeďuje laser do bodu, za kterým se paprsek opět přirozeně rozbíhá. V této oblasti za ohniskem je umístěna štěrbina, kterou prochází pouze centrální část paprsku (obvyklá transmitance $T = 0,1-0,5$). Za štěrbinou se nachází detektor. Nevýhodou použití metody s uzavřenou štěrbinou je citlivost na jakýkoliv ohyb laserového paprsku, který může být způsoben vzorkem. To by mělo za následek, že by část záření, které by mělo dopadnout na detektor, neprošla štěrbinou - a nebo naopak, na detektor by dopadalo více záření, než by mělo.

Druhou možností je sběr a detekce veškerého záření prošlého vzorkem, čehož se dosáhne odstraněním nebo rozšířením štěrbin. V tom případě je výstup pouze odrazem intenzity záření a může být použit k měření TPA průřezů. U této verze je nevýhodou, že stanovené hodnoty TPA průřezů mohou být ovlivněny dalšími dvěma efekty, které vedou k navyšování měřených hodnot [10][11].

Když je štěrbina detektoru nedostatečně široká nebo příliš daleko od vzorku, může se záření ztratit vlastním rozostřováním nebo nelineárním rozptylem. Důsledkem je příspěvek navíc k absorpci. Druhým efektem je absorpce již excitovaných molekul. Tomuto příspěvku lze zabránit použitím vlnové délky, kde je zanedbatelná OPA, aplikací krátkých laserových pulzů (< 1 ps) a nízké tempo jejich opakování. K dosažení deexcitace mezi jednotlivými pulzy může být potřebná frekvence nižší než 1 kHz [11].

2.2.2 Metoda měření dvoufotonové fluorescence (TPEF)

Tato metoda poskytuje přímou informaci o účinnosti TPA. Její použití poprvé publikovali pánové Xu a Webb [12]. Od té doby bylo vyvinuto několik jejích variant. Pokud je dostupný vhodný referenční standard se známým TPA spektrem (TPA průřezy pro více vlnových délek), je nejjednodušší přístup porovnání spektra vzorku a spektra reference. Měření je však nutno provést s vybavením shodných vlastností za využití stejné metody.

Tato referenční metoda automaticky odstraní mnoho proměnných. Není nezbytné znát parametry excitačního záření jako jsou energie pulzu, trvání pulzu a rozložení intenzity v čase, ani závislost funkce detektoru na vlnové délce. Tuto techniku optimalizovali Rebane, Drobizhev a jejich kolegové [13]. Nedávno také publikovali přesné reference TPA spekter pro široký rozsah komerčně dostupných barviv [14].

TPEF experimenty vyžadují pulzní laser typicky okolo 100 fs, i když, oproti z-Scan metodě, přesnost TPA průřezů není příliš závislá na šířce pulzu [15]. Stejně jako při většině fluorescenčních měření je potřebný zředěný roztok (s absorpcí okolo 0,1), tudíž stačí malé množství materiálu. Pro tuto metodu platí dvě omezení. Nesmí být aplikovaná v částech spektra s OPA absorpcí a vzorek musí být foto-

luminiscenční. První z těchto omezení platí obecně pro všechny techniky měření TPA průřezů. Druhé omezení může být v některých případech překonáno sekundárními fotochemickými procesy [7].

V praxi se TPA průřezy stanovené metodou z-Scan často zdají být přehnané v porovnání s hodnotami stanovenými metodou TPEF [16].

2.3 Látky s vysokými TPA průřezy

Pro TPA se využívají především malé molekuly, jejichž všestrannost je výhodná pro studium biologických systémů. Mohou být jednoduše integrovány do buněk a detekovat dané cíle. Navíc vazebná afinita, kinetika, excitační a emisní vlnové délky a lokalizace do specifické organely, mohou být jednoduše vyladěny použitím známých postupů návrhu struktury molekul.

Látky pro TPA jsou různorodé. Většina z nich je odnoží běžných fluoroforů jako je Fluorescein a Kumarin, nebo spadá do skupin fluoroforů typu BODIPY nebo Rhodaminy, které jsou užitečné pro jednofotonovou mikroskopii (OPM). Tyto látky však nejsou optimalizovány pro dvoufotonovou mikroskopii (TPM) - mají nízké TPA průřezy, které jsou limitující pro jejich použití.

Pro integraci těchto látek do buněk a tkání je výhodné, aby byly rozpustné ve vodě. Dále by měly selektivně detekovat pouze určitou látku. Aby byla selektivita možná, TPA průřez by měl být větší než 50 GM, aby byl signál, např. pouze z organely, detekovatelný [17]. Dosažení těchto TPA průřezů se provádí pomocí prodloužení intramolekulární konjugace a posílením donor-akceptorové interakce. Rozpustnost ve vodě může být navýšena redukováním velikosti molekuly a zavedením ve vodě rozpustných skupin.

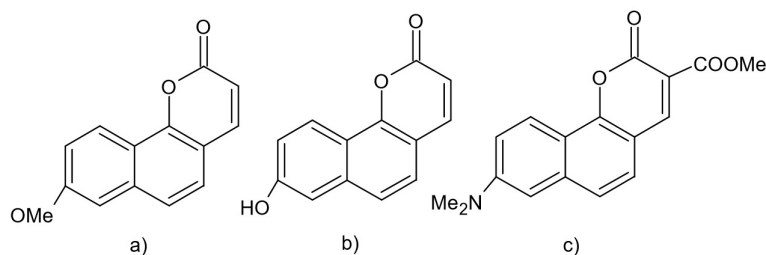
Existuje mnoho způsobů, jak dělit dvoufotonové materiály. Kim a spol. se zabývali látkami, které lze využít jako dvoufotonové sondy v TPM [17]. Rozdělili je podle cílového zaměření v těle na: (i) dvoufotonové sondy pro lysozomy a mitochondrie, (ii) sondy pro plazmatické membrány a (iii) sondy pro kovové ionty, které dále rozvedli.

He a jeho kolegové [18] tyto látky rozdělili na základě jejich složení na (i) organické molekuly, (ii) organické kapaliny a kapalné krystaly, (iii) konjugované polymery, (iv) fullereny, (v) koordinační a organokovové sloučeniny, (vi) porfyriny a metaloporfyriny, (vii) nanočástice a nakonec (viii) biomolekuly a jejich deriváty.

Pro potřeby této práce bylo zvoleno dělení vycházející z další práce Kima a spol. [19]. Jejich rozdělení na základně stavby molekul, bylo vybráno pro jeho užší zaměření na malé organické molekuly, kterými se táto práce zabývá. Dalším z důvodů bylo, že nepojednává pouze o látkách pro TPM, ale i pro jiné aplikace. Hodnoty TPA průřezů, jež Kim a spol. shrnují, byly naměřeny metodou z-Scan.

2.3.1 Dipolární molekuly

Jedná se o molekuly typu donor- π -akceptor (D- π -A). Nejslibnějšími mezi publikovanými molekulami, pro aplikaci v zobrazovacích metodách, se zdají být benzopyranové deriváty (Obrázek 3). Jejich TPA průřezy jsou $\delta_a = 140$ GM, $\delta_b = 270$ GM, $\delta_c = 350$ GM. Tyto látky vykazují dostatečnou rozpustnost ve vodě, vysokou fotostabilitu ($t_{1/2} = 2100$ s) a po zavedení do buněk a dvoufotonové absorpci vykazují silnou fluorescenci. Zdokonalení jejich vlastností se dosahuje použitím silnějšího elektronového donoru.



Obrázek 3: Některé dipolární benzopyranové deriváty

2.3.2 Kvadrupolární molekuly

Nejfrekventovanější strukturální motivy materiálů pro TPA jsou D- π -D, D-A-D a A- π -A kvadrupóly obsahující fenyl, bifenyl, dihydrofenantrenyl a anthracenyl jako jádro a C=C vazby jako můstky konjugace.

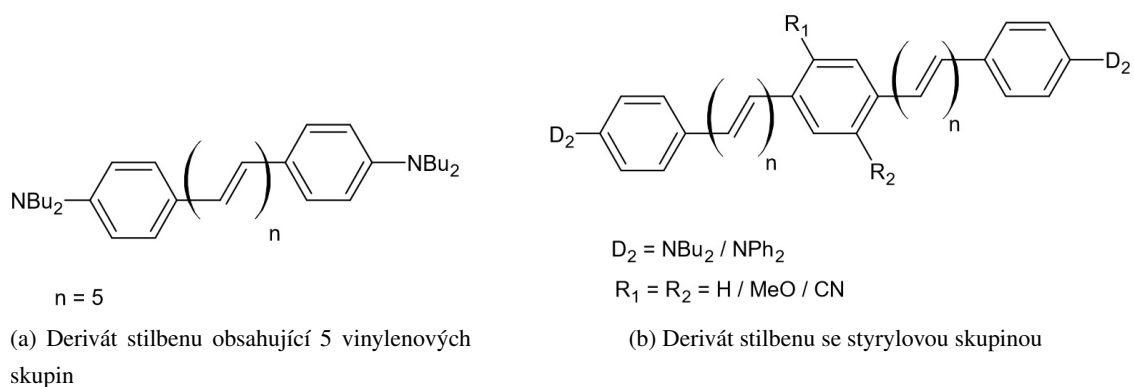
Deriváty Stilbenu U těchto derivátů se hodnoty TPA průřezů, při prodlužování konjugace vinylenovými skupinami, zvyšují až do $\delta = 1300$ GM pro látku obsahující 5 vinylenových skupin (Obrázek 4_a). Když se konjugace prodlužuje styrylovou skupinou, hodnoty δ se značně navyšují. To indikuje, že styrylová skupina je v dvoufotonových materiálech kvalitnější konjugační můstek než vinylenová skupina (viz Obrázek 4_b). Methoxy skupina v základní struktuře δ snižuje, CN skupina hodnoty značně zvyšuje. Když byl donor změněn z NBU₂ na NPh₂ došlo ke snížení δ . Nejvyšší hodnoty se dosáhlo u látky na Obrázku 5. Díky intramolekulárnímu přenosu náboje přes značnou délku molekuly je $\delta = 5300$ GM [19].

Deriváty Fluorenu, Dihydrofenantrenu a Anthracenu Fluorenové a dihydrofenantrenové deriváty jsou uplatňovány jako základ dvoufotonových struktur díky možnosti prodloužení konjugace bez narušení jejich planarity. Dvoufotonová absorpce fluorenových derivátů je citlivá na změny rozpouštědla a pH. Na Obrázku 6 je struktura fluorenu jehož $\delta = 3760$ GM.

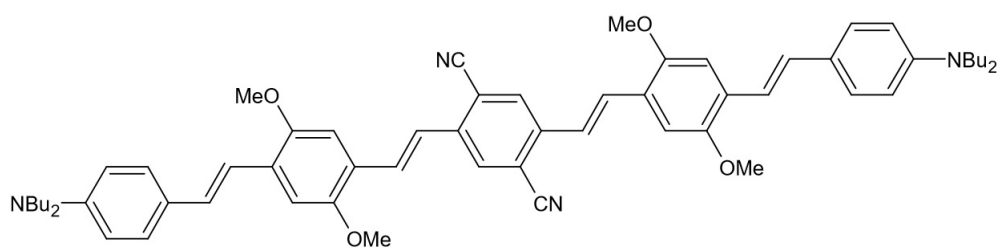
U derivátů anthracenu se hodnoty δ snižují po navázání fenylových substituentů. Po navázání 9,10-CN skupin se naopak značně zvyšují. Připojením fenylu a zároveň CN skupin se hodnoty zvýší až na hodnotu $\delta = 5530$ GM (Obrázek 7). Výhodou anthracenových derivátů je, že vykazují vysoké TPA průřezové v širokém rozsahu vlnových délek.

Diketopyrrolopyrroly Diketopyrrolopyrroly (DPP) jsou jedna z nejpozději objevených organických skupin. Díky své relativně jednoduché syntéze, vysoké termo- a foto- stabilitě a nerozpustnosti ve většině rozpouštědel, se DPP začlenily do mnoha průmyslových aplikací. Jejich deriváty se využívají jako barviva pro laky, plasty, nebo jako složka polovodičových zařízení, solárních článků a organických diod emitujících záření. Jsou typické svou jasně červenou barvou. Viz absorpční spektra na Obrázku 8 [20].

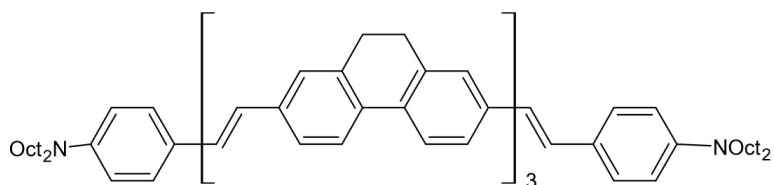
Nedávno na sebe tato barviva upoutala pozornost pro své aplikace jako dvoufotonová barviva pro dvoufotonovou mikroskopii. Těmito látkami se zabývá i tato práce, a proto jim bude věnována větší pozornost.



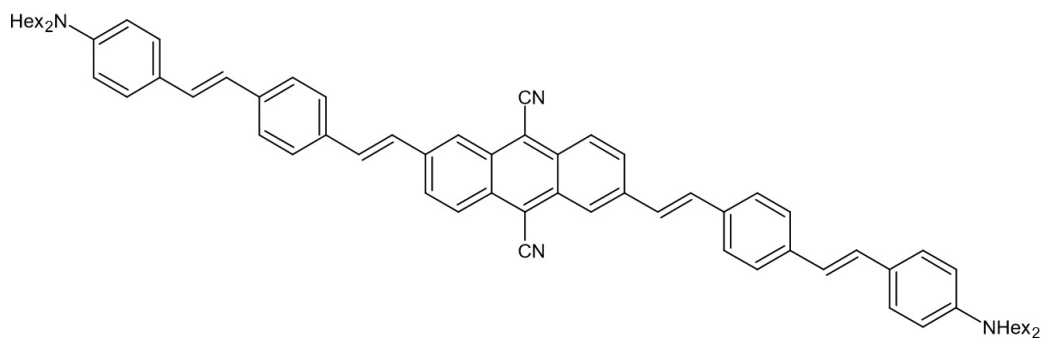
Obrázek 4: Deriváty stilbenu



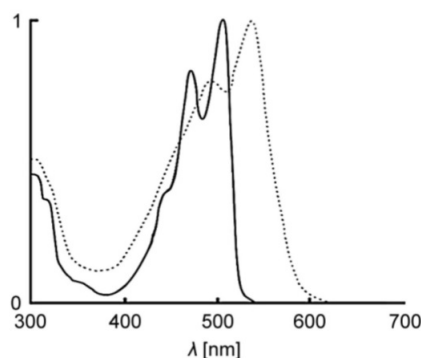
Obrázek 5: Derivát stilbenu s vysokým TPA průřezem



Obrázek 6: Derivát fluorenu



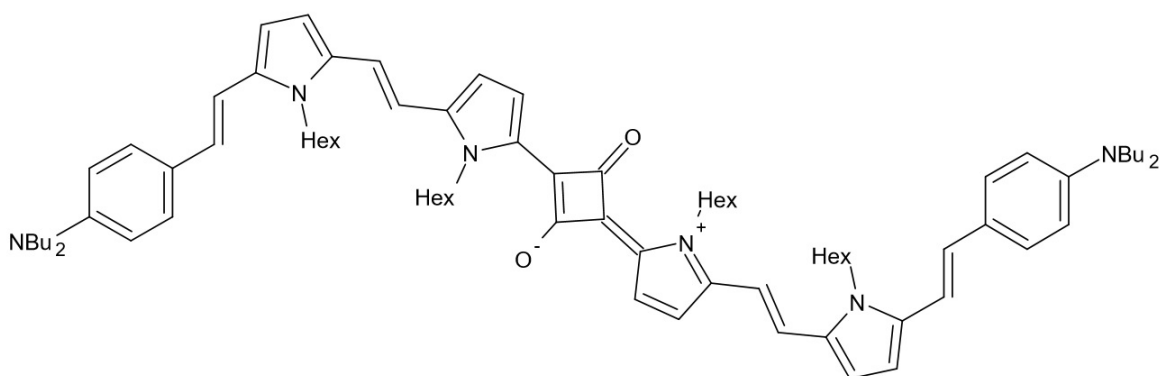
Obrázek 7: 9,10-CN Derivát anthracenu s navázanými fenylovými skupinami



Obrázek 8: Absorpční spektra DPPs v pevné fázi (tečkované spektrum) a v roztoku DMSO (nepřerušované spektrum) [20]

Deriváty thiofenu a squarainu Hodnoty δ pro tyto látky jsou pro $\lambda < 700$ nm porovnatelné nebo větší než u stilbenových derivátů obsahujících styrylovou konjugaci. D-A-D squarainová barviva jsou neúčinnějšími dvoufotonovými heterocyklickými fluorofory.

Molekula na Obrázku 9 vykazuje $\delta = 33000$ GM. Tato neobvykle vysoká hodnota je přisuzována vysokému dipólovému momentu. Změnou na strukturu A–D–A nebo A–D–D–A se TPA průřezy sníží [19].

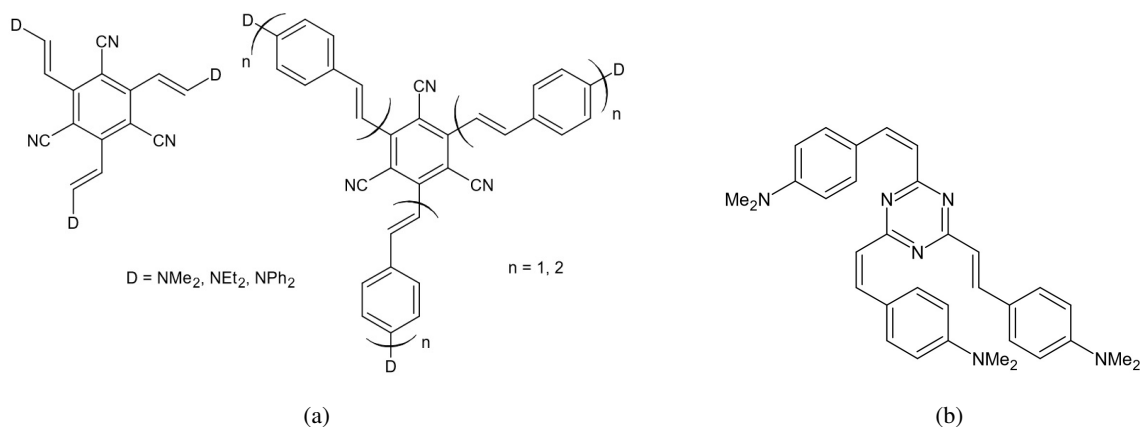


Obrázek 9: Derivát Squarainu

2.3.3 Oktupolární molekuly

První sérii oktupolárních molekul, které vykazovaly značné TPA průřezy naměřili B.R.Cho a kolegové [21]. U látky na Obrázku 10_a vlevo s navázanými NMe₂ skupinami naměřili $\delta = 197$ GM. U následující látky prodloužili konjugaci styrylovou skupinou a s navázanými NEt₂ substituenty získali $\delta = 1390$ GM. Poté tuto hodnotu navýšili změnou skupiny z NEt₂ na NPh₂, kde $\delta = 2480$ GM.

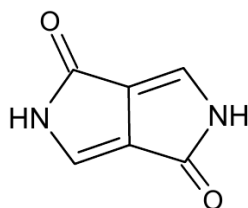
Další prodlužování konjugace na $n = 2$ k navýšení hodnot nevedlo – pravděpodobně kvůli zborcení struktury. Pro látku na Obrázku 10_b se účinnost přiblížila až k vysokým hodnotám derivátů squarainů. K obdržení vyšších TPA průřezů tedy vedlo zavedení elektron-akceptorních skupin.



Obrázek 10: Oktupolární molekuly

2.3.4 Diketopyrrolopyrroly

Základ struktury DPP 2,5-dihydropyrrolo[4,3- c]pyrrolo-1,4-dion lze vidět na Obrázku 11. Π -konjugovaný prakticky rovinný bicycklý dilaktam obsahuje ve struktuře elektronové donory (N–H) a elektronové akceptory (C=O) [22] [23].

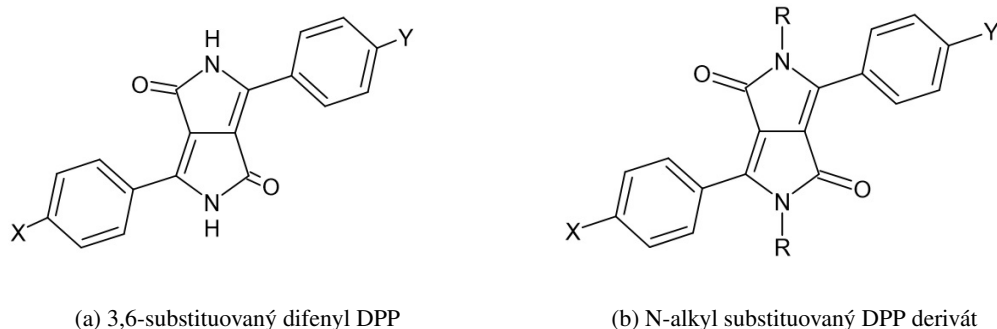


Obrázek 11: Základní struktura Diketopyrrolopyrrolo

Jádro DPP je běžně substituované v pozici 3 a 6 fenylem (DPP(Ph)₂) nebo thienylem (DPP(Th)₂). Oba substituenty zvyšují π -delokalizaci a vytvářejí silné $\pi - \pi$ interakce s jádrem DPP. Po připojení polárních substituentů na fenyl, či thienyl, viz pozice X a Y na Obrázku 12_a, na tyto dva deriváty se získají látky používané jako aktivní části v organických elektronických zařízeních. Elektronové donory i akceptory v para-pozici fenylové skupiny vedou k bathochromním posunům emisních i absorpčních spekter.

Jednoduchá alkylace dusíkových atomů (Obrázek 12_b) vede ke značným změnám vlastností získané sloučeniny. N-substituované DPP vykazují vysokou rozpustnost, jejíž příčinou je nemožnost N-substituovaných DPP derivátů formovat vodíkové můstky. Rozdíl je značný. I malý substituent, jako je methyl, značně zvýší rozpustnost. Mimo změnu rozpustnosti způsobuje N-substituce DPP i značné změny optických vlastností a to ze dvou příčin.

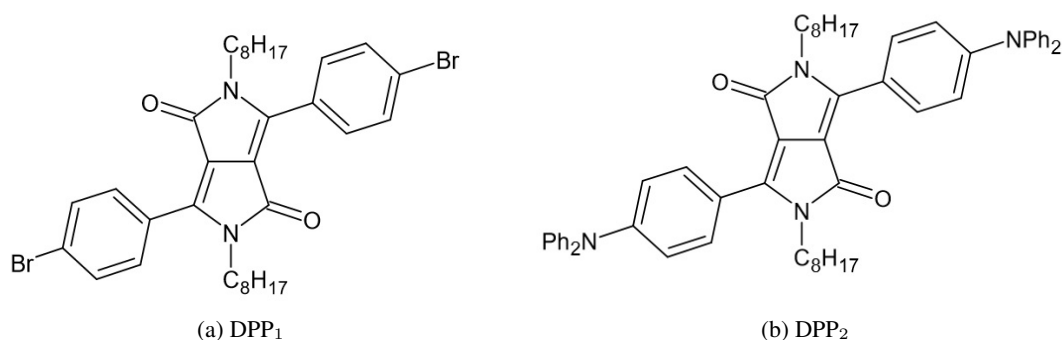
První příčinou je, že nové substituenty mají skoro vždy vliv na elektronovou hustotu dusíkových atomů, které jsou hlavní součástí chromoforu DPP. Druhou příčinou je zvýšení sterickeho efektu na aromatických substituentech v 3. a 6. pozici DPP, které může vést k jejich rotaci mimo rovinu chromoforu. Π -konjugace mezi částmi molekuly jsou tím oslabeny. Takto vzniklé úhly, mezi středem DPP a arylovými skupinami v N-alkylovaném DPP, mohou být redukovány, když fenylové skupiny na pozicích 3 a 6 jsou



Obrázek 12: Možné substituce DPP

nahrazeny menšími arylovými substituenty (furan, thiofen). Tyto deriváty jsou aplikovány v oblastech jako např. molekulární elektronika, fotovoltaika, elektroluminiscence [22][24].

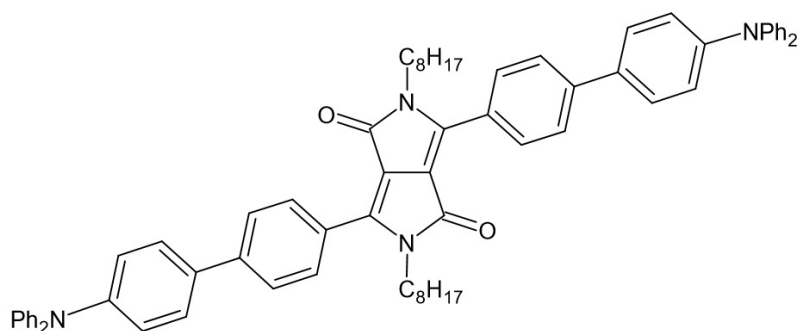
Polárními substituenty modifikované DPP, díky elektron-donorovým aromatickým substituentům a kvadrupolární struktuře, vykazují poměrně silnou TPA. První měření DPP derivátů provedl Yang a spol. [25]. Použili DPP₁ (Obrázek 13_a) jako počáteční materiál a z něj přes další reakce syntetizovali DPP₂ (Obrázek 13_b) a DPP₃ (Obrázek 14). Jsou to D–A–D barviva obsahující fenylaminové substituenty jako donory elektronů.



Obrázek 13: DPP s polárními substituenty

Maximální hodnota TPA průřezu DPP₁ je 110 GM (hodnoty TPA průřezů v této kapitole jsou měřeny metodou TPEF a mohou mít tedy značně nižší hodnoty než ty zjištěné metodou z-Scan). Pro dipolární chromofory je obvykle vlnová délka maxima TPA dvakrát vlnová délka OPA maxima. Takováto souvislost není pozorována u kvadrupolárních centrálně symetrických barviv jako jsou DPP₁, DPP₂ a DPP₃, které podléhají jiným kvantovým výběrovým pravidlům pro OPA a pro TPA. Pro centrálně symetrické chromofory se excitace přes TPA objevuje ve vyšších excitovaných stavech než při OPA, a proto je TPA maximum situováno v kratších vlnových délkách než je dvojnásobek OPA maxima.

DPP₁ vykazuje své TPA maximum při $\lambda = 700$ nm. Vnesením donorních substituentů do struktury DPP₁ vznikají D-A-D barviva, která obvykle vedou k bathochromním posunům absorpčního a fluorescenčního maxima a značnému nárůstu v TPA intenzitě. Hodnota dvoufotonového absorpčního průřezu pro DPP₂ je $\delta = 1200$ GM. Prodloužení řetězce chromoforu o další 2 benzenové kruhy u DPP₃ ovšem



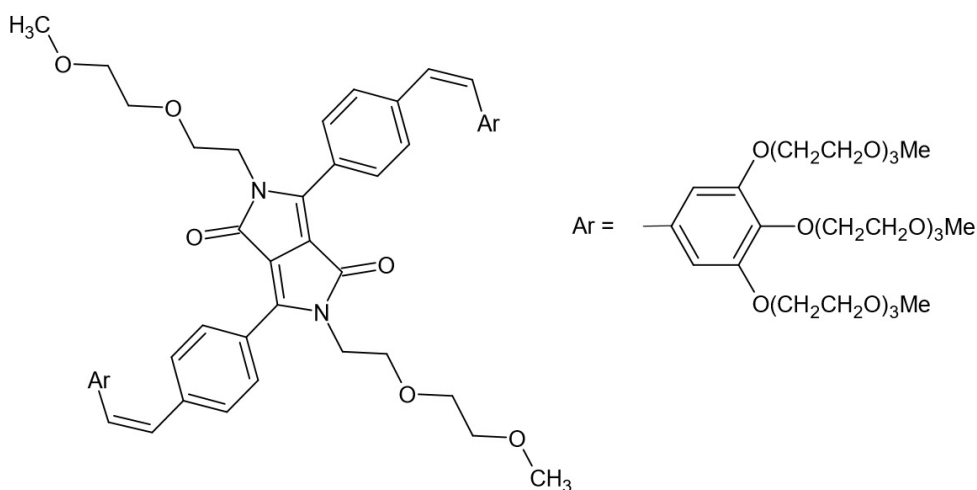
Obrázek 14: DPP₃

nezpůsobí další navýšení TPA průřezu, naopak se TPA průřez sníží na $\delta = 930$ GM. Důvodem je pravděpodobně slabá konjugace mezi benzenovými kruhy v bifenylových jednotkách kvůli sterickému bránění.

DPP₃ má větší kvantový výtěžek, a proto když porovnáme kolik absorbované energie je využito jako fluorescence je účinnost DPP₂ a DPP₃ téměř stejná. DPP₂ má však jednodušší strukturu a nižší molární hmotnost, a proto se používá častěji.

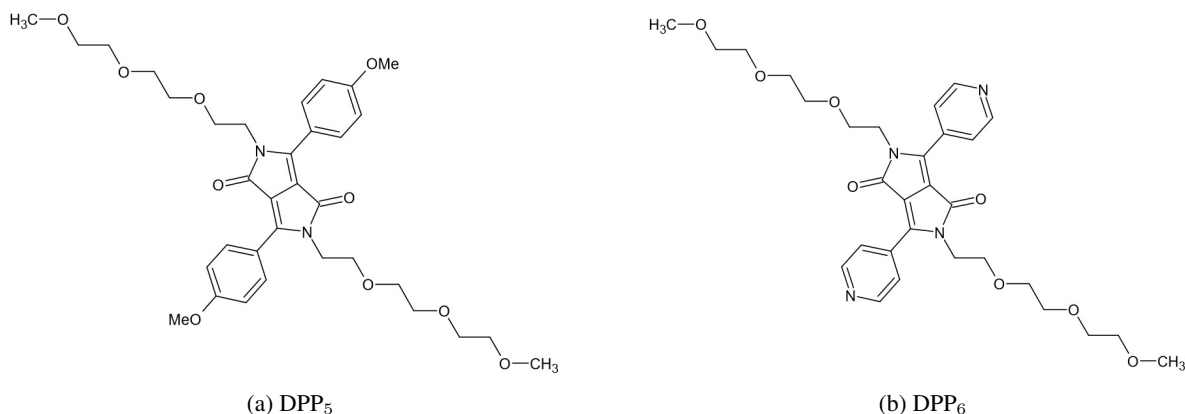
Bolze a jeho kolegové [26] syntetizovali sérii polárních DPP derivátů včetně některých sloučenin rozpustných ve vodě. Nejvyšší TPA průřez z nich vykazovalo barvivo DPP₄, jehož strukturu lze vidět na Obrázku 15), a to $\delta = 950$ GM. Toto barvivo může být použito pro značení živých buněk při TPM. Nicméně kvůli nízkému kvantovému výtěžku jsou potřebné vysoké energie laseru k obdržení vhodné kvality obrazu.

Díky tomu jsou vhodnější malé polární DPP: DPP₅ (Obrázek 16_a) a DPP₆ (Obrázek 16_b). I přes jejich nízké hodnoty TPA průřezu ($\delta = 150$ GM) vykazují ve vodě obě barviva silnější fluorescenci. Když byla barviva DPP₅ a DPP₆ použita pro zabarvení buněk při TPM, energie laseru mohla být pětikrát nižší v porovnání s DPP₄ [23].



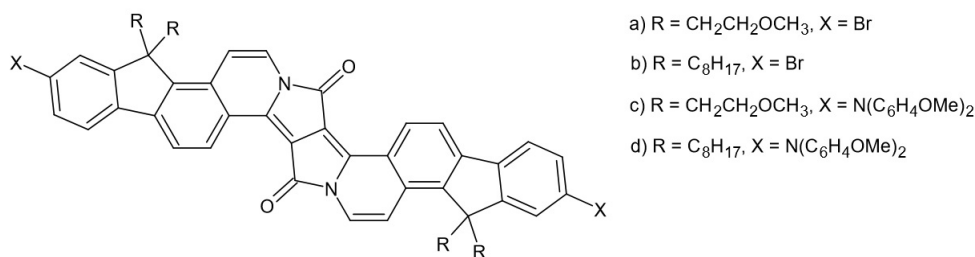
Obrázek 15: DPP₄

Marek Grzybowski a Daniel T. Gryko v roce 2015 publikovali dvoufotonové vlastnosti skupiny diacetalů a od nich odvozených cyklických barviv DPP [23]. Pro deriváty cyklických barviv DPP s fe-



Obrázek 16: Malé polární DPP

nylovými, thienylovými a benzofurylovými skupinami, nepřekročily TPA průřezy 225 GM. Lepších výsledků ($\delta = 740 - 4500$ GM) dosáhli navázáním arylových skupin, které lze vidět na Obrázku 17.



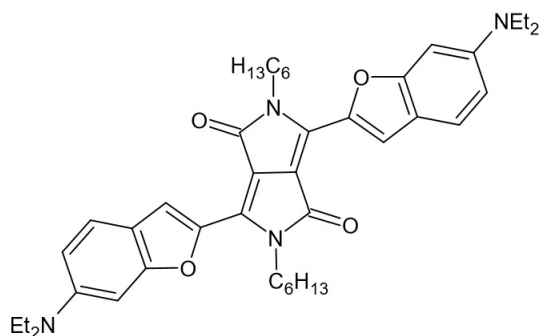
Obrázek 17: Základní struktura cyklických barviv DPP a možné deriváty

Cyklizace diacetalů DPP na odpovídající polycyklická barviva způsobuje snížení v hodnotách TPA průřezů. Avšak jelikož mají vysoké kvantové výtěžky, tak účinnost (poměr TPA průřezu ku kvantovému výtěžku) těchto cyklických barviv je obdobná nebo i vyšší. Cyklizace také způsobuje značné bathochromní posuny v OPA i TPA maximech pro všechna zkoumaná barviva. Pro tyto vlastnosti a pro vysokou účinnost TPA v oblasti vlnových délek, kde záření proniká hlouběji do tkání, vyhodnotili Grzybowski a Gryko tyto látky jako slibná TPA barviva.

Relativně vysoké hodnoty TPA průřezu ($\delta = 3200$ GM), byly také změřeny pro D-A-D kvadrupolární barvivo, které sestává z DPP jednotky jako akceptoru elektronů, který je spojený přes acetyleny s dvěma amino-porfyrinovými jednotkami, které mají povahu elektronových donorů. Vyznačuje se velkou rozpustností v polárních i nepolárních rozpouštědlech [27].

Další nedávná studie popisuje dvoufotonové vlastnosti tří D-A-D DPP derivátů obsahujících amino-substituované furany a benzofurany jako donory elektronů [28]. Tyto sloučeniny jsou svým TPA průřezem srovnatelné s DPP₂ derivátem zkoumaným Yangem [25], avšak mají větší kvantové výtěžky a tedy i účinnost. U DPP₇ (Obrázek 18) dosáhly hodnoty TPA průřezu až 3000 GM. V kombinaci s relativně vysokým kvantovým výtěžkem je toto nejúčinnější dosud známý DPP derivát.

K těmto všem zmíněným malým molekulám derivátů DPP v této kapitole, jsou známé i DPP polymery vykazující vysoké TPA průřezy [29] [30].



Obrázek 18: DPP₇

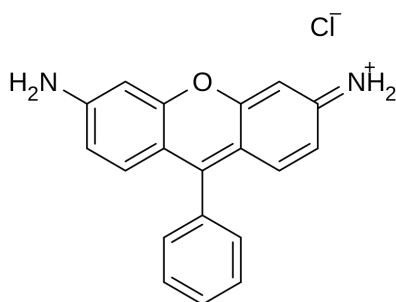
2.3.5 Další významné molekuly

Mezi další významné molekuly patří např. deriváty porfyriu. Porfyrin je výhodná základní TPA struktura, jelikož je planární a má vysoce π -konjugovanou strukturu. Díky jeho dlouhé době života tripletního stavu bývají jeho deriváty používány ve fotodynamické terapii [31].

Když se mezi sebou porfyriny propojí tak, aby se eliminovalo sterické bránění a dosáhne se vysoké planarity, hodnoty průřezů dosáhnou až $\delta = 93600$ GM. Tyto hodnoty ovšem mohou být u derivátů porfyriu navýšeny přispěním jednofotonových procesů.

Dalšími významnými molekulami jsou Rhodaminy patřící do skupiny fluoronových barviv. Jejich základní struktura je znázorněna na Obrázku 19. Používají se jako barviva a jako laser-zesilující médium. Jejich velikou výhodou jsou dobře prozkoumané jednofotonové i dvoufotonové optické vlastnosti. Díky tomu jsou často využívány jako standardy pro měření metodou TPEF.

Právě těmito optickými vlastnostmi se zabývali např. Xu a Webb [12], kteří metodou TPEF a femtosekundovým laserem, stanovili TPA průřez Rhodaminu B v methanolu při 691 nm na $\delta = 194$ GM a při 1050 nm na $\delta = 20$ GM. Pro Rhodamin 6G v methanolu pak stanovili při 700 nm hodnotu $\delta = 150$ GM [32]. Rhodaminy se také zabývali např. Makarov, Drobizhev a Rebane [14], kteří měřili jejich TPA spektra a srovnali své hodnoty s TPA průřezy Rhodaminů z mnoha zdrojů - různé koncentrace a rozpouštědla. Jimi naměřené hodnoty byly ve shodě s těmi od Xu a Weba [12].



Obrázek 19: Základní struktura Rhodaminů

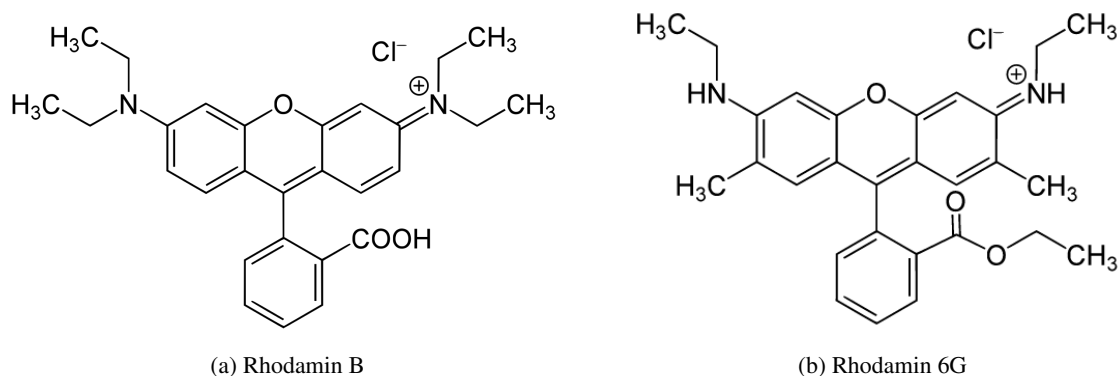
Dalšími zajímavými molekulami jsou např. deriváty trifenylaminu, jejichž TPA se zvětšuje s rostoucím počtem větvení až k hodnotě $\delta = 796$ GM [33]. Všechny následující deriváty dosahovaly podobných hodnot. Dále Paracyclofany a multi-anulénové systémy u kterých se dosahuje hodnot TPA průřezů okolo 800 GM [34] [35].

3 Experimentální část

Cílem této práce bylo nalézt souvislosti mezi chemickou strukturou látek a jejich nelineárně optickými vlastnostmi, zejména dvoufotonovou absorpcí (TPA). V této práci byla pro charakterizaci TPA využívána metoda měření fluorescence excitované dvěma fotony (two-photon excited fluorescence, TPEF). Protože šlo o nově řešenou problematiku, bylo zapotřebí nejprve sestavit experimentální zařízení (Kapitola 3.2), otestovat jeho funkčnost a nalézt vhodné podmínky pro měření TPA (Kapitola 4.1). Po vytvoření metodiky měření byly charakterizovány čtyři nové materiály na bázi difenyl-diketo-pyrrolo-pyrrolů, u kterých byla systematicky měněna chemická struktura tak, aby bylo možné zjistit vliv polárních substituentů na TPA. Pro lepší pochopení zjištěných výsledků a detailnější diskusi byly dále charakterizovány základní optické charakteristiky - absorpční a emisní spektra a kvantové výtěžky fluorescence v různých polárních prostředích.

3.1 Materiály a přístroje

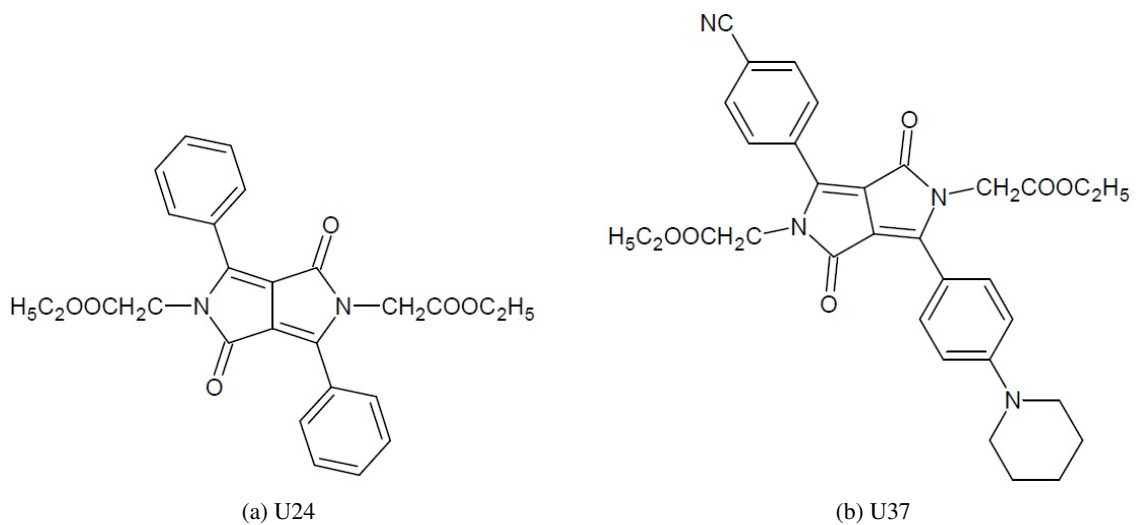
Pro ověření metody a vytvoření metodiky měření TPA bylo využito látek Rhodaminu B a Rhodaminu 6G od firmy Sigma-Aldrich. Jejich struktury lze vidět na Obrázku 20..



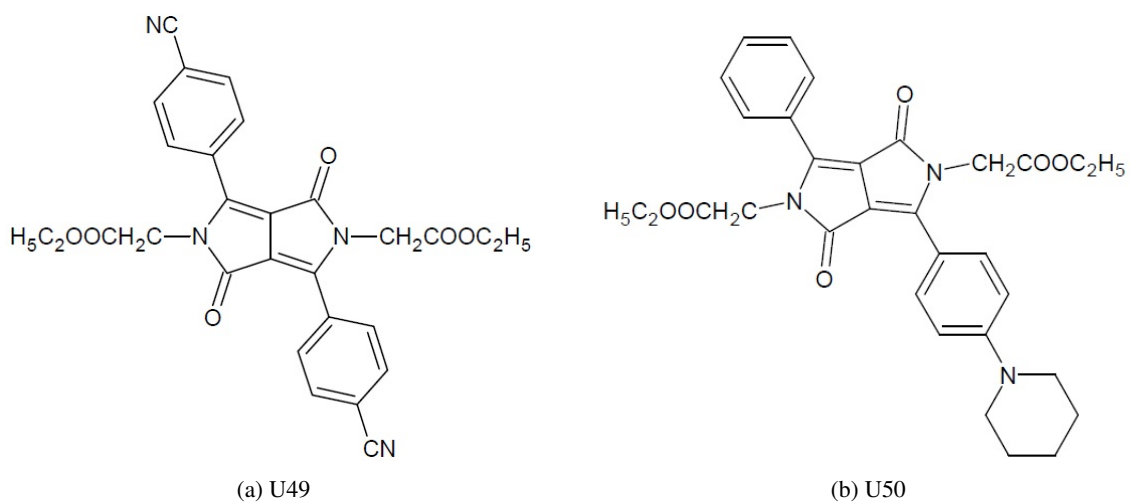
Obrázek 20: Struktura Rhodaminu B a Rhodaminu 6G

Látky, které se dále zkoumaly, a jejichž optické vlastnosti dosud nebyly experimentálně stanoveny, jsou Diketopyrrolopyrroly U24, U37, U49 a U50, které byly syntetizovány ve Výzkumném ústavu organických syntéz a.s.. Na Obrázku 21 a Obrázku 22 lze vidět jejich struktury. Látka U24 představuje základní *N*-substituovaný skelet difenyl-diketo-pyrrolo-pyrrolu. Látka U37 je substituovaná nesymetricky. Jeden fenyl má v para poloze elektronově donorní (označovaná jako push, D) skupinu (piperidin), zatímco druhý obsahuje elektronově deficientní CN skupinu (označovaná jako pull, A). Tato látka tak představuje chromofor typu A2-A1-D, kde A1 je vlastní pyrrolopyrrol, který má sám elektronově akceptorní charakter. Látka tedy obsahuje dvě akceptorní skupiny o různé síle. Látka U49 je na obou fenylech substituovaná elektronově deficientními CN skupinami a tvoří tak chromofor A2-A1-A2. Poslední látka U50 je substituovaná pouze na jednom fenylu elektronově donorním piperidinem. Tato struktura tak představuje chromofor typu D-A (push-pull).

Všechna jednofotonová absorpční spektra v této práci byla naměřena pomocí spektrometru Varian Cary 50. Použité koncentrace roztoků odpovídaly maximální absorbanci $A \approx 1$.



Obrázek 21: Struktura U24 a U37

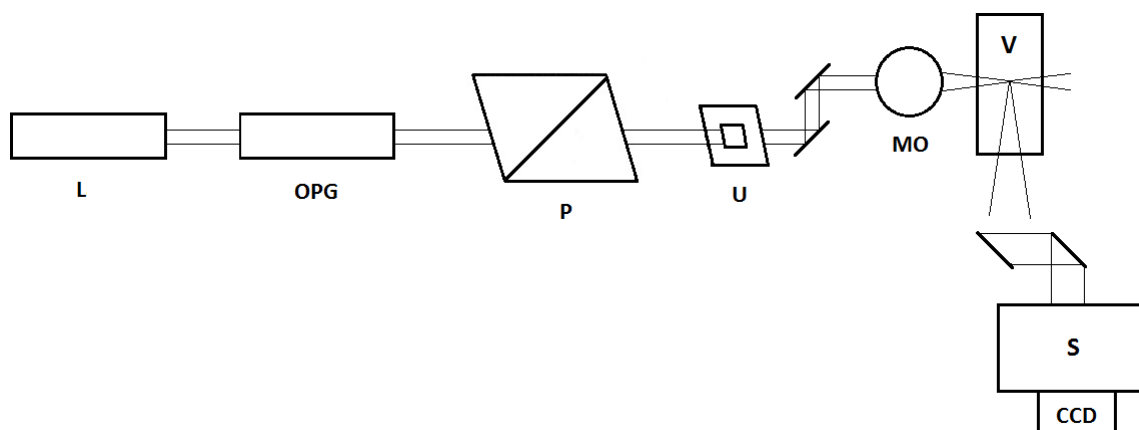


Obrázek 22: Struktura U49 a U50

Emisní a excitační spektra, spolu s kvantovými výtěžky, byla pro Rhodamin B a 6G naměřena spektrofotometrem Horiba FluoroLog. Jednofotonová emisní spektra a všechny dvoufotonové charakteristiky Diketopyrrolopyrrolů byly naměřeny aparaturou popsanou v následující kapitole 3.2.

3.2 Přístroj pro měření dvoufotonových charakteristik

Schéma experimentálního uspořádání je zobrazeno na Obrázku 23. Pro naše měření byl použito pikosekundového laseru *Ekspla PL2143A*. Tento laser je typu Nd:YAG - aktivním materiálem je izotropní krystal Yttrium Aluminium Granátu ($Y_3Al_5O_{12}$) dopovaný ionty neodymu (Nd^{3+}). Laser je pulsní, se základní frekvencí 10 Hz a délkou jednoho pulsu $30,0 \pm 0,3$ ps. Maximální energie a stabilita pulsu jsou pro vybrané vlnové délky uvedeny v Tabulce 1.



Obrázek 23: Schéma měření, kde: L - laser, OPG - optický parametrický generátor, P - polarizátor, U - uzávěrka, MO - mikroskopický objektiv, V - vzorek, S - spektrograf a ICCD detektor.

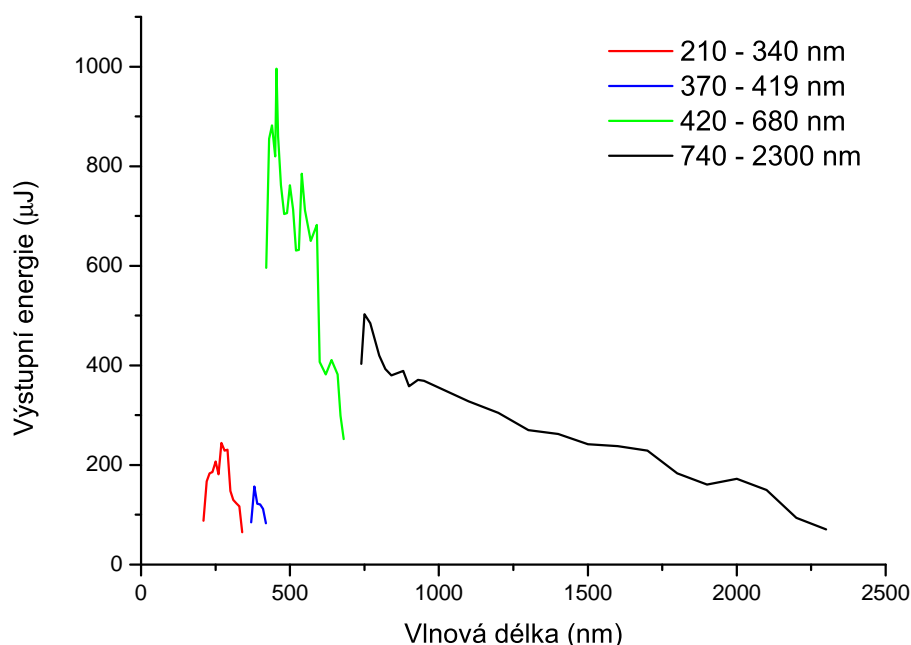
Tato práce se zaměřuje na zjištění TPA spekter, k čemuž je zapotřebí mít možnost spojitě měnit vlnovou délku excitačního záření. K získání požadovaného paprsku bylo použito optického parametrického generátoru OPG PG401-SH od firmy EKSPLA. Délka výstupního pulsu z OPG je 20–30 ps s energií přibližně 10 mJ. Rozsah laditelných vlnových délek je 210 – 340 nm a 370 – 420 nm pro výstupní paprsek polarizovaný vertikálně, a 420–680 nm a 740 – 2300 nm pro paprsek polarizovaný horizontálně.

Na Obrázku 24 lze vidět závislost energie výstupního laserového paprsku z OPG na jeho vlnové délce. Intenzita excitačního paprsku je nastavována pomocí otočného polarizátoru. Pomocí závěrky je paprsek zastaven a na vzorek je pouštěn pouze v případě měření, což snižuje vybělování (fotodegradaci) látky. Paprsek je dále usměrněn pomocí dvou zrcátek a před vstupem do kyvety kolimován pomocí mikroskopického objektivu.

Tabulka 1: Parametry laserového pulsu

λ	Maximální energie (mJ)	Stabilita (%)
1064 nm	$50,4 \pm 0,5$	1,5
532 nm	$29,5 \pm 0,4$	3
355 nm	$19,0 \pm 0,5$	5,5

V kyvetě dojde k vyvolání fluorescence, která je soustavou mimoosých parabolických zrcadel soustředěna do spektrografu Andor Shamrock typu Czerny-Turner 0,303 m, f/4, který je spojen s ICCD detekto-



Obrázek 24: Výstupní energie OPG

rem Andor i-Star model DH740-18U-03. Celá aparatura je automatizovaná a ovládaná pomocí speciálně vytvořeného software.

4 Výsledky a diskuze

Pro zjištění vlivu změny chemické struktury na TPA bylo nejprve nutné zavést metodu měření. Aby bylo možné aplikovat metody pro zjištění TPA účinností, bylo dále potřeba nalézt vhodné podmínky měření, zejména vhodné koncentrace roztoků a vhodnou intenzitu laseru, aby se eliminovali nežádoucí jevy jako jsou saturace vzorku, reabsorpce, tvorba dimerů a agregátů a příliš malý nebo velký signál na detektoru. Využili jsme k tomu dobře prozkoumané látky Rhodamin B a Rhodamin 6G. Po zavedení a ověření metody byly měřeny, stanovovány a diskutovány jejich dvoufotonové absorpční vlastnosti. U zkoumaných látek, kterými jsou DPP - U24, U37, U49 a U50, se navíc řešily solvatační děje a jejich korelace mezi strukturou molekul a dvoufotonovou absorpcí.

4.1 Vývoj metody

4.1.1 Metoda zjištění TPA průřezů

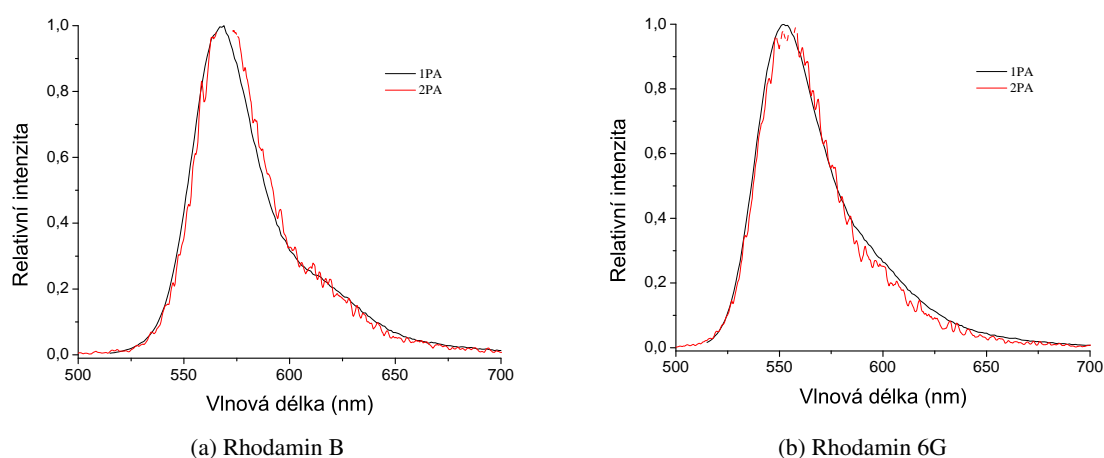
TPA průřezy Rhodaminu B a Rhodaminu 6G byly získány měřením fluorescenčního signálu generovaného dvoufotonovou absorpcí při jedné vlnové délce a při různých energiích laseru. Tímto způsobem lze získat dvoufotonový emisní průřez δ_{TPE} , který je lineárně úměrný TPA průřezu δ_{TPA} dle vztahu:

$$\delta_{TPE} = \eta \delta_{TPA} \quad (5)$$

Konstantou proporcionality η je dvoufotonový fluorescenční kvantový výtěžek fluorescence dané látky. Vzhledem k tomu, že excitovaný stav je stejný při jednofotonové i dvoufotonové excitaci, je tento fluorescenční kvantový výtěžek možné získat i měřením fluorescence při OPA. Tento předpoklad byl ověřen pomocí srovnání fluorescence excitované jedním a dvěma fotony. Kvantový výtěžek byl pro Rhodamin B a Rhodamin 6G změřen – společně s dalšími charakteristikami (viz Tabulka 2).

Tabulka 2: Molární absorpční koeficienty a kvantové výtěžky Rhodaminu B a Rhodaminu 6G

Látka	Molární absorpční koeficient ϵ_λ ($l \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$)	Kvantový výtěžek (%)
Rhodamin B	112000 ± 2000	64 ± 3
Rhodamin 6G	102200 ± 300	$84,4 \pm 0,4$



Obrázek 25: Normované srovnání jednofotonové emise Rhodaminu B a 6G v ethanolu ($10^{-6} mol \cdot l^{-1}$) a dvoufotonové emise Rhodaminu B a 6G v ethanolu ($10^{-6} mol \cdot l^{-1}$).

Na Obrázku 25 lze vidět, že si jednofotonová a dvoufotonová emisní spektra odpovídají, tudíž lze dvoufotonový kvantový výtěžek fluorescence považovat za rovný jednofotonovému.

V rovnici 6 [32] je dvoufotonový emisní průřez nového fluoroforu dán do souvislosti se známými experimentálně zjištěnými parametry.

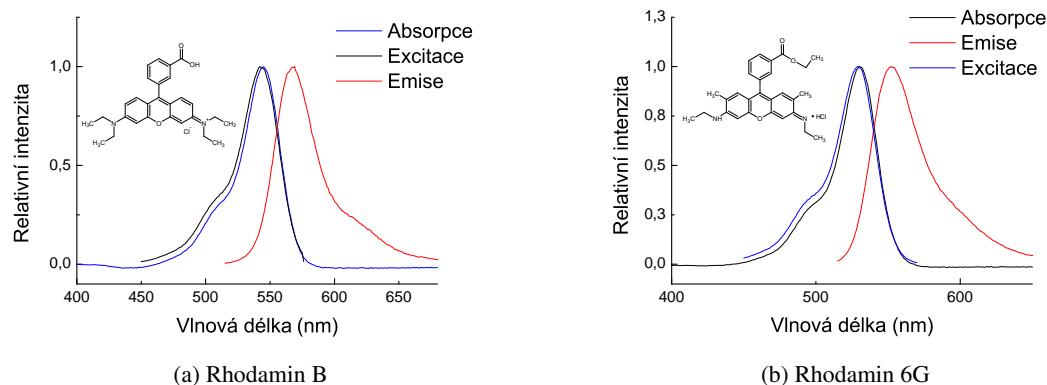
$$\delta_{TPE(NEW)} = \delta_{TPE(STD)} \frac{c_{STD}}{c_{NEW}} \frac{S_{NEW}}{S_{STD}} \frac{n_{STD}}{n_{NEW}} \quad (6)$$

Tyto zahrnují dvoufotonový emisní průřez známého kalibračního standardu ($\delta_{TPE(STD)}$), koncentrace zkoumaného (c_{NEW}) a kalibračního (c_{STD}) roztoku, index lomu rozpouštědla zkoumaného (n_{NEW}) i kalibračního (n_{STD}) roztoku a směrnice závislosti $F = f(P^2)$ (rovnice 7) zkoumaného (S_{NEW}) a kalibračního (S_{STD}) roztoku.

4.1.2 Nalezení vhodných podmínek pro měření

Rovnice 6 vychází zejména z předpokladu, že směrnice závislosti $F = f(P^2)$ vyjadřuje čistě závislost dvoufotonové absorpce. Je tedy nutné nalézt vhodné experimentální podmínky, které tento předpoklad

vystihují. Jako kritické se ukázalo nalézt vhodnou koncentraci. Pro nalezení vhodných koncentrací roztoků bylo potřeba experimentálně stanovit základní optické vlastnosti Rhodaminu B a Rhodaminu 6G, na kterých byla provedena první měření a interpretace výsledků. byla změřena jejich absorpční, excitační a emisní spektra (Obrázek 26) - maxima uvedena v Tabulce 3 - aby je bylo možné srovnávat se spektry dvoufotonovými.

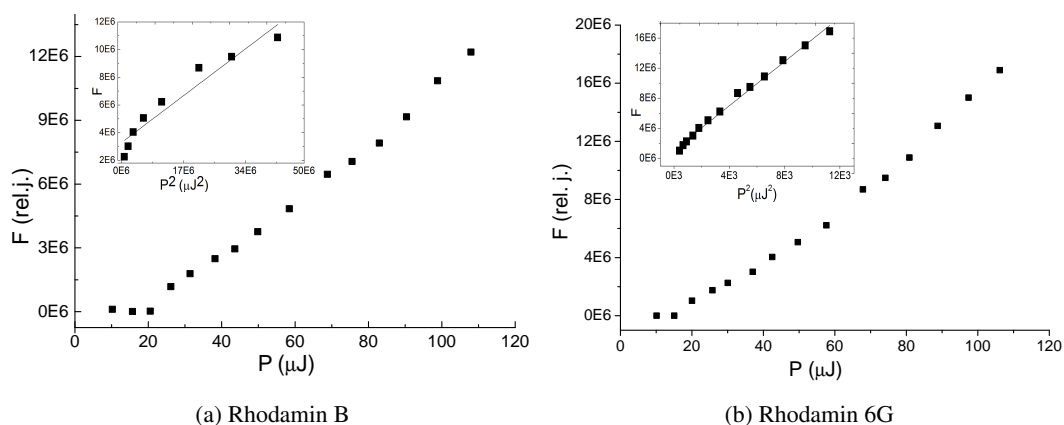


Obrázek 26: Normovaná absorpční, excitační a emisní spektra Rhodaminu B a 6G ($10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) v ethanolu.

Tabulka 3: Významné vlnové délky Rhodaminu B a Rhodaminu 6G

Látka	λ_{max} absorpční (nm)	λ_{max} excitační (nm)	λ_{max} emisní (nm)
Rhodamin B	545	542	569
Rhodamin 6G	530	529	552

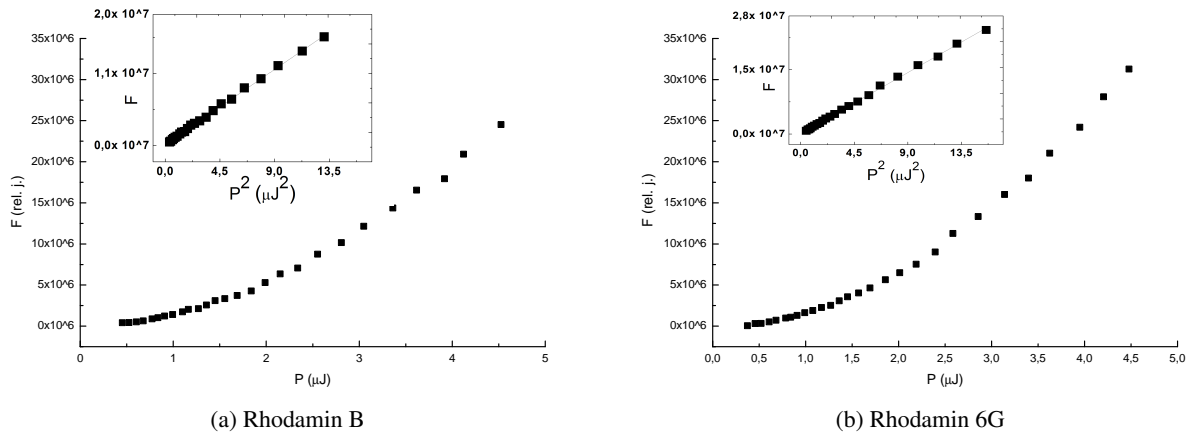
Při příliš nízkých koncentracích může být množství molekul v roztoku malé, může tedy docházet k saturaci vzorku (fotonů je více než molekul) a také k neměřitelnosti signálu přístroji. Naopak při vysokých koncentracích dochází v roztoku k tvorbě dimerů a agregátů, čímž se mění koncentrace absorbujících molekul.



Obrázek 27: Závislost integrované dvoufotonové emise F na intenzitě laseru P (hodnoty v řádu stovek μJ) Rhodaminů B a 6G ($10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) v ethanolu s vloženou závislostí F na P^2 .

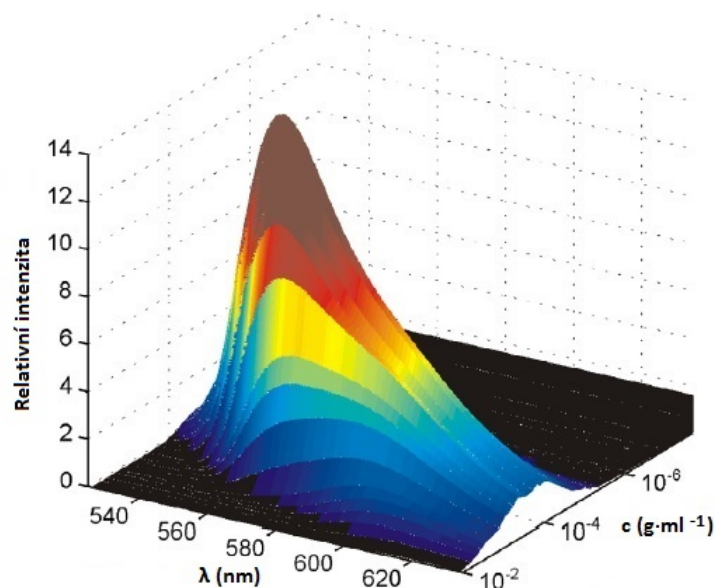
Nejdříve byla postupně navyšována energie laseru, a v každém kroku byla tato energie změřena. Pro

každou energii bylo také změřeno emisní spektrum vyzářeně po dvoufotonové excitaci. Toto spektrum bylo následně integrováno a vzniklá závislost integrované dvoufotonové emise F na intenzitě laseru P byla vynesena do grafu. Pro Rhodaminu B a 6G o koncentraci $c = 10^{-6} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ je tato závislost vidět na Obrázku 27. Lze pozorovat, že závislost neměla požadovaný tvar, a proto byla koncentrace navýšena na $c = 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Naměřenou závislost lze vidět na Obrázku 28.



Obrázek 28: Závislost zintegrované TPA emise F na intenzitě laseru P (hodnoty v řádu jednotek μJ) Rhodaminu B a 6G ($10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) v ethanolu s vloženou závislostí F na P^2 .

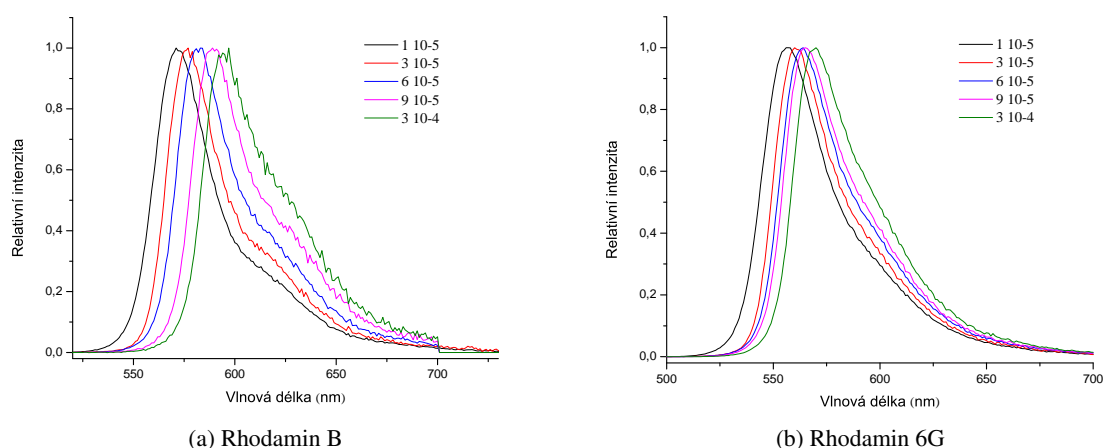
U takto vysokých koncentrací se objevila - v porovnání s Obrázkem 26 - nežádoucí deformace tvaru emisních spekter, díky zpětné absorpci emitovaného záření. Na Obrázku 29 je 3D diagram znázorňující závislost tvaru emisního spektra na koncentraci Rhodaminu 6G [36]. Je zde patrné, že od koncentrace přibližně $10^{-5} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$ způsobuje její další navyšování červený posun maxima emise a jeho intenzita se značně snižuje.



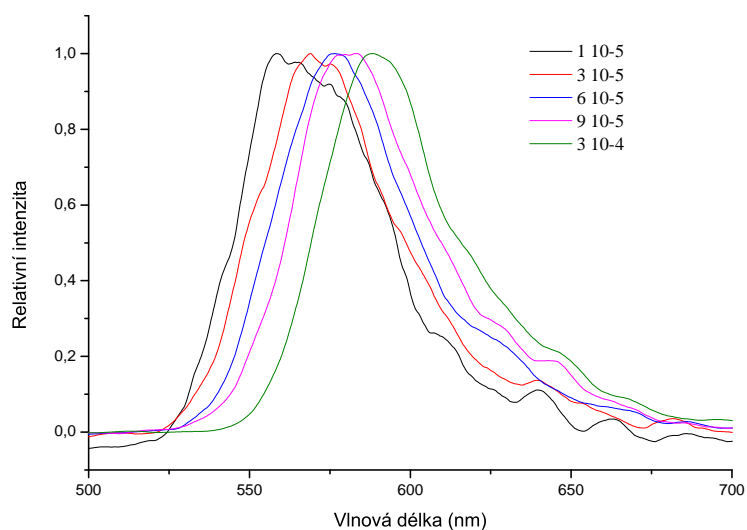
Obrázek 29: Emisní spektra Rhodaminu 6G ve vodě při různých koncentracích (převzato z [36]).

Rozdíl spekter je způsoben tvorbou dimerů nebo agregátů molekul [37]. Tvorba dimerů ovlivňuje rozložení elektronů a následkem jsou změny optických vlastností - emise okolo 600 nm. Při nízkých koncentracích jsou molekuly izolované od ostatních, jsou plně solvované a emisní maximum je okolo 560 nm.

Pro zjištění vhodné koncentrace pro stanovení TPA průřezů bylo připraveno 5 roztoků Rhodaminu 6G a Rhodaminu B o koncentracích $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ až $4 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Byla změřena jejich emisní spektra excitovaná OPA (Obrázek 30). Už při koncentraci $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ docházelo k posunu maxima spektra o 2 – 4 nm k vyšším vlnovým délkám. Stejný jev byl pozorován i v případě excitace molekul pomocí TPA (Obrázek 31).



Obrázek 30: Normovaná emisní spektra Rhodaminu B a Rhodaminu 6G v ethanolu pro různé koncentrace $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ – $3 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.



Obrázek 31: Normovaná dvoufotonová emisní spektra Rhodaminu B v ethanolu pro různé koncentrace $1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ – $3 \cdot 10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$.

Z provedených experimentů je zřejmé, že pro zjištění TPA průřezu je nutné pracovat s vyššími koncentracemi molekul (kvadratický charakter závislosti fluorescence na intenzitě excitačního laseru), které

ale vede k deformovanému fluorescenčnímu spektru. Optimálních podmínek tedy nelze dosáhnout pouze pomocí změny koncentrace. Pro další měření byla vybrána koncentrace $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$, u níž byl posun maxima emise nejnižší, a dále byly hledány další možnosti, jak reabsorpci zamezit.

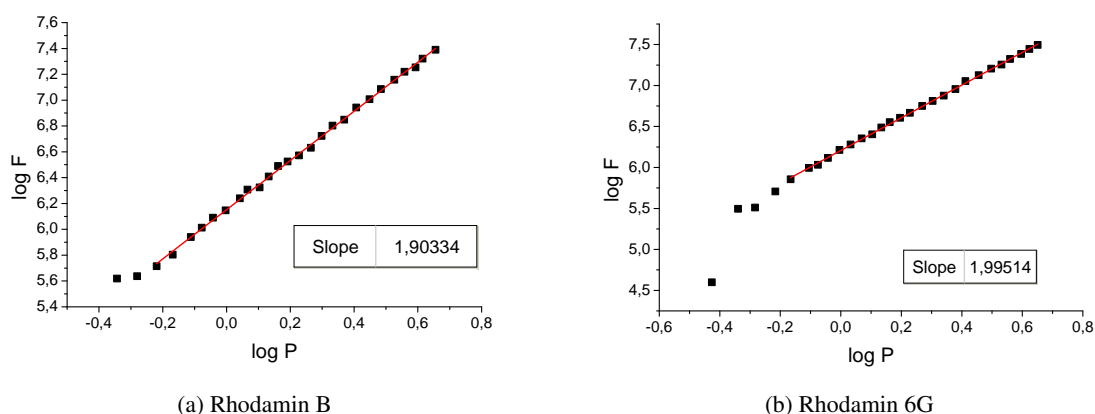
Po nalezení vhodné koncentrace bylo zapotřebí eliminovat jev reabsorpce. Protože absorpce záření je přímo úměrná nejenom koncentraci, ale i délce optické dráhy, kterou záření urazí v absorbujícím médiu (Lambert-Beerův zákon) byla reabsorpce snížena použitím kyvety o velikosti $l = 0,1 \text{ cm}$. Emitované záření tedy urazí od místa excitace polovinu této dráhy. Tento postup se ukázal být vyhovující a v dalších experimentech byl vždy využíván.

4.1.3 Nalezení dat odpovídajících TPA

Směrnice pro dosažení do rovnice 6 musí být vypočítána pouze z té části měřené závislosti $F = f(P^2)$ (výřezy v Obrázku 28), která odpovídá dvoufotonové absorpci. Z měřené závislosti bylo tedy nutné tuto oblast vybrat. Při nízkých intenzitách laseru nemusí být emise přístrojem měřitelná, nebo může být hustota toku fotonů nízká a nebude docházet k TPA. Naopak, při vysokých intenzitách laseru může docházet k saturaci odezvy vzorku nebo různým interakcím mezi excitovanými molekulami.

$$F = P^2 \cdot \alpha \rightarrow \log F = 2 \cdot \log P + \log \alpha \quad (7)$$

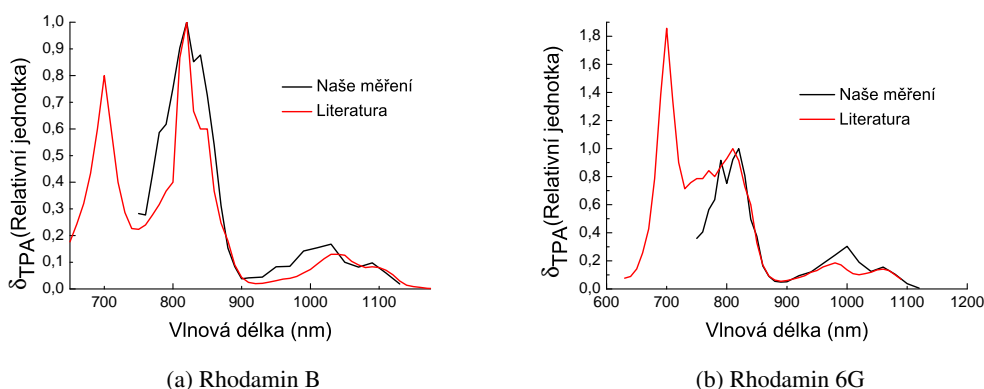
Pro zjištění, která data odpovídají TPA, tedy nejsou ovlivněna výše zmíněnými anomáliemi, byla vynesena závislost logaritmu emise F na logaritmu intenzity laseru P (Obrázek 32) a vybrána taková oblast, jejíž směrnice se nejvíce blíží hodnotě 2. Tato hodnota vyplývá z rovnice 7.



Obrázek 32: Závislost logaritmu TPA emise F na logaritmu intenzity laseru P Rhodaminu B a 6G ($10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) v ethanolu.

4.1.4 Výsledky optimalizace podmínek

Zjištěné TPA průřezy pro Rhodamin B a Rhodamin 6G vypočtené ze závislostí při optimalizovaných podmínkách jsou: $\delta_{TPE(B)} = 7 \pm 2 \text{ GM}$ a $\delta_{TPE(6G)} = 4 \pm 1 \text{ GM}$. Nalezené publikované TPA průřezy odpovídající našim podmínkám, kterými jsou: metoda TPEF, rozpouštědlo - ethanol a použití pikosekundového laseru o $\lambda \approx 1024 \text{ nm}$ je pro Rhodamin 6G $\delta_{TPE(6G)} = 3,6 \pm 0,5 \text{ GM}$ [14]. Hodnoty pro Rho-

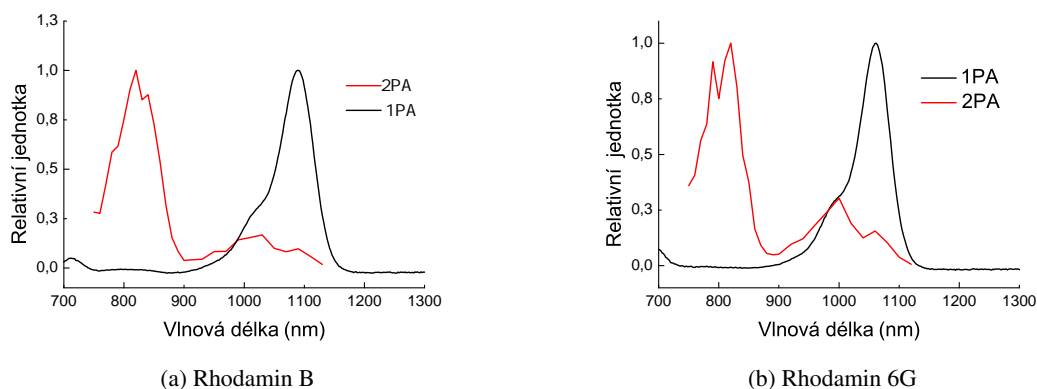


Obrázek 33: Normovaná absorpční dvoufotonová spektra Rhodaminu B a 6G – srovnání s literaturou [14].

damín 6G v daných intervalech shodují. Pro Rhodamin B nebyly nalezené hodnoty, odpovídající našim podmínkám, které by bylo možné srovnat.

Dále byla změřena TPA spektra, která jsou zobrazena na Obrázku 33. V tomto obrázku jsou porovnávána naměřená TPA spektra se spektry publikovanými [14]. TPA spektra zjištěná v této práci a spektra získaná z literatury si tvarově odpovídají. Mírné odchylky mohou být způsobené kolísáním stability laserového pulsu (viz Tabulka 1).

Na Obrázku 34 lze vidět srovnání jednofotonových a dvoufotonových absorpčních spekter Rhodaminu B a 6G. Pro vizuální srovnání jsou spektra vynesena na stejné škále vlnové délky, ale pro jednofotonové spektrum byly vlnové délky vynásobeny dvěma. Osa x obsahuje vlnové délky náležící dvoufotonové absorpci. Výběrová pravidla pro jedno a dvoufotonové optické přechody se liší, a proto se liší i jejich absorpční spektra. K jednofotonové absorpci dochází ve vyšších vlnových délkách než u dvoufotonové absorpce. Takové spektrální rozložení indikuje, že nejnižší jednofotonově dovolený excitovaný stav je dvoufotonově zakázaný a naopak vyšší excitovaný stav je dovolený pouze dvoufotonovou excitací.



Obrázek 34: Srovnání OPA a TPA absorpčních spekter Rhodaminu B a 6G v ethanolu

4.2 Charakterizace nových materiálů - DPP

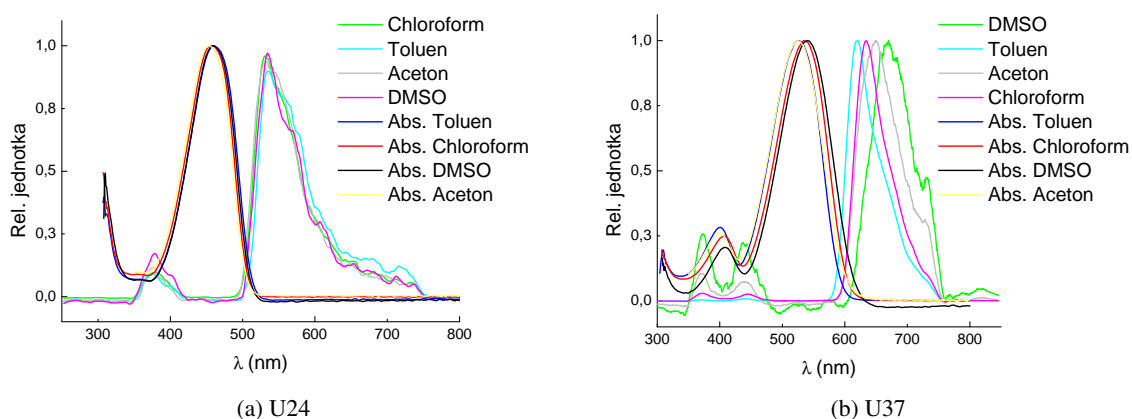
Diketopyrrolopyrroly představují zajímavou skupinu látek pro optické aplikace zejména pro jejich dobrou fotostabilitu, relativně jednoduchou syntézu a modifikaci struktury, která vede k velké změně optických vlastností. Je tak možné připravit širokou škálu látek, které mají požadované vlastnosti pro konkrétní použití. Zatímco vliv různých substituentů na absorpci a fluorescenci je již znám relativně dlouho, TPA je u této skupiny látek zkoumána poměrně krátce. Proto je v této části vliv některých substituentů na TPA zkoumán.

Deriváty Diketopyrrolopyrrolů jsou v teoretické části zařazené do kvadrupolárních látek. Je ovšem potřebné podívat se na každou molekulu zvlášť a prozkoumat její charakter, aby bylo možné interpretovat naměřená data. Nejdříve se zkoumaly jejich jednofotonové optické vlastnosti a následně i jejich dvoufotonová absorpční spektra.

4.2.1 Jednofotonové optické vlastnosti

Molekula U24 má strukturně symetrické uspořádání typu D- π -A- π -D. Fenyly zde vystupují jako slabé donory elektronů a jádro DPP jako jejich akceptor. Látka se tedy jeví jako kvadrupolární. Fenyly jsou však v porovnání s dalšími polárními substituenty použitými v této práci poměrně slabé.

Nízká polarita látky se projevuje jako malá změna optických vlastností při změně polarity prostředí. Na Obrázku 35_a jsou normovaná absorpční a emisní spektra látky v rozpouštědlech o různé dielektrické konstantě (solvatochromie). Je zde patrné, že tato látka se tedy z hlediska optických vlastností nedá zařadit mezi kvadrupolární nebo dipolární látky. Jak lze vidět na Obrázku 35_a není u ní pozorován solvatochromismus, absorpce ani fluorescence.



Obrázek 35: Normovaná absorpční a emisní spektra látek U24 a U37

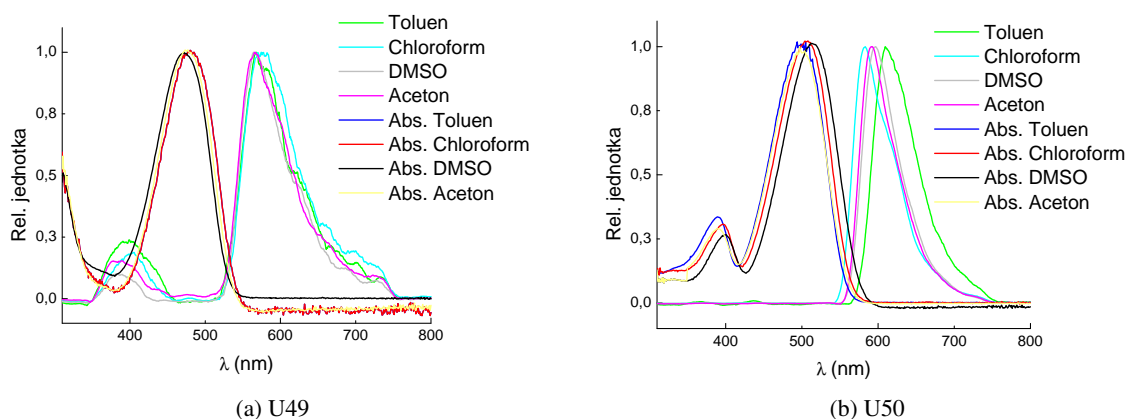
Molekula U37 je strukturně nesymetrická a je typu A- π -A- π -D. Kyano skupina -CN zde vystupuje jako elektronový akceptor a pyperidinová skupina jako donor. U této molekuly tudíž převažuje dipolární charakter - její rozložení elektronů je hustější směrem ke kyano skupině - a na její elektronové rozložení bude mít vliv polarita rozpouštědla. To lze vidět na Obrázku 35_b, kde pozorujeme malou absorpční solvatochromii a výraznější fluorescenční solvatochromii. Celkově největší posun emisních maxim je mezi toluenem a DMSO - činí 49 nm.

Tabulka 4: Solvatační efekty na optické vlastnosti U37

Rozpouštědlo	δ_{abs} (nm)	δ_{em} (nm)	Stokesův posun (cm^{-1})	Dialektrická konstanta
DMSO	540	670	3593	46,7
Toluen	526	621	2908	2,38
Aceton	524	650	3699	20,7
Chloroform	535	634	2919	4,81

V Tabulce 4 jsou shrnuty tyto posuny a jsou zde zároveň uvedeny dialektrické konstanty daných rozpouštědel. Můžeme vidět, že velikost posunu emisního spektra stoupá s polaritou rozpouštědla.

Molekula U49 je strukturně symetrická a je typu A- π -A- π -A. Z hlediska optických vlastností se síla elektronových akceptorů neliší natolik, aby docházelo k výraznější solvatochromii, a proto je molekula nepolární a neprojevuje se u ní ani absorpční ani excitační solvatochromismus, což lze vidět níže na Obrázku 36_a.



Obrázek 36: Normované absorpční a emisní spektrum U49 a U50

Struktura molekuly U50 je nesymetrická typu D- π -A- π -D. Tento kvadrupolární motiv je převážen tím, že fenyl je slabý donor a nezapojuje se tak příliš do polarity molekuly. Pouze mírně oslabuje převažující dipolární charakter vzniklý mezi středem DPP a piperidinovým donorem. Díky této polaritě se u této molekuly projevuje solvatochromismus (viz Obrázek 36_b), který lze v malé míře vidět u absorpčních a viditelněji u emisních spekter. Absorpční a emisní maxima jsou uvedena v Tabulce 5. Největší rozdíl emisních maxim mezi chloroformem a toluenem činí 27 nm, a je tedy menší než u U37, kde byl dipolární charakter silnější. U této látky nebyl pozorován trend většího posunu spektra při větší polaritě rozpouštědla.

Tabulka 5: Solvatační efekty na optické vlastnosti U50

Rozpouštědlo	δ_{abs} (nm)	δ_{em} (nm)	Stokesův posun (cm^{-1})	Dialektrická konstanta
DMSO	520	597	2480	46,7
Toluen	509	610	3253	2,38
Aceton	497	592	3229	20,7
Chloroform	514	583	2303	4,81

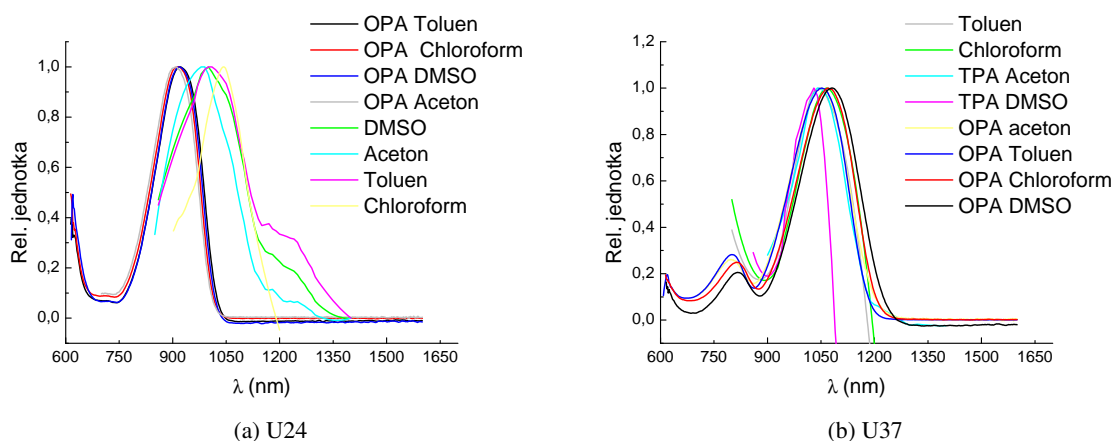
Podle literatury lze z jednoduše zjistitelných jednofotonových absorpčních a fluorescenčních spekter získat představu o dvoufotonové účinnosti kvadrupolárních látek [38]. To může být výhodné pro prvotní výběr a design molekul.

Molekuly nevykazující absorpční solvatochromismus a vykazující silný fluorescenční solvatochromismus, znatelný již v lehce polárních rozpouštědlech, budou mít pravděpodobně nízké TPA průřezy. Kvadrupolární molekuly, vykazující fluorescenční solvatochromismus pouze ve vysoce polárních rozpouštědlech, je budou mít větší a největší TPA průřezy by měly vykazovat chromofory bez známek solvatochromismu.

Po aplikaci této teorie na námi měřené látky zjistíme, že by největší TPA průřezy měly mít látky U24 a U49, avšak jelikož je u nich kvadrupolární charakter - pro který je platná tato teorie - velmi slabý, tak je to nepravděpodobné. Větší TPA průřezy se očekávají u molekul U37 a U50, kde se alespoň částečně kvadrupolární charakter vyskytuje, čemuž odpovídaly i větší intenzity měřené fluorescence v průběhu měření.

4.2.2 Dvoufotonová absorpce DPP

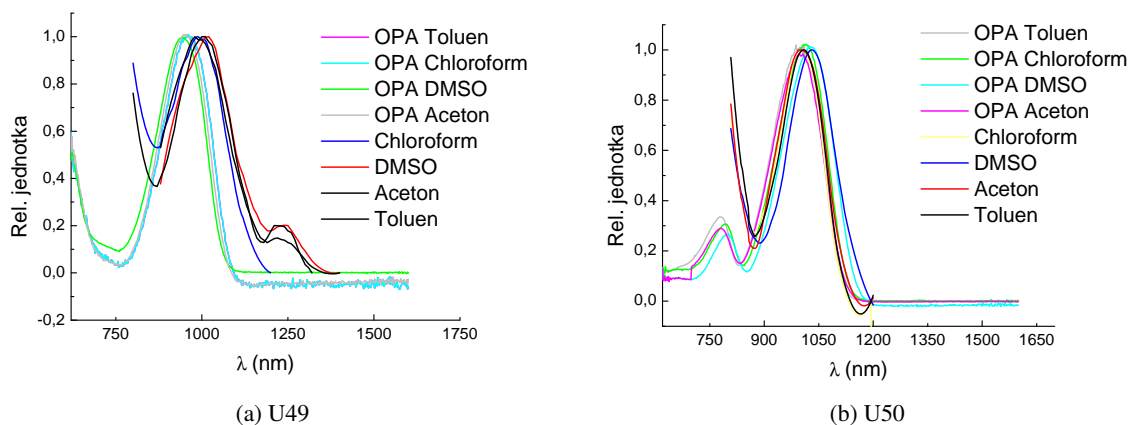
Na Obrázcích 37 a 38 jsou zobrazena srovnání jednofotonových a dvoufotonových absorpčních spekter. Při jejich vyhodnocení navážeme na práci Pawlickeho a jeho kolegů [7].



Obrázek 37: Srovnání OPA a TPA absorpčních spekter U24 a U37 ve vybraných rozpouštědlech

Pawlicki zde popisuje existenci dvou rozdílných excitačních hladin pro jednofotonovou a dvoufotonovou excitaci, pokud se jedná o centrálně symetrické kvadrupolární molekuly. Dvoufotonová excitační hladina se vyskytuje ve vyšších energiích, a proto se její absorpční pásy vyskytují v nižších vlnových délkách (jak bylo např. pozorováno u srovnání OPA a TPA spekter Rhodaminu B a Rhodaminu 6G na Obrázku 34). V případě nesymetrických dipolárních molekul existuje pouze jedna hladina pro jednofotonovou i dvoufotonovou excitaci. Absorpční spektra jednofotonové i dvoufotonové absorpce pak mají stejná maxima.

Molekuly U24 a U49, jak již bylo uvedeno, nelze považovat za kvadrupolární ani dipolární. Lze u nich však pozorovat mírný bathochromní posun. U24 vykazuje největší posun od OPA spektra v chloroformu - 122 nm. U49 vykazuje největší posun v roztoku DMSO. Rozdíl TPA U49 v DMSO a OPA spekter je 58 nm.



Obrázek 38: Srovnání OPA a TPA absorpčních spekter U49 a U50 ve vybraných rozpouštědlech

U molekul U37 a U50 převažuje dipolární charakter, díky čemuž na ně lze aplikovat uvedenou teorii [7]. Vidíme, že jsou OPA a TPA spektra téměř identická. Hladina pro jednofotonovou a dvoufotonovou excitaci je tedy stejná. Z hlediska dvoufotonové absorpce u těchto látek převažuje spíše dipolární než kvadrupolární charakter. Mírné rozdíly mohou být způsobené solvatačními ději.

5 Závěr

Cílem této práce bylo, pomocí metody měření fluorescence generované dvoufotonovou absorpcí, zjišťovat dvoufotonové absorpční vlastnosti molekul Diketopyrrolopyrrolů a hledat souvislosti mezi těmito vlastnostmi a jejich strukturou. S takovými znalostmi bude v budoucnu možné navrhnout molekuly s výhodnými dvoufotonovými (TP) vlastnostmi.

Jelikož šlo o doposud neřešenou problematiku, bylo nejdříve nutné sestavit experimentální zařízení a následně vypracovat metodiku měření. Pro její zavedení bylo potřeba nalézt vhodné podmínky měření. Experimentálně byly stanoveny základní optické vlastnosti Rhodaminu B a Rhodaminu 6G. Na těchto látkách byla také provedena první měření TPA a interpretace výsledků. Vhodná koncentrace pro měření, tedy taková, aby nedocházelo k tvorbě dimerů a agregátů a zároveň, aby byl signál měřitelný a nedocházelo k saturaci vzorku, je u Rhodaminů $c = 1 \cdot 10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$. Pro eliminování reabsorpce je vhodné používat kyvetu $l = 0,1 \text{ cm}$. Nakonec je potřeba eliminovat data, která neodpovídají teorii TPA.

Po optimalizaci podmínek a výběru dat odpovídajících TPA se pomocí uvedených výpočtů podařilo získat jejich TPA průřezy. TPA průřezy pro Rhodamin B a Rhodamin 6G vyšly $\delta_{TPE(B)} = 7 \pm 2 \text{ GM}$ a $\delta_{TPE(6G)} = 4 \pm 1 \text{ GM}$. Vypočítané hodnoty odpovídaly hodnotám nalezeným v literatuře. Následně byla úspěšně naměřena TPA spektra Rhodaminu B a Rhodaminu 6G, která tvarově odpovídala spektrům získaných z literatury. Z toho lze vyvodit, že jsou použité postupy a výpočty správné.

Dále byla porovnána OPA a TPA spektra Rhodaminu B a Rhodaminu 6G. Z tohoto srovnání lze pozorovat, že zatímco jednofotonově byl dovolen pouze nejnižší excitovaný stav, dvoufotonově byl dovolen především vyšší excitovaný stav, což se projevilo vyšší absorpcí v oblasti kratších vlnových délek než při jednofotonové absorpci.

Dále byla diskutována struktura molekul Diketopyrrolopyrrolů - U24, U37, U49 a U50 a jejich absorpční a emisní solvatochromismus - z experimentálně zjištěných jednofotonových absorpčních a emisních spekter v rozpouštědlech o různé dielektrické konstantě. Podle teorie pro kvadrupolární molekuly, by měly větší TPA průřezy vykazovat symetrické molekuly U24 a U49, u kterých se neprojevil posun spekter při změně rozpouštědla. Avšak pro jejich velmi slabý kvadrupolární charakter se to nepředpokládá. Intenzivnější TPA spektra by měly vykazovat nesymetrické molekuly U37 a U50, které vykazují silnější polární charakter.

Nakonec bylo provedeno srovnání jednofotonových (OP) a TP absorpčních spekter. U molekul U24 a U49 byl pozorován mírný bathochromní posun TPA spektra, který je důsledkem existence dvou rozdílných excitačních hladin pro OP a TP přechod. U molekul U37 a U50, nebyl, pro jejich převažující dipolární charakter, pozorován rozdíl mezi OP a TP přechody.

Výsledkem práce je vyvinutá a optimalizovaná metoda pro měření dvoufotonových charakteristik látek. Také se podařilo charakterizovat modelové materiály - Rhodamin B a Rhodamin 6G, které jsou vhodné jako standardy při studiu nových funkčních materiálů pro TPA aplikace. Nakonec byly diskutovány TP vlastnosti a očekávané velikosti TPA průřezů vybrané skupiny DPP, na jejichž výzkum lze navázat.

Reference

- [1] STREHMEL, Bernd a Veronika STREHMEL. Two-Photon Physical, Organic, and Polymer Chemistry: Theory, Techniques, Chromophore Design, and Applications. *Advances in Photochemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2006-08-18, č. 29, s. 111. DOI: 10.1002/047003758X.ch3. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/047003758X.ch3>
- [2] CRUZ, Hans, G. Applications of two-photon microscopy in the neurosciences. *Frontiers in Bioscience*. 2005, vol. 10, 1-3, s. 2263-. DOI: 10.2741/1696. Dostupné z: <http://www.bioscience.org/2005/v10/af/1696/list.htm>
- [3] LEMERCIER, Gilles, Jean-Christophe MULATIER, Cécile MARTINEAU, Rémi ANÉMIAN, Chantal ANDRAUD, Irene WANG, Olivier STÉPHAN, Nadia AMARI a Patrice BALDECK. Two-photon absorption: from optical power limiting to 3D microfabrication. *Comptes Rendus Chimie*. 2005, vol. 8, issue 8, s. 1308-1316. DOI: 10.1016/j.crci.2004.11.038. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1631074805000792>
- [4] KAROTKI, Aliaksandr, Mamta KHURANA, James R. LEPOCK a Brian C. WILSON. Simultaneous Two-photon Excitation of Photofrin in Relation to Photodynamic Therapy. *Photochemistry and Photobiology*. 2006, vol. 82, issue 2, s. 443-. DOI: 10.1562/2005-08-24-RA-657. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1562/2005-08-24-RA-657>
- [5] PARTHENOPOULOS, D. A. a P. M. RENTZEPIS. Three-Dimensional Optical Storage Memory. *Science*. 1989-08-25, vol. 245, issue 4920, s. 843-845. DOI: 10.1126/science.245.4920.843. Dostupné z: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.245.4920.843>
- [6] RUMI, Mariacristina, Stephen BARLOW, Jing WANG, Joseph W. PERRY a Seth R. MARDER. Two-Photon Absorbing Materials and Two-Photon-Induced Chemistry. *Photoresponsive Polymers I*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008, č. 213, s. 1. DOI: 10.1007/12_2008_133. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/12_2008_133
- [7] PAWLICKI, Miłosz, Hazel A. COLLINS, Robert G. DENNING a Harry L. ANDERSON. Two-Photon Absorption and the Design of Two-Photon Dyes. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009-04-20, vol. 48, issue 18, s. 3244-3266. DOI: 10.1364/AO.37.007352. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.200805257>
- [8] LINCKER, FREDERIC, PATRICK MASSON, JEAN-FRANCOIS NICOUD, PASCAL DIDIER, LUCA GUIDONI a JEAN-YVES BIGOT. SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF EFFICIENT TWO-PHOTON ABSORPTION CHROMOPHORES WITH INCREASED DIMENSIONALITY. *Journal of Nonlinear Optical Physics*. 2005, vol. 14, issue 03, s. 319-329. DOI: 10.1142/S0218863505002761. Dostupné z: <http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0218863505002761>
- [9] VALA, Martin. Dvoufotonová absorpce. *CHEMPOINT: Vědci pro průmysl a praxi* [online]. 2011 [cit. 2016-03-07]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/dvoufotonova-absorpce>

- [10] SHEIK-BAHAE, M., A.A. SAID, T.-H. WEI, D.J. HAGAN a E.W. VAN STRYLAND. Sensitive measurement of optical nonlinearities using a single beam. *IEEE Journal of Quantum Electronics*. 2002, vol. 26, issue 4, s. 760-769. DOI: 10.1109/3.53394. Dostupné z: <http://ieeexplore.ieee.org/lpdocs/epic03/wrapper.htm?arnumber=53394>
- [11] KAMADA, Kenji, Kinu MATSUNAGA, Akihiro YOSHINO a Koji OHTA. Two-photon-absorption-induced accumulated thermal effect on femtosecond Z-scan experiments studied with time-resolved thermal-lens spectrometry and its simulation. *Journal of the Optical Society of America B*. 2003, vol. 20, issue 3, s. 529-. DOI: 10.1364/JOSAB.20.000529. Dostupné z: <https://www.osapublishing.org/josab/abstract.cfm?uri=josab-20-3-529>
- [12] XU, Chris a Watt W. WEBB. Measurement of two-photon excitation cross sections of molecular fluorophores with data from 690 to 1050 nm. *Journal of the Optical Society of America B*. 1996, vol. 13, issue 3, s. 481-. DOI: 10.1364/JOSAB.13.000481. Dostupné z: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=josab-13-3-481>
- [13] DROBIZHEV, Mikhail, Yuriy STEPANENKO, Yuliya DZENIS, Aliaksandr KAROTKI, Aleksander REBANE, Peter N. TAYLOR a Harry L. ANDERSON. Extremely Strong Near-IR Two-Photon Absorption in Conjugated Porphyrin Dimers: Quantitative Description with Three-Essential-States Model. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2005, vol. 109, issue 15, s. 7223-7236. DOI: 10.1021/jp044261x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp044261x>
- [14] MAKAROV, Nikolay S., Mikhail DROBIZHEV a Aleksander REBANE. Two-photon absorption standards in the 550-1600 nm excitation wavelength range. *Optics Express*. 2008, vol. 16, issue 6, s. 4029-. DOI: 10.1364/OE.16.004029. Dostupné z: <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-16-6-4029>
- [15] RUMI, Mariacristina, Jeffrey E. EHRLICH, Ahmed A. HEIKAL, Joseph W. PERRY, Stephen BARLOW, Zhongying HU, Dianne MCCORD-MAUGHON, Timothy C. PARKER, Harald RÖCKEL, Sankaran THAYUMANAVAN, Seth R. MARDER, David BELJONNE a Jean-Luc BRÉDAS. Structure Property Relationships for Two-Photon Absorbing Chromophores: Bis-Donor Diphenylpolyene and Bis(styryl)benzene Derivatives. *Journal of the American Chemical Society*. 2000, vol. 122, issue 39, s. 9500-9510. DOI: 10.1021/ja994497s. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja994497s>
- [16] SIGNORINI, Raffaella, Camilla FERRANTE, Danilo PEDRON, Michele ZERBETTO, Elio CECCHETTO, Matteo SLAVIERO, Ilaria FORTUNATI, Elisabetta COLLINI, Renato BOZIO, Alessandro ABBOTTO, Luca BEVERINA a Giorgio A. PAGANI. Effective Two-Photon Absorption Cross Section of Heteroaromatic Quadrupolar Dyes: Dependence on Measurement Technique and Laser Pulse Characteristics. *The Journal of Physical Chemistry A*. 2008, vol. 112, issue 18, s. 4224-4234. DOI: 10.1021/jp7113779. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp7113779>

- [17] KIM, Hwan Myung a Bong Rae CHO. Small-Molecule Two-Photon Probes for Bioimaging Applications. *Chemical Reviews*. 2015-06-10, vol. 115, issue 11, s. 5014-5055. DOI: 10.1021/cr5004425. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr5004425>
- [18] HE, Guang S., Loon-Seng TAN, Qingdong ZHENG a Paras N. PRASAD. Multiphoton Absorbing Materials: Molecular Designs, Characterizations, and Applications. *Chemical Reviews*. 2008, vol. 108, issue 4, s. 1245-1330. DOI: 10.1021/cr050054x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr050054x>
- [19] MYUNG KIM, Hwan a Bong RAE CHO. Two-photon materials with large two-photon cross sections. Structure–property relationship. *Chem. Commun.* 2009, issue 2, s. 153-164. DOI: 10.1039/B813280A. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=B813280A>
- [20] LENZ, R. a O. WALLQUIST. DPP chemistry — continuous innovation. *Surface Coatings International Part B: Coatings Transactions*. 2002, vol. 85, issue 1, s. 19-26. DOI: 10.1007/BF02699738. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02699738>
- [21] CHO, Bong Rae, Kyung Hwa SON, Sang Hae LEE, Young-Suk SONG, Yun-Kyoung LEE, Seung-Joon JEON, Jun Ho CHOI, Hochan LEE a Minhaeng CHO. Two Photon Absorption Properties of 1,3,5-Tricyano-2,4,6-tris(styryl)benzene Derivatives. *Journal of the American Chemical Society*. 2001, vol. 123, issue 41, s. 10039-10045. DOI: 10.1021/ja010770q. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja010770q>
- [22] SCHMITT, Julie, Valérie HEITZ, Angélique SOUR, Frédéric BOLZE, Hussein FTOUNI, Jean-Francois NICOUD, Lucia FLAMIGNI a Barbara VENTURA. Diketopyrrolopyrrole-Porphyrin Conjugates with High Two-Photon Absorption and Singlet Oxygen Generation for Two-Photon Photodynamic Therapy. *Angewandte Chemie International Edition*. 2015-01-02, vol. 54, issue 1, s. 169-173. DOI: 10.1002/anie.201407537. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/anie.201407537>
- [23] GRZYBOWSKI, Marek a Daniel T. GRYKO. Diketopyrrolopyrroles: Synthesis, Reactivity, and Optical Properties. *Advanced Optical Materials*. 2015, vol. 3, issue 3, s. 280-320. DOI: 10.1002/adom.201400559. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adom.201400559>
- [24] GRZYBOWSKI, Marek, Eliza GLODKOWSKA-MROWKA, Tomasz STOKLOSA a Daniel T. GRYKO. Bright, Color-Tunable Fluorescent Dyes Based on -Expanded Diketopyrrolopyrroles. *Organic Letters*. 2012, vol. 14, issue 11, s. 2670-2673. DOI: 10.1021/ol300674v. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ol300674v>
- [25] GUO, Er Qian, Pei Hua REN, Yan Li ZHANG, Hai Chang ZHANG a Wen Jun YANG. Diphenylamine end-capped 1,4-diketo-3,6-diphenylpyrrolo[3,4-c]pyrrole (DPP) derivatives with large

- two-photon absorption cross-sections and strong two-photon excitation red fluorescence. *Chemical Communications*. 2009, issue 39, s. 5859-. DOI: 10.1039/b911808j. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b911808j>
- [26] FTOUNI, Hussein, Frédéric BOLZE a Jean-François NICLOUD. Water-soluble diketopyrrolopyrrole derivatives for two-photon excited fluorescence microscopy. *Dyes and Pigments*. 2013, vol. 97, issue 1, s. 77-83. DOI: 10.1016/j.dyepig.2012.11.028. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0143720812003348>
- [27] NOWAK-KRÓL, Agnieszka, Marek GRZYBOWSKI, Jerzy ROMISZEWSKI, Mikhail DROBIZHEV, Geoffrey WICKS, Maciej CHOTKOWSKI, Aleksander REBANE, Ewa GÓRECKA a Daniel T. GRYKO. Strong two-photon absorption enhancement in a unique bis-porphyrin bearing a diketopyrrolopyrrole unit. *Chemical Communications*. 2013, vol. 49, issue 75, s. 8368-. DOI: 10.1039/c3cc44728f. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c3cc44728f>
- [28] PURC, Anna, Krzysztof SOBCZYK, Yusuke SAKAGAMI, Akihiro ANDO, Kenji KAMADA a Daniel T. GRYKO. Strategy towards large two-photon absorption cross-sections for diketopyrrolopyrroles. *J. Mater. Chem. C*. 2015, vol. 3, issue 4, s. 742-749. DOI: 10.1039/C4TC02375G. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4TC02375G>
- [29] JIANG, Yihua, Yaochuan WANG, Jianli HUA, Sanyin QU, Shiqiong QIAN a He TIAN. Synthesis and two-photon absorption properties of hyperbranched diketo-pyrrolo-pyrrole polymer with triphenylamine as the core. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2009-09-01, vol. 47, issue 17, s. 4400-4408. DOI: 10.1002/pola.23493. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pola.23493>
- [30] ZHANG, Baoliang, Haichang ZHANG, Xiaojing LI, Wen LI, Pingping SUN a Wenjun YANG. Synthesis, characterization, and large two-photon absorption cross-sections of solid red-emitting 1,4-diketo-3,6-diphenylpyrrolo [3,4-c]pyrrole/3,6-carbazole/terfluorene copolymers. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2011-07-15, vol. 49, issue 14, s. 3048-3057. DOI: 10.1002/pola.24741. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/pola.24741>
- [31] BONNETT, Raymond. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. *Chemical Society Reviews*. 1995, vol. 24, issue 1, s. 19-. DOI: 10.1039/cs9952400019. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/DOI=cs9952400019>
- [32] ALBOTA, Marius A., Chris XU a Watt W. WEBB. Two-photon fluorescence excitation cross sections of biomolecular probes from 690 to 960 nm. *Applied Optics*. 1998, vol. 37, issue 31, s. 7352-. DOI: 10.1364/AO.37.007352. Dostupné z: <https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ao-37-31-7352>
- [33] CHUNG, Sung-Jae, Kyoung-Soo KIM, Tzu-Chau LIN, Guang S. HE, Jacek SWIATKIEWICZ a Paras N. PRASAD. Cooperative Enhancement of Two-Photon Absorption in Multi-branched

- Structures. *The Journal of Physical Chemistry B*. 1999, vol. 103, issue 49, s. 10741-10745. DOI: 10.1021/jp992846z. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jp992846z>
- [34] BARTHOLOMEW, Glenn P., Mariacristina RUMI, Stephanie J. K. POND, Joseph W. PERRY, Sergei TRETIAK a Guillermo C. BAZAN. Two-Photon Absorption in Three-Dimensional Chromophores Based on [2.2]-Paracyclophane. *Journal of the American Chemical Society*. 2004, vol. 126, issue 37, s. 11529-11542. DOI: 10.1021/ja038743i. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja038743i>
- [35] BHASKAR, Ajit, Ramakrishna GUDA, Michael M. HALEY a GOODSON. Building Symmetric Two-Dimensional Two-Photon Materials. *Journal of the American Chemical Society*. 2006, vol. 128, issue 43, s. 13972-13973. DOI: 10.1021/ja062709x. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja062709x>
- [36] ZEHENTBAUER, Florian M., Claudia MORETTO, Ryan STEPHEN, Thangavel THEVAR, John R. GILCHRIST, Dubravka POKRAJAC, Katherine L. RICHARD a Johannes KIEFER. Fluorescence spectroscopy of Rhodamine 6G: Concentration and solvent effects. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2014, vol. 121, s. 147-151. DOI: 10.1016/j.saa.2013.10.062. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142513012195>
- [37] GAVRILENKO, V. I. a M. A. NOGINOV. Ab initio study of optical properties of rhodamine 6G molecular dimers. *The Journal of Chemical Physics*. 2006, vol. 124, issue 4, s. 044301-. DOI: 10.1063/1.2158987. Dostupné z: <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/124/4/10.1063/1.2158987>
- [38] TEREZIANI, Francesca, Anna PAINELLI, Claudine KATAN, Marina CHARLOT a Mireille BLANCHARD-DESCE. *Charge Instability in Quadrupolar Chromophores: Symmetry Breaking and Solvatochromism*. DOI: 10.1021/ja064521j. ISBN 10.1021/ja064521j. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja064521j>

Seznam použitých zkratk

DPPs	Diketopyrrolopyrroly
ICCD	Intensified Charge-Coupled Device
IR	Infrared
OPA	One-Photon Absorption
OPG	Optický Parametrický Generátor
OPM	One-Photon Microscopy
TPA	Two-Photon Absorption
TPEF	Two-Photon Excited Fluorescence
TPM	Two-Photon Microscopy
UV	Ultraviolet