

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCA

2022

Bc. Kristína Husárová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Určenie optických konštánt ftalocyanínu a MoS_2 a ich posúdenie
pre fotodynamickú a fototermálnu terapiu

Bc. Kristína Husárová

Diplomová práca

2022

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

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Kristína Husárová**
Osobní číslo: **C20449**
Studijní program: **N0512A130006 Analýza biologických materiálů**
Téma práce: **Určení optických konstant ftalocyaninu a MoS₂ a jejich posouzení pro fotodynamickou a fototerminální terapii**
Téma práce anglicky: **Determination Of Optical Constants Of Phthalocyanine And MoS₂ And Their Assessment In Photodynamic And Photothermal Therapy**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Teoretická část: Fyzikálně-chemické vlastnosti ftalocyaninu a MoS₂, princip fotodynamické a fototerminální terapie, uvedení do spektroskopické ellipsometrie.

Experimentální část: Lisování tablet ftalocyaninu, popis přípravy tenkých vrstev MoS₂, funkce spektroskopického elipsometru, proměření spekter elipsometrických parametrů v blízké infračervené a viditelné spektrální oblasti světla pro více úhlů dopadu.

Rozsah pracovní zprávy: **35 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
dle zadání vedoucího

Vedoucí diplomové práce: **Dr. Mgr. Jan Mistrík, Ph.D.**
Ústav aplikované fyziky a matematiky

Datum zadání diplomové práce: **18. prosince 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **6. května 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

Prehlasujem:

Túto prácu som vypracovala samostatne s využitím literárnych prameňov a informácií, ktoré sú uvedené v zozname použitej literatúry. Bola som oboznámená s tým, že sa na moju prácu vzťahujú práva a povinnosti vyplývajúce zo zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, najmä zo skutočnosťou, že Univerzita Pardubice má právo na uzavretie licenčnej zmluvy o použití tejto práce ako školského diela podľa § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tým, že pokiaľ dôjde k užitiu tejto práce mnou alebo bude poskytnutá licencia o použití inému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávnená od mňa požadovať primeraný príspevok na úhradu nákladov, ktoré na vytvorenie diela vynaložila, a to podľa okolností až do ich skutočnej výšky.

Beriem na vedomie, že v súlade s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. O vysokých školách a o zmene a doplnení niektorých zákonov (zákon o vysokých školách), v znení neskorších predpisov, a smernicou Univerzity Pardubice č. 7/2019, bude práca zverejnená v Univerzitnej knižnici a prostredníctvom Digitálnej knižnice Univerzity Pardubice. Súhlasím s prezenčným sprístupnením svojej práce v Univerzitnej knižnici Univerzity Pardubice.

V Pardubiciach dňa

Bc. Kristína Husárová

Pod'akovanie

Touto cestou by som chcela pod'akovať v prvom rade môjmu vedúcemu diplomovej práce Dr. Mgr. Janu Mistríkovi Ph.D. za jeho odborný dohl'ad, drahocenný čas, ochotu a odovzdané skúsenosti. Taktiež by som chcela podakovať za poskytnutie MoS_2 tenkých vrstiev pripravených magnetronovým naprašovaním Centru materiálov a nanotechnológií (projekt LM2018103).

ANOTÁCIA

Cieľom tejto diplomovej práce je určenie optických vlastností, presnejšie optických konštánt amorfnej fázy disulfidu molybdénu, a zároveň rozšírenie a posúdenie nadobudnutých hodnôt a výsledkov optických konštánt med'natého ftalocyanínu, ktorým sme sa zaoberali v bakalárskej práci.

K určeniu optických konštánt bola využitá v oboch prípadoch metóda spektroskopickéj elipsometrie založenej na zmene polarizácie svetla po odraze na rozhraní dvoch rôznych médií.

Disulfid molybdénu vo fototermálnej terapii nesie rolu tzv. fototermálneho transdukčného činidla, čím je látka absorbujúca svetlo v určitých vlnových dĺžkach, ktoré premieňa na teplo, pomocou ktorého dochádza k ablácii nádorových buniek. Naproti tomu s ftalocyanínom sa stretávame vo fotodynamickej terapii, kde nesie úlohu fotosenzitizéra, teda látky absorbujúcej energiu svetla, ktorú prenáša okolitému kyslíku v tkanive, kde dochádza k vytvoreniu jeho reaktívnych foriem -ROS, ktoré usmrcujú nádorové bunky.

Zamerali sme sa na oblasti terapeutického (biologického) okna každej z látok, teda oblasti maximálnej penetračnej hĺbky v danom tkanive. U ftalocyanínu a využíva spektrálna oblasť UV/VIS (620-800 nm), kým u disulfidu je to NIR oblasť rôznych vlnových dĺžok.

Experimentálne určené optické konštanty boli parametrizované adekvátnou matematickou funkciou a ďalej porovnané s hodnotami prezentovanými v literatúre. Toto porovnanie dáva možnosť k vyladeniu či už teoretických (ab-initio) ale aj praktických postupov, a tým zlepšiť celkovú protinádorovú terapiu ako celok.

KLÚČOVÉ SLOVÁ

Fototermálna terapia, fotodynamická terapia, nádor, fototermálne transdukčné činidlá, depozícia magnetronového naprašovania, spektroskopická elipsometria, disulfid molybdénu, ftalocyanín, pigment, reaktívne formy kyslíka, optické konštanty, ab-initio, terapeutické okno

TITLE

Determination of optical constants of phthalocyanine and MoS_2 and their rating for photodynamic and photothermal therapy

ANNOTATION

The aim of this thesis is to determine the optical properties, more precisely the optical constants of the amorphous phase of molybdenum disulfide, and to extend and evaluate the acquired values and results of the copper phthalocyanin optical constants that we have dealt with in the baccalaureate work. In both cases, the spectroscopic ellipsometry method based on the variation of light polarisation after reflection at the interfaces of two different media was used to determine the optical constants. The disulfide of molybdenum in photothermal therapy is a so-called photothermal transducer, which is a light-absorbing substance in certain wavelengths that converts to heat to abate tumour cells. By contrast, phthalocyanine is found in photodynamic therapy, where it acts as a photosensitiser, a substance that absorbs the energy of light, which transmits it to the surrounding oxygen in the tissue, where it forms its reactive form - ROS, which kills cancer cells. We focused on the areas of the therapeutic (biological) window of each substance, the areas of maximum penetration depth in the tissue. For phthalocyanine and uses the spectral UV / VIS range (620-800 nm), while for disulfide it is an NIR range of different wavelengths. The experimentally determined optical constants were parameterized by an adequate mathematical function and further compared with the values presented in the literature. This comparison provides an opportunity to fine-tune both theoretical (ab-initio) and practical practices, thereby improving overall anticancer therapy as a whole.

KEYWORDS

Photothermal therapy, photodynamic therapy, tumor, photothermal transducing agents, magnetron sputtering deposition, spectroscopic ellipsometry, molybdenum disulfide, phthalocyanine, pigment, reactive oxygen species, optical constants, ab-initio, therapeutic window

OBSAH

| | |
|--|-----------|
| Zoznam Obrázkov | 10 |
| Zoznam tabuliek | 13 |
| Zoznam skratiek | 14 |
| 1 Úvod | 15 |
| 2 Teoretická časť | 17 |
| 2.1 Terapeutické okno | 17 |
| 2.2 Fototermálna terapia a fototermálne transdukčné čidlá | 18 |
| 2.3 Fotodynamická terapia a fotosenzitizéry | 20 |
| 2.4 Fototermálna terapia v kombinácii s fotodynamickou terapiou a chemoterapiou | 22 |
| 2.5 Štruktúra a optické vlastnosti disulfidu molybdénu a ftalocyanínu | 23 |
| 2.5.1 Metódy určenia optických konštánt- elipsometria | 24 |
| 2.5.2 Ftalocyanín v úlohe fotosenzitizéra | 27 |
| 2.5.3 Disulfid molybdénu v úlohe fototermálneho transdukčného čidla . . . | 29 |
| 3 Cieľ | 33 |
| 4 Experiment | 34 |
| 4.1 Príprava vzoriek pre meranie | 34 |
| 4.1.1 Lisovanie práškoveho ftalocyanínu pomocou hydraulického lisu | 34 |
| 4.1.2 Depozícia tenkých vrstiev disulfidu molybdénu pomocou magnetronového naprašovania | 34 |
| 4.2 Spektroskopický elipsometer | 36 |
| 5 Výsledky a diskusia | 37 |
| 5.1 Určenie optických konštánt med'natého ftalocyanínu | 37 |
| 5.1.1 Experimentálne elipsometrické dáta | 37 |
| 5.1.2 Modelovanie experimentálnych dát a určenie optických konštánt | 38 |
| 5.1.3 Interpretácia optických konštánt | 41 |
| 5.1.4 Zrovnanie s ab - initio výpočtami | 44 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 5.1.5 | Význam určených optických konštánt vzhľadom ku fotodynamickej terapii | 45 |
| 5.2 | Určenie optických konštánt disulfidu molybdénu | 48 |
| 5.2.1 | Experimentálne elipsometrické data | 48 |
| 5.2.2 | Modelovanie experimentálnych dát a určenie optických konštánt | 50 |
| 5.2.3 | Optické konštanty a ich význam vzhľadom k fototermálnej terapii . . . | 52 |
| 6 | Záver | 55 |
| | Použitá literatúra | 57 |
| | Zoznam príloh | 63 |
| A | Program v Scilabe | 64 |

ZOZNAM OBRÁZKOV

| | | |
|------|--|----|
| 1.1 | A) Mechanizmus fotodynamickej a fototermálnej liečby za pomoci fotosenzibilizátora (PS)/ fototransdukčného činidla (PTA) B) Jablonského diagram znázorňujúci proces fluorescenčného zobrazovania, ako aj fototermálnej terapie a fotodynamickej terapie, keď je fotosenzibilizátor (PS) ožiarený svetlom. Prevzaté a upravené z (Dash Banendu Sunder, 2021) a (Wei et al., 2020) | 15 |
| 2.1 | a) Absorpčné spektrum ľudskej kože vykazujúce prvé (NIR-I), druhé (NIR-II) a tretie (NIR-III) biologické (terapeutické) okno. b) Priblíženie dvoch prvých optických okien v biologických tkanivách a krvi. Prevzaté a upravené z (Eva Hemmer, 2016) | 17 |
| 2.2 | Hĺbka prieniku svetla do tkaniva s rôznymi vlnovými dĺžkami. Prevzaté a upravené z (He Shuqing, 2018) | 18 |
| 2.3 | (Jablonského diagram znázorňujúci prenos energie medzi energetickými hladinami molekuly všeobecne. Prevzaté z (KADER, 2014) | 20 |
| 2.4 | Schéma princípu PDT. Interakcia troch komponent - O_2 (kyslík), PS (fotosenzitizér) a svetlo, následné uvedenie PS do excitovaného stavu PS^* , tvorba ROS a zánik bunky (hore). Aplikácia PS do tela pacienta a následná interakcia so svetlom za účelom deštrukcie nádoru (dole) (prevzaté z (Husárová, 2020)) | 21 |
| 2.5 | Protinádorové terapie | 22 |
| 2.6 | Zápis parametrov v prípade a) jednoduchého rozharnia a b) jednoduchej vrstvy na polonekonečnom médiu | 26 |
| 2.7 | Molekula med'natého ftalocyanínu. Prevzaté z (Wang et al., 2014) | 28 |
| 2.8 | Absorpčné spektrum med'natého ftalocyanínu (CuPc). Prevzaté a upravené z (DJU-RIŠIĆ A.B., 2002) | 28 |
| 2.9 | Typické štruktúry disulfidu molybdénu 1T, 2H a 3R. Prevzaté a upravené z (Meng Chao, 2020) | 30 |
| 2.10 | Bakteriálne kolónie <i>S. Aureus</i> . Prevzaté a upravené z (Chen Huizhi, 2022) | 31 |
| 2.11 | UV-vis-NIR spektrá nanobodiek 1T- MoS_2 a 2H- MoS_2 pri rovnakej koncentrácii. Prevzaté z (ZHOU Zhan, 2020) | 32 |
| 4.1 | Práškový med'natý ftalocyanín (vľavo) a tableta z neho vylisovaná (vpravo). Prevzaté z (Husárová, 2020) | 34 |

| | | |
|------|---|----|
| 4.2 | Schéma znázorňujúca depozíciu amorfných tenkých vrstiev MoS_2 pomocou magnetronového naprašovania. Prevzaté a upravené z (Krbal Milos, 2021) | 35 |
| 4.3 | Foto vzorky depozičnej vrstvy MoS_2 na kremíkovom substráte | 35 |
| 4.4 | Schéma (zľava) a foto (zprava) elipsometra VASE (Woollam ltd.). 1 - monochromátor, 2 - optické vlákno, 3 - kompenzátor, 4 - štvor-zónový detektor, 5 - držiak vzoriek, 6 - goniometer, 7 - detektor, 8 - riadiaca jednotka. | 36 |
| 5.1 | Experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ | 38 |
| 5.2 | Reálna (hore) a imaginárna (dole) časť relatívnej permitivity ϵ , odpovedajúce experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ | 39 |
| 5.3 | Index lomu (hore) a extinkčný koeficient (dole), odpovedajúce experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ | 40 |
| 5.4 | Optické konštanty odpovedajúce experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ , pre uhol dopadu 70° , porovnanými s literatúrou (DJURIŠIĆ A.B., 2002) | 41 |
| 5.5 | Dekonvolúcia imaginarej časti elektrickej permitivity a zviditeľnenie dielčích príspevkov (Gaussových oscilátorov) v študovanom spektrálnom obore | 42 |
| 5.6 | Prepojenie absorpčného spektra s Jablonského schémou, predstavujúcou typické fotofyzikálne procesy v molekulách všeobecne. Prevzaté z (KADER, 2014) | 43 |
| 5.7 | Teoreticky vypočítané spektrá imaginárnej časti elektrickej permitivity ϵ_{xx} , ϵ_{yy} , ϵ_{zz} (BIRNBAUM Tobias, 2014) a im odpovedajúca nami experimentálne určená závislosť (fialová) | 45 |
| 5.8 | Absorpčný koeficient med'natého ftalocyanínu s priradenými spektrálnymi oblasťami terapeutického okna | 46 |
| 5.9 | Profil zmeny teploty buniek HepG2 inkubovaných s ftalocyanínom medi a vystavený laserovému žiareniu (730 nm). Ako kontrola- neošetrené bunky vystavené laseru. Prevzaté a upravené z (Li Xingshu, 2018) | 47 |
| 5.10 | Tvorba ROS rôznych druhov ftalocyanínu. Prevzaté a upravené z (Staicu Angela, 2013) | 48 |
| 5.11 | Experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ pre fázu amorfnú | 49 |
| 5.12 | Experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ pre fázu kryštalickú-2H | 50 |
| 5.13 | Náhl'ad modelovej štruktúry zvolenej pre danú vzorku MoS_2 | 50 |

| | | |
|------|--|----|
| 5.14 | Fitované experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ (software WVA-SE) pre kryštalickú 2H- MoS_2 fázu | 51 |
| 5.15 | Extinkčný koeficient amorfnej (červená) a zakryštalizovanej (zelená) vzorky odpovedajúci experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ s priradenou oblasťou NIR- terapeutického okna | 53 |
| 5.16 | Prevzaté a upravené z (Jie Wang, 2020) | 54 |
| A.1 | Spektrá optických konštánt ftalocyanínu spočítaných pomocou programového prostredia Scilab. Použité elipsometrické parametre- uhol dopadu 70° | 64 |

ZOZNAM TABULIEK

| | | |
|-----|--|----|
| 2.1 | Experimentálne hodnoty elektrónových prechodov ftalocyanínu (DJURIŠIČ A.B., 2002) | 29 |
| 5.1 | Experimentálne a teoretické hodnoty elektrónových prechodov ftalocyanínu porovnané s literatúrou (DJURIŠIČ A.B., 2002) | 43 |

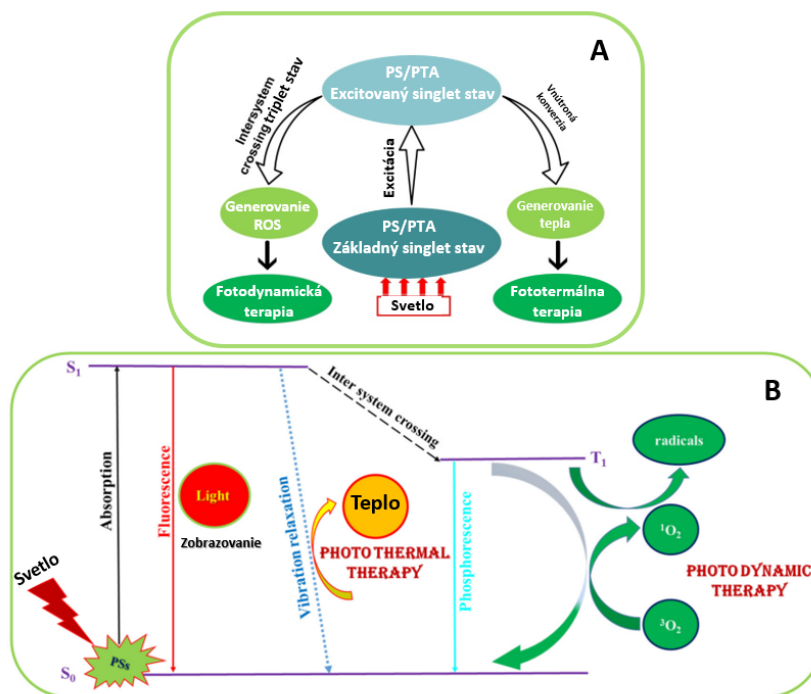
ZOZNAM SKRATIEK

| | |
|------|---|
| AuNR | Zlaté nanorudy |
| CuPc | Meďnatý ftalocyanín (<i>Copper phthalocyanine</i>) |
| DOX | Doxorubicín |
| FA | Kyselina listová (<i>Folic Acid</i>) |
| GSH | Glutatión (γ -glutamylcysteinylglycin) |
| MKT | Nanoterapeutiká |
| MPc | Ftalocyanín obsahujúci vo svojom centre určitý kov (Me, M) |
| NF | nano-vložky (<i>Nanoflakes</i>) |
| NIR | Blízka infračervená oblasť elektromagnetického spektra (<i>Near infrared</i>) |
| NS | nano-vrstva (<i>Nanosubstrate</i>) |
| OH | Hydroxylová skupina |
| PDT | Fotodynamická terapia (<i>Photodynamic Therapy</i>) |
| PEG | Polyetylénglykol |
| PLD | Pulzná laserová depozícia tenkých vrstiev (<i>Pulsed Laser Deposition</i>) |
| PTA | Fototermálne transdukčné činidlá (<i>Photothermal Transducing Agents</i>) |
| PTT | Fototermálna terapia (<i>Photothermal Therapy</i>) |
| PS | Fotosenzitizér (<i>Photosensitizer</i>) |
| ROS | Reaktívne formy kyslíka (<i>Reactive oxygen species</i>) |
| TMDC | Dichalkogenidové monovrstvy prechodných kovov (<i>Transition metal dichalcogenide monolayers</i>) |
| UV | Ultrafialová oblasť elektromagnetického spektra (<i>Ultraviolet spectrum</i>) |
| VIS | Viditeľná oblasť elektromagnetického spektra (<i>Visible spectrum</i>) |
| ZnPc | Zinočnatý ftalocyanín (<i>Zinc phthalocyanine</i>) |

1 ÚVOD

Fototerapia ako celok, je definovaná ako zoskupenie terapii využívajúcich fotorezponzívnych (nano)materiálov na generovanie tepla alebo škodlivých zložiek na ničenie mikroorganizmov alebo nádorových buniek. Pre fototerapiu existujú dva hlavné prístupy, a to fototermálna terapia (PTT) a fotodynamická terapia (PDT) (Youghbaré, 2021).

Fototermálna terapia (PTT) je jedným z typov liečby rakoviny či bakteriálnych infekcií kože, pri ktorej je využívané elektromagnetické žiarenie, najčastejšie v blízkej infračervenej oblasti (NIR). PTT využíva tzv. fototermálne transdukčné činidlá (PTA), ktoré premieňajú svetelnú energiu na teplo prostredníctvom fototermálneho efektu (vid' obr. 1.1B), čím sa zvýšil teplota v oblasti nádoru a dochádza tým k ablácii nádorových buniek. Jedným významným fototermálnym činidlom je disulfid molybdénu MoS_2 . Jedná sa o kovový dichalkogenid, ktorý vykazuje vysokú absorbanciu v oblasti blízkeho infračerveného žiarenia (NIR)(SHI Jinping, 2020). Práve týmto dichalkogenidom a jeho prínosom pre PTT sa budeme zaoberať v tejto diplomovej práci.



Obrázok 1.1: A) Mechanizmus fotodynamickej a fototermálnej liečby za pomoci fotosenzibilizátora (PS)/ fototransdukčného činidla (PTA) B) Jablonského diagram znázorňujúci proces fluorescenčného zobrazovania, ako aj fototermálnej terapie a fotodynamickej terapie, keď je fotosenzibilizátor (PS) ožiarený svetlom. Prevzaté a upravené z (Dash Banendu Sunder, 2021) a (Wei et al., 2020)

Fotodynamickou terapiou sa budeme taktiež zaoberať, keďže spolu úzko súvisia. Jej históriou a detailnejším princípom sme sa zaoberali už v bakalárskej práci (Husárová, 2020). Jedná sa o druh fototerapie založenej na princípe reakcie troch hlavných komponentov; fotosenzitizér (PS), kyslík a zdroj svetla vhodnej vlnovej dĺžky, ktoré pri spoločnom pôsobení vytvárajú fotochemickú reakciu (viď obr. 1.1). Ožiarením svetla na cieľovú oblasť excitovaný PS emituje energiu vo forme tepla a vykazuje medzi-systémové kríženie (ISC), čo vedie k tvorbe reaktívnych foriem kyslíka (ROS) v tripletovom stave. Práve tieto ROS pôsobia na nádorové bunky a cielene spôsobujú ich zánik (Dash Banendu Sunder, 2021).

Veľmi významnými PS sa stali rôzne organické pigmenty a farbivá, ako napríklad nami skúmaný mednatý ftalocyanín (CuPc), ktorým sme sa zaoberali v bakalárskej práci a budeme sa zaoberať aj v tejto diplomovej práci kde naše poznatky a dáta rozšírime.

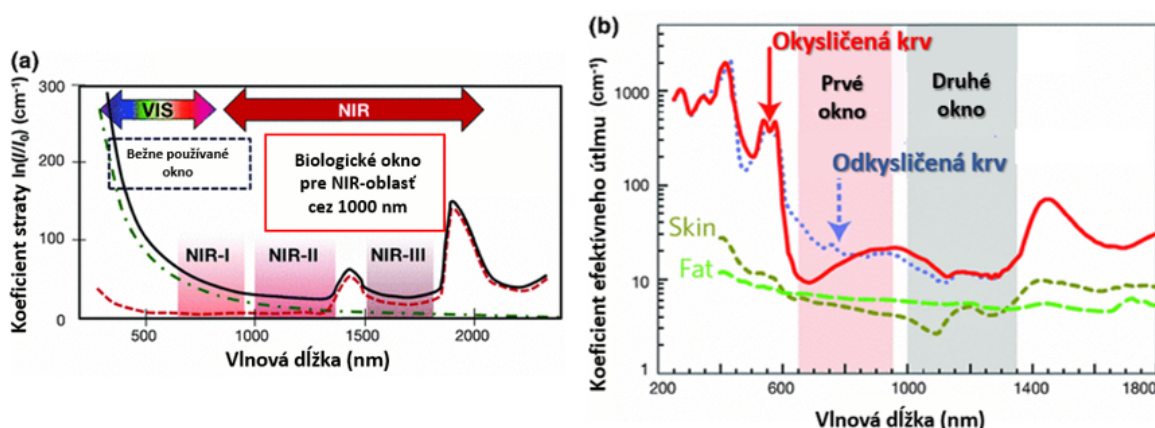
2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Terapeutické okno

Pojem terapeutické okno ma viacero významov. V toxikológii či farmakológii ho možno definovať ako rozsah koncentrácií liečiva, ktoré poskytujú terapeutickú odpoveď bez významných nepriaznivých účinkov (Mohammad Kowser Miah, 2019).

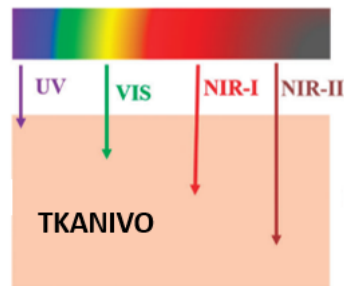
V našom prípade ide o oblasť určitých vlnových dĺžok, kde svetlo dosahuje najväčšiu penetráciu v biologickom tkanive. Práve obmedzená hĺbka prieniku svetla je jedným s problémom fototermálnej a fotodynamickej terapie, čo vedie k neúplnej deštrukcii nádora mimo dosah žiarenia.

Použitie blízkeho infračerveného žiarenia (NIR) namiesto VIS alebo UV je prvoradé pri riešení posledného dopytu po zobrazovaní hlbokých tkanív, konkrétne keď vlnové dĺžky spadajú do často uvádzaných biologických okien. V rámci týchto okien boli identifikované tri rozdielne oblasti vlnových dĺžok: prvé biologické okno pokrýva rozsah vlnových dĺžok od 700 nm do 950 nm (NIR-I), druhé biologické okno pokrýva oblasť od 1000 do 1350 (NIR-II) a tretie biologické okno sa nachádza v oblasti 1550 až 1870 (NIR-III). Každé okno poskytuje zvýšenú transparentnosť voči biologickej hmote. Obrázok 2.1 poukazuje na tieto oblasti.



Obrázok 2.1: a) Absorpčné spektrum ľudskej kože vykazujúce prvé (NIR-I), druhé (NIR-II) a tretie (NIR-III) biologické (terapeutické) okno. b) Priblíženie dvoch prvých optických okien v biologických tkanivách a krvi. Prevzaté a upravené z (Eva Hemmer, 2016)

Stratum corneum (vrchná vrstva pokožky) a *epidermis* (pokožka) ľudskej kože poskytujú optickú bariéru, kde je väčšina dopadajúceho svetla blokována absorpciou a tiež ovplyvnená optickým rozptylom. Pigment melanín bol identifikovaný ako hlavný absorbent žiarenia umiestnený na koži v oblasti vlnových dĺžok 350 až 1200 nm, najmä pri kratších vlnových dĺžkach (svetlo pri 808nm ma cca hĺbku prieniku len 1-2mm).



Obrázok 2.2: Hĺbka prieniku svetla do tkaniva s rôznymi vlnovými dĺžkami. Prevzaté a upravené z (He Shuqing, 2018)

Pri zameraní sa na hĺbku penetrácie je však potrebný starostlivý pohľad aj na iné biologické tkanivá ako na kožu (Eva Hemmer, 2016).

2.2 Fototermálna terapia a fototermálne transdukčné činidlá

Jedná sa o tzv. hypertermickú terapiu v klinických podmienkach. Pomocou fototermálneho transdukčného činidla (PTA) a laserového ožarovania (NIR oblasť) špecifického miesta dochádza k vyvolaniu lokálnej hypertermie, ktorá spôsobí zánik nádorovej bunky. Taktiež sa široko používa na liečbu infekčných chorôb vyvolaných baktériami s minimálnymi vedľajšími účinkami. PTA je zachytený baktériami a dochádza k uvoľňovaniu OH prostredníctvom katalýzy peroxidu vodíka, čím sa vytvára tzv. membránový stres a dochádza k poškodeniu bunkovej steny, integrity membrány a nasleduje usmrtenie baktérii zrýchlenou oxidáciou glutathionu (GSH) pri 808nm ožarovaní laserom. Kombinácia PTT a antibakteriálnej funkcie by mohla byť novou stratégiou na usmrcovanie baktérii s antimikrobiálnou rezistenciou – ako napríklad tvorba endospor *B. subtilis* či ampicilín rezistentná *E. coli* a mnoho ďalších.

PTT je považovaná za oveľa selektívnejšiu a účinnejšiu stratégiu terapie ochorenia s minimálnymi vedľajšími účinkami, invazívnosťou a vysokou terapeutickou účinnosťou (SHI Jinping, 2020).

Kritickým bodom pre vývoj účinnej stratégie PTT je samotná príprava fototermálneho činidla. Vyžaduje sa dobrá biokompatibilita a nízka cytotoxicita. Ideálne PTA by navyše mali mať vysokú účinnosť fototermálnej konverzie v terapeutickom okne NIR (700-1100nm), a tak účinne prenikať do biologických tkanív s čo najväčšou hĺbkou prieniku.

V posledných niekoľkých desaťročiach sa ako PTA využívali prírodné chromofory alebo molekuly rôznych farbív. Tieto látky však čelia mnohým prekážkam v podobe nižšej absorpčnej účinnosti či fotobielenia pri laserovom ožarovaní, čo vedie k nízkej terapeutickú účinnosti v klinických podmienkach. Je veľmi dôležité vyvinúť PTA, ktoré majú práve silnú absorpciu v blízkej infračervenej oblasti (NIR) a vysokú účinnosť fototermálnej konverzie, teda premeny energie na teplo, aby sa tým zlepšila účinnosť samotnej terapie.

Systém fototermálnych materiálov prešiel približne štyrmi generáciami. Prvou generáciou sú nanočastice drahých kovov ako Au, Ag či Pt, ktoré majú vysokú účinnosť fototermálnej konverzie a zobrazovania, ale sú obmedzené dostupnosťou a hlavne cenovo nevýhodné. Zlaté nanorudy (AuNR) sa vyznačujú ich dvoma jedinečnými absorpčnými pásmi, ktoré sú priečne a pozdĺžne, vďaka čomu majú jedinečné optické vlastnosti. A však kvôli ich veľkému povrchu, nestabilnému okolitému prostrediu a ľahkej oxidácii po dlhodobom pôsobení vzduchu je ich aplikácia obmedzená. Na zlepšenie odolnosti kovových nanočastíc voči kyslíku bolo vyvinutých mnoho techník ako napríklad plazmové striekanie, fosfátovanie či nanášanie elektrolytov, čím sa zvýšila aj účinnosť fototermálnej konverzie a synchronne PTT a PDT.

Druhou generáciou sú uhlíkové materiály, napríklad grafén a uhlíkové nanorudy, ktoré majú veľkú kapacitu fototermálnej konverzie. Ich nevýhodou je nízka absorpčná kapacita v rámci NIR oblasti.

Tretou generáciou sú kovové a nekovové zlúčeniny ako CuS a ZnS. Vyznačujú sa vysokou fototermickou energiou, nízkymi nákladmi a ľahkou prípravou, a však zvyčajne sú nefluorescenčné a chýba im schopnosť ablácie zameranej na nádor, čo napríklad obmedzuje fluorescenčné zobrazovanie v reálnom čase.

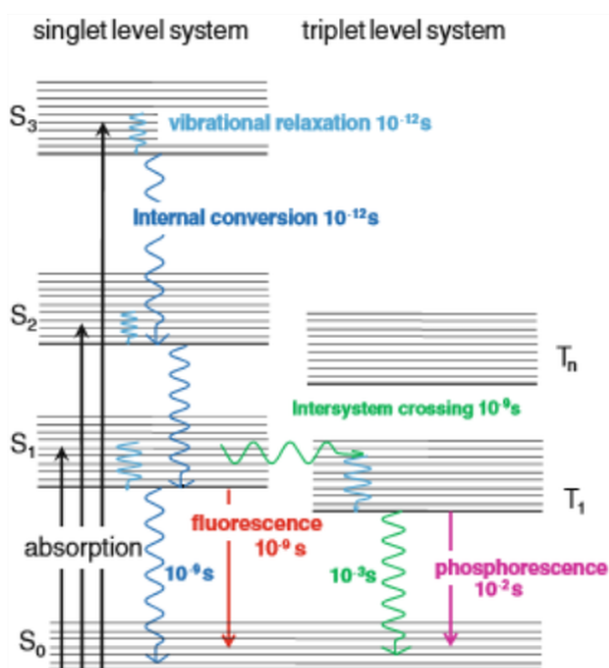
Nakoniec sa stretávame so štvrtou generáciou, do ktorej patria organické a anorganické nanomateriály, ako napríklad nami skúmaný MoS_2 , ktorého vlastnosti a štruktúra sú bližšie vysvetlené v podkapitole 2.5.3 Rôzne vedecké experimenty potvrdili, že organické nanomateriály

majú dobrú biokompatibilitu, nízku toxicitu a optickú stabilitu, čo ma veľký význam v dosiahnutí správnej a účinnej terapie (Hou Y, 2020).

2.3 Fotodynamická terapia a fotosenzitizéry

S fotodynamickou terapiou (PDT) sme sa zaoberali v bakalárskej práci:

"Základom fotodynamickéj terapie je fotochemická reakcia podporovaná fotosenzitizéromi (PS) pri ožarovaní svetlom pri špecifických vlnových dĺžkach. Táto fotoaktivácia v prítomnosti kyslíka vyvoláva produkciu radu reaktívnych foriem kyslíka (ROS), ktoré sú cytotoxickými látkami podieľajúcimi sa na eliminácii rakovinových buniek" (Husárová, 2020).

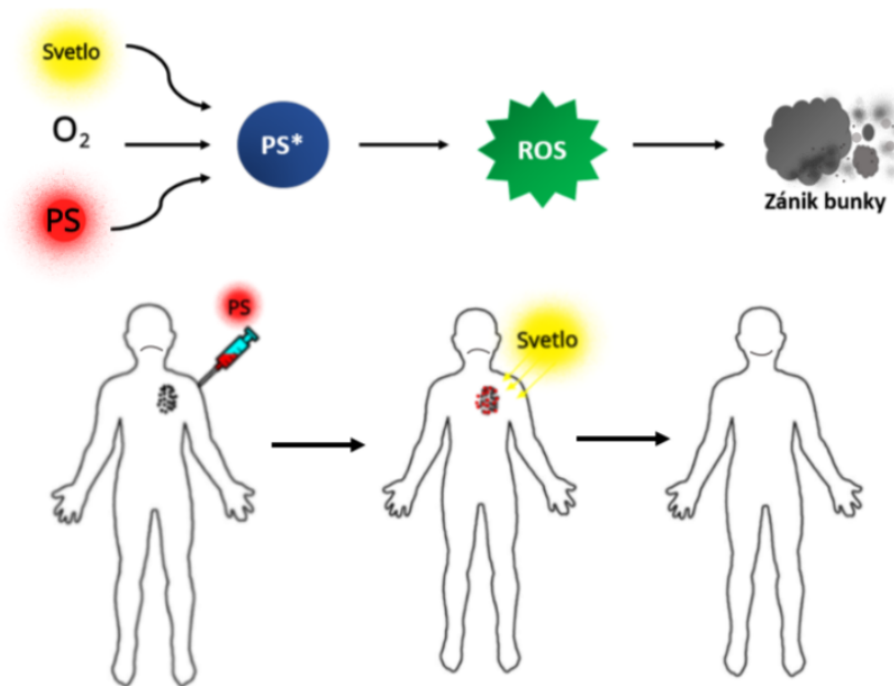


Obrázok 2.3: (Jablonského diagram znázorňujúci prenos energie medzi energetickými hladinami molekuly všeobecne. Prevzaté z (KADER, 2014)

Jablonského diagram predstavuje energetický diagram sprevádzaný elektrónovými stavmi molekuly a prechodmi medzi nimi (Obr. 2.3). Disipácia ¹ energie zahŕňa pohyb elektrónov pri excitácii zo základného singlet stavu S₀ do stavu s vyššou energiou S₁, keď dôjde k absorpcii UV-Vis alebo NIR svetla. Z tohto stavu S₁ môže dôjsť k prechodu elektrónov fotosenzitizéra do tripletového stavu T₁ pomocou tzv. medzi-systémového kríženia (Inter-crossing) (Dash

¹ Rozptýlenie, strata časti energie nezvratnou premenou, napríklad na teplo

Banendu Sunder, 2021). Tu sa elektron stretáva s okolitým kyslíkom, ktorému predáva energiu vedúcej ku vzniku jeho reaktívnych foriem (ROS), čo vedie k fotodynamickým efektom terapie. Ak by energia nebola kyslíku predaná, elektron by zaujal základný S_0 stav doprevádzaním emitácie fosforescencie (Lau, 2013, KADER, 2014).



Obrázok 2.4: Schéma princípu PDT. Interakcia troch komponent - O_2 (kyslík), PS (fotosenzitizér) a svetlo, následné uvedenie PS do excitovaného stavu PS^* , tvorba ROS a zánik bunky (hore). Aplikácia PS do tela pacienta a následná interakcia so svetlom za účelom deštrukcie nádoru (dole) (prevzaté z (Husárová, 2020))

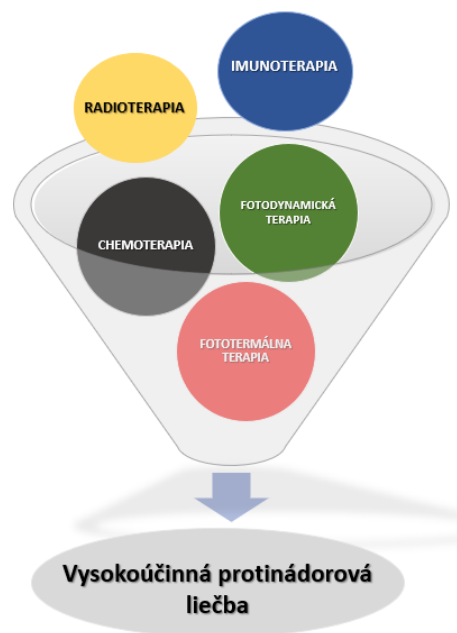
Bunková smrť môže nastať prostredníctvom apoptózy a nekrózy. Apoptotická dráha sa označuje ako programovaná bunková smrť a vyžaduje energiu v závislosti na ATP, zatiaľ čo nekrotická dráha sa označuje ako neprogramovaná bunková smrť a je podporovaná pri nízkej hladine bunkovej energie. V porovnaní s tradičnými liečebnými metódami má PDT výhodu presného vykonávania účinnej liečby s minimálnymi vedľajšími účinkami. Ešte dôležitejšie je, že mnohé štúdie ukázali, že PDT môže vyvolať smrť imunitných buniek v nádorových bunkách, a tým predísť k vytvoreniu rezistencie organizmu voči protinádorovým liečbam (DENG, 2021).

Účinnosť tejto terapie však závisí od mnoho faktorov ako napríklad od typu fotosenzibilizátora (PS). PS boli kategorizované podľa priamej chemickej štruktúry do troch širokých rodín:

porfyríny, chlóry a farbivá. Prvú rodinu tvoria hematoporfiríny a jeho deriváty, napr. Photofrin, Photosan a Photocan. Do druhej rodiny spadajú degradačné produkty chlorofylu, puríny a látky podobné chlorofylu, bakteriochloríny (KADER, 2014). A nakoniec tretia rodina -organické farbivá ako napr. ftalocyanín, ktorým sa budeme zaoberať v tejto práci.

2.4 Fototermálna terapia v kombinácii s fotodynamickou terapiou a chemoterapiou

Monoterapia zvyčajne nestačí na úplné vyliečenie ochorenia a PTT či PDT nie sú výnimkami. Klinicky sa PDT využíva hlavne na liečbu povrchových ochorení, ako je rakovina kože. V prípade hĺbkových nádorov sa využívajú rôzne postupy ako napríklad sonodynamická terapia ako alternatívny prístup, samo-aktivovaná PDT či PDT za pomoci röntgenovým žiarením. Aj pri vysokom terapeutickom účinku danej terapie môžu jej vlastné obmedzenia viesť k neúplnej eliminácii rakovinových buniek, čo následne vedie k recidivite nádoru a metastázam. Kombinácia PTT s inými terapeutickými prístupmi (vid' obr.2.5) by zlepšila celkovú účinnosť liečby. V mnohých prípadoch kombinácia rôznych terapeutických prístupov poskytuje doplňujúci sa synergický liečebný efekt (SHI Jinping, 2020).



Obrázok 2.5: Protinádorové terapie

Kombinácia fototermálnej a fotodynamickej terapie je dôležitou stratégiou, pretože mnohé fotosenzibilizačné materiály majú schopnosť fototermálnej konverzie a aj kapacitu tvorby singletového kyslíka. Produkcia ROS je však obmedzená nízkymi hladinami kyslíka v nádoroch. V dôsledku toho je sľubné kombinovať práve tieto dve terapie na zlepšenie liečby ochorenia. PTT môže podporiť koncentráciu kyslíka v nádore zlepšením prietoku krvi a zrýchlením účinnosti bunkovej absorpcie fotosenzibilizátorov, čím sa dosiahne účinnejšia terapia.

V tomto prípade pracujeme s tzv. nanoterapeutikami (MKT) , teda spojenie PTA- MoS_2 a PS-rôzne farbiva ako napríklad toluidinová modrá či ftalocyanín, ohľadom ktorého sme sa zaoberali v bakalárskej práci (Husárová, 2020).

Veľkým mínusom klasických terapií ako je chemoterapia, rádioterapia či molekulárne cieleňá terapia je príliš veľá systémových vedľajších účinkov. Jedná sa hlavne o vážne poškodenie imunitného systému a dlhodobú deštrukciu funkcií orgánov, čo môže viesť k samotnému zlyhaniu orgánov. PTT sa široko používa na prekonanie prekážok, ktoré so sebou prináša chemoterapia ako je nízka akumulácia liečiv v mieste nádoru či závažné vedľajšie účinky, čím sa zvýši protinádorová účinnosť terapie. Poväčšine sa jedná o cieleňé podávanie liekov založených na modifikácii MoS_2 s polyethylenglykolom (PEG) a kyselinou listovou (FA), ktorá býva naplnená doxorubicínom (DOX). Taktiež sa používa modifikovaný MoS_2 ako nosič na dodávanie liečiva a využíva sa NIR laser na riadené uvoľňovanie liečiva (DOX) „na požiadanie“ pre zvýšenie terapeutickkej účinnosti. Takto modifikované liečivá vykazujú silnejšiu fluorescenciu a cieleňejší účinok, čím sa môže prekonať mnohopočetná lieková rezistencia nádorov (SHI Jinping, 2020).

2.5 Štruktúra a optické vlastnosti disulfidu molybdénu a ftalocyanínu

Svetlo prechádzajúce zakaleným prostredím možno opísať pomocou trajektórií fotónov. S pribúdajúcimi vzdialenosťami šírenia, tieto fotóny budú zoslabené účinkom rozptylu a absorpcie, čo vedie k zníženiu účinnosti PDT či PTT (Laura A. Sordillo, 2014). Považujeme teda za dôležité zaoberať sa práve optickými vlastnosťami liečiv používaných v daných terapiách, ich modifikáciami, a tým predísť k zníženiu účinnosti celkovej terapie nádorového ochorenia. Existuje mnoho optických metód zaoberajúcimi sa vlastnosťami študovaných látok či už v diagnostike alebo v iných odvetviach. V tejto práci sme si zvolili metódu spektroskopickkej elipsometrie, ktorej podstatu a princíp zhrnieme v nasledujúcej podkapitole.

2.5.1 Metódy určenia optických konštánt- elipsometria

Znalosť optických konštánt organických pigmentov je dôležitá z mnoho hľadísk, a to nielen pre túto študovanú aplikáciu v oblasti fotodynamickej terapie. Zmienime napríklad dynamický rozptyl svetla, pomocou ktorého sa určuje distribúcia veľkosti pigmentových častíc v pripravenej suspenzii, a kde je index lomu týchto častíc jedným z nepostrádateľných parametrov. Navyše spektrálna závislosť komplexného indexu lomu $n-ik$, kde n je index lomu a k extinkčný koeficient, pigmentových častíc spolu s ich veľkosťou určujú výslednú farbu pigmentov, čo je podstatné pre mnohé z aplikácií pigmentových náterov. V tejto kapitole stručne vysvetlíme základné myšlienky spektroskopickéj elipsometrie, ako metódy, ktorá bola v našom prípade použitá pre určenie optických konštánt, nielen organických pigmentu zlisovaných do bulkových tabliet, ale taktiež tenkých vrstiev disulfádu molybdéna.

Elipsometrické parametre

Pri optickej elipsometrii v odrazenom svetle sa prednostne používajú experimentálne konfigurácie s uhlami dopadu blízkymi Brewsterovemu uhlu θ_B . Brewsterov uhol je definovaný pomocou indexu lomu n vzťahom (Azzam et al., 1997):

$$\theta_B = \arctan(n) \quad (1)$$

Na opis zmeny stavu polarizácie svetla pri šikmom dopade je vhodné zvoliť bázu rovinných vln typu s a p, lineárne polarizované vlny s elektrickou intenzitou kmitajúce buď kolmo, alebo paralelne s rovinou dopadu. Odrazená vlna je vo všeobecnosti elipticky polarizovaná a odrazu svetla od študovaného vzorku je opísaný maticou odrazu, ktorá sa v báze s- a p- polarizovaných vln zapisuje vzťahom:

$$\mathbf{R}_{sp} = \begin{bmatrix} r_{ss} & 0 \\ 0 & r_{pp} \end{bmatrix}. \quad (2)$$

Diagonálny tvar matice odrazu \mathbf{R}_{sp} odráža tu skutočnosť, že vlny typu s a p sa vzájomne pri odraze neovplyvňujú. Inými slovami, študovaná vzorka je v tomto prípade opticky izotropná. Kompletne informácie o zmene stavu polarizácie medzi dopadajúcou a odrazenou vlnou mož-

no opísať aj pomocou elipsometrických parametrov ψ a Δ . Tie sú definované nasledujúcimi vzťahmi:

$$\tan \psi \equiv \frac{|r_{pp}|}{|r_{ss}|} \quad (3)$$

$$\Delta \equiv \delta_{r_{pp}} - \delta_{r_{ss}}. \quad (4)$$

V definíciách (3) a (4) hodnoty $|r_{pp}|$ a $\delta_{r_{pp}}$ označujú absolútnu hodnotu a fázu komplexného koeficientu odrazu r_{pp} . Podobný zápis sa používa pre koeficient r_{ss} .

Jednoduché rozhranie

Teraz predpokladajme jednoduché rozhranie dvoch prostredí vzduchu a absorbujúceho média, ktorého index lomu a extinkčný koeficient sú n a k . Pri zohľadnení Fresnelových vzorcov pre jednoduché rozhranie, je možné odvodiť relatívne jednoduchý analytický vzťah medzi elipsometrickými parametrami ψ a Δ a optických konštánt absorbujúceho prostredia. V prípade, keď zvolíme pre popis optických vlastností elektrickú permitivitu prostredia ε , kde ε'_1 je jej reálna časť a ε''_1 imaginára časť, dostaneme nasledujúcu reláciu (Azzam et al., 1997):

$$\varepsilon'_1 = \sin^2 \varphi \left[1 + \tan^2 \varphi \frac{\cos^2 2\psi - \sin^2 2\psi \sin^2 \Delta}{(1 - \sin 2\psi \cos \Delta)^2} \right], \quad (5)$$

$$\varepsilon''_1 = -\frac{\sin^2 \varphi \tan^2 \varphi \sin 4\psi \sin \Delta}{(1 - \sin 2\psi \cos \Delta)^2}. \quad (6)$$

V skutočnosti tieto vzorce umožňujú priamo určiť optické konštanty média z elipsometrických meraní. v prípade, že chceme vyjadriť optické vlastnosti študovaného prostredia, skôr prostredníctvom indexu lomu a extinkčného koeficientu, potom môžeme použiť nasledujúce vzťahy:

$$\varepsilon'_1 = n^2 - k^2, \quad (7) \quad n = \sqrt{\frac{\varepsilon'_1 + \sqrt{\varepsilon_1'^2 + \varepsilon_1''^2}}{2}}, \quad (8)$$

$$\varepsilon''_1 = 2nk, \quad (9) \quad k = \sqrt{\frac{-\varepsilon'_1 + \sqrt{\varepsilon_1'^2 + \varepsilon_1''^2}}{2}}. \quad (10)$$

Jednoduchá vrstva

Predpokladajme teraz systém tvorený tenkou vrstvou hrúbky t_1 s indexom lomu N_1 nanosený na čiastočne odrážajúci povrch polonekonečného média indexu N . Index lomu prostredia, z ktorého na vrstvu dopadá a do ktorého sa svetlo späťne odrazí, označíme N_0 (porovnaj obr.2.6).

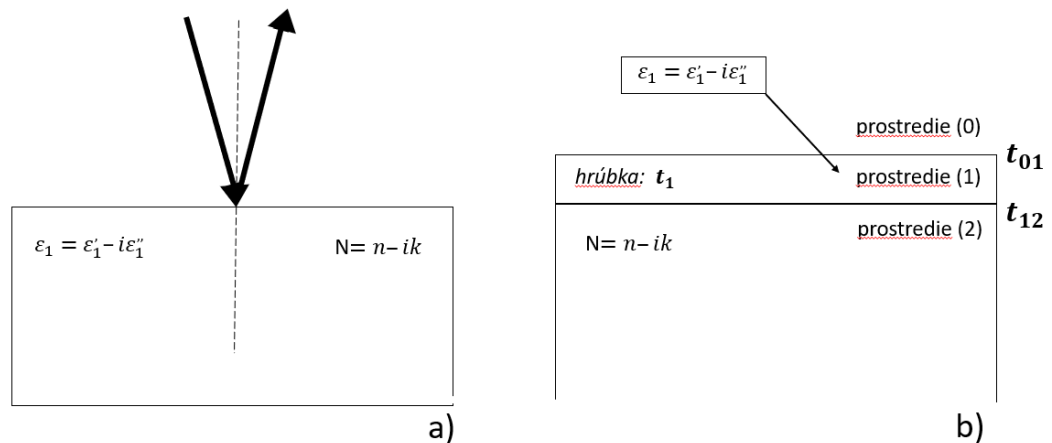
V tomto prípade môžeme elipsometrické parametre ψ a Δ tohto systému vyjadriť následovne (Drude, 1889):

$$\tan \psi e^{i\Delta} \equiv \frac{r_{pp}}{r_{ss}} = \frac{r_{01}^p + r_{12}^p e^{-2i\beta_1}}{1 + r_{01}^p r_{12}^p e^{-2i\beta_1}} \left(\frac{r_{01}^s + r_{12}^s e^{-2i\beta_1}}{1 + r_{01}^s r_{12}^s e^{-2i\beta_1}} \right)^{-1}, \quad (11)$$

kde

$$\beta_1 = N_1 \frac{\omega}{c} t_1. \quad (12)$$

Fresnelove koeficienty r_{ij}^p a r_{ij}^s predstavujú koeficienty odrazu vln typu s a p pre rôzne ij rozhrania. Vo všeobecnosti určujeme parametre vrstvy (komplexný index lomu N_1 a hrúbku t_1)



Obrázok 2.6: Zápis parametrov v prípade a) jednoduchého rozhrania a b) jednoduchej vrstvy na polonekonečnom médiu

z experimentálnych parametrov ψ a Δ . Pozrime sa na tento problém podrobne. Pre študovanú sústavu môžeme symbolicky zapísať závislosť ψ a Δ vo forme obecných funkčných závislostí:

$$\psi = f(N, N_0, N_1, t_1, \varphi, \lambda), \quad (13)$$

$$\Delta = g(N, N_0, N_1, t_1, \varphi, \lambda). \quad (14)$$

Za predpokladu, že okolitým médiom je vzduch (index lomu $N_0 = 1$), a že indexy lomu substrátu a vrstvy N a N_1 sú komplexne ($N = n - ik$ a $N_1 = n_1 - ik_1$), v rovniciach (13) a (14) je potrebné určiť päť neznámych².

$$\psi = f(n, k, n_1, k_1, t_1), \quad (15)$$

$$\Delta = g(n, k, n_1, k_1, t_1). \quad (16)$$

Všeobecnejšie povedané, počet rovníc rastie s počtom meraní, pretože indexy N a N_1 závisia od vlnovej dĺžky. Pre m meraní ψ a Δ na m rôzne vlnové dĺžky, máme $2m$ rovnice a $(4m + 1)$ premenné, keďže hrúbka je spoločná pre všetky vlnové dĺžky³. Rovnice (15) a (16) nemôžu byť analyticky prevrátené, takže nie je možné získať analytický výraz jedného z parametrov v závislosti od ostatných. Na vyriešenie tohto problému je potrebné vytvoriť matematický model jednoduchej vrstvy na substráte, čo nám umožňuje vypočítať spektrá elipsometrických parametrov ψ_{cal} a Δ_{cal} . Vypočítané hodnoty sa potom porovnávajú s experimentálnymi výsledkami ψ_{exp} a Δ_{exp} pomoci chybovej funkcie označovanej ako „MSE (Mean Square Error)“. Ta je určená súčtom druhej mocniny rozdielu medzi nameranými a vypočítanými parametrami pre všetky vlnové dĺžky:

$$MSE = \frac{1}{m} \sqrt{\sum_{\lambda_{min}}^{\lambda_{max}} [(\psi_{cal} - \psi_{exp})^2 + (\Delta_{cal} - \Delta_{exp})^2]} \quad (17)$$

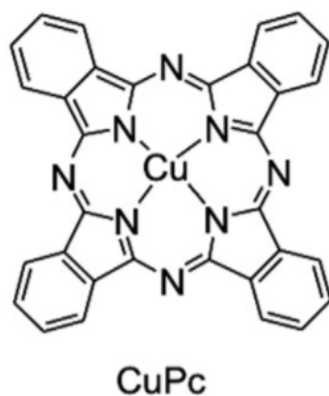
V prípade, že optické indexy substrátu sú dobre známe a za podmienky, že drsnosť je na rozhraniach 01 a 12 zanedbateľná, minimalizácia tejto funkcie úpravou parametrov vrstvy, umožňuje vrátiť sa späť k fyzickým parametrom druhej vrstvy. Avšak keď jedno alebo obe rozhrania vykazujú nezanedbateľnú drsnosť, potom je to potrebné zohľadniť v teoretickom modeli. Tento problém je spracovaný napríklad v Berthier, 1993.

2.5.2 Ftalocyanín v úlohe fotosenzitizéra

Ftalocyaníny sú porfyrínové deriváty, vyznačujúce sa vysokou symetriou, planaritou a elektrónovou delokalizáciou (DJURIŠIĆ A.B., 2002). Jedná sa o sľubné fotosenzibilizátory pre aplikácie PDT.

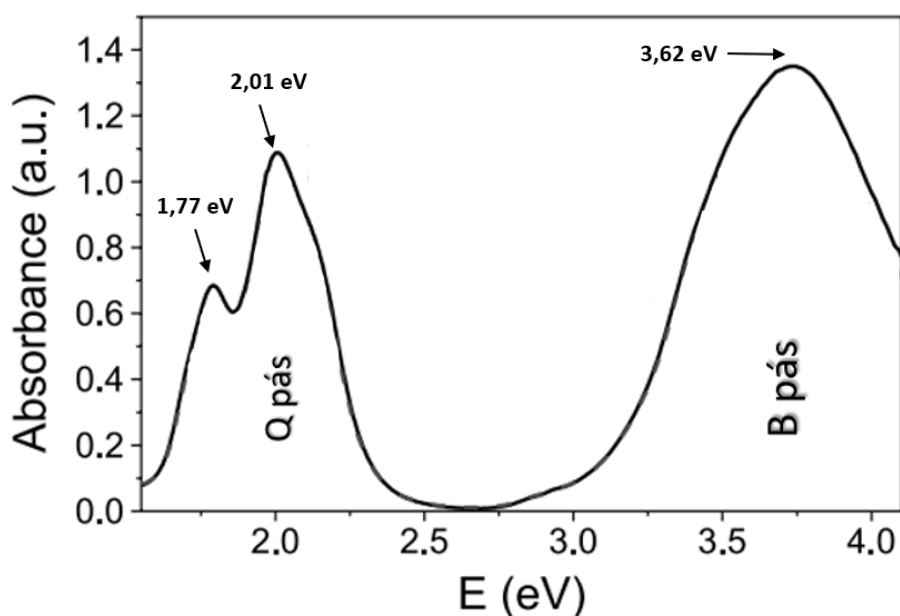
² Známy uhol dopadu a vlnová dĺžka

³ V zásade je možné zvýšiť počet meraní pri zachovaní konštantného počtu premenných, ak sa vykonávajú merania ψ a Δ pre niekoľko uhlov dopadu



Obrázok 2.7: Molekula meďnatého ftalocyanínu. Prevzaté z (Wang et al., 2014)

Vzhľadom na najdlhšiu vlnovú dĺžku absorpcie hematoporfyrínu (okolo 630 nm) je absorpcia ftalocyanínu v NIR (670–780 nm) takmer o dva rády silnejšia. S vhodným centrálnym atómom, ako je meď, zinok, hliník alebo kremík, ftalocyanín vykazuje mnoho ďalších optimálnych vlastností, ktoré spĺňajú požiadavky ideálneho fotosenzibilizátora, ako je vysoká účinnosť generovania ROS pri ožiarení, vysoká stabilita, fluorescencia, nízka vnútorná toxicita, vysoká flexibilita pri modifikácii štruktúry a jednoduchá syntéza (Jiang Z, 2014).



Obrázok 2.8: Absorpčné spektrum meďnatého ftalocyanínu (CuPc). Prevzaté a upravené z (DJURI-ŠIĆ A.B., 2002)

| | Q pás | | B pás |
|------------------------|----------|----------|----------|
| $\lambda_{literatura}$ | 703,0 nm | 613,5 nm | 342,0 nm |
| $\lambda_{literatura}$ | 1,77 eV | 2,01 eV | 3,62 eV |

Tabulka 2.1: Experimentálne hodnoty elektrónových prechodov ftalocyanínu (DJURIŠIĆ A.B., 2002)

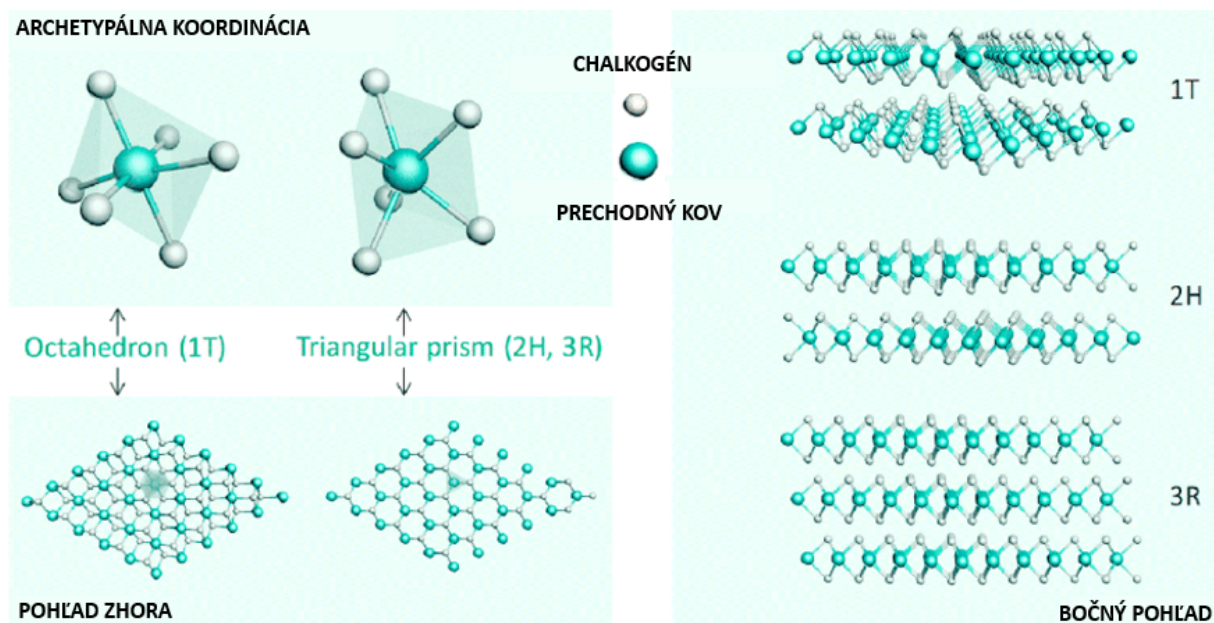
Ako je vidieť na obrázku 2.2, monoméne ftalocyaníny majú charakteristické absorpčné spektrum so silným absorpčným vrcholom Soret pri približne 350 nm, slabým maximom okolo 600 nm a úzkym, veľmi silným absorpčným vrcholom vo vzdialenej IR oblasti viditeľného spektra, kde je oveľa lepšia penetrácia viditeľného svetla do tkaniva. Okrem červeného posunu maxima jeho Q pásu (viď 2.1) sa zlepšila aj kapacita absorbovať svetlo o dva rády v porovnaní s najvyššou absorpciou Q pásma hematoporfyrínu. Tieto vlastnosti preto vedú k zlepšeniu foto-fyzikálnych a foto-chemických vlastnostiach (Allen, 2001).

Údaje o optických funkciách boli určené preložením z bodu do bodu a použitím konvenčného a modifikovaného modelu oscilátora. Publikované v literatúre (DJURIŠIĆ A.B., 2002).

Určeným optických konštánt CuPc sme sa zaoberali v bakalárskej práci (Husárová, 2020), ktorého výsledky a dáta v tejto diplomovej práci rozširujeme a zahrnieme v kapitole 5 spolu s nameranými hodnotami optických konštánt disulfidu molybdénu.

2.5.3 Disulfid molybdénu v úlohe fotothermalného transdukčného činidla

Jedná sa o dichalkogenid prechodného kovu (TMDC). Bol dôkladne preskúmaný a vo veľkej miere využívaný pri diagnostike a liečbe rôznych chorôb vďaka svojim výborným fyzikálno-chemickým vlastnostiam v biomedicínskych aplikáciach.

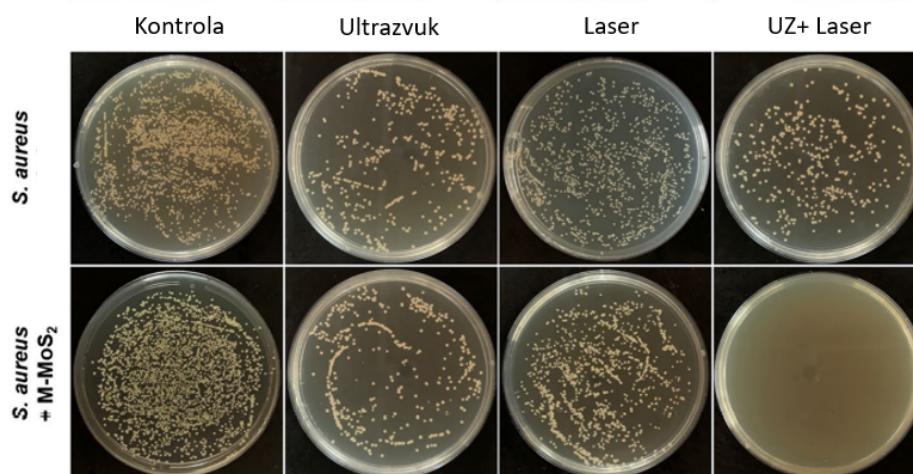


Obrázok 2.9: Typické štruktúry disulfidu molybdénu 1T, 2H a 3R. Prevzaté a upravené z (Meng Chao, 2020)

Dichalkogenidy prechodných kovov (TMDC) môžu kryštalizovať do rôznych kryštálových fáz, vrátane 2H, 1T, 1T', a 3R fázy (vid' obr.2.9). Dôležité je to, že TMDC s rôznymi fázami by mohli vykazovať výrazne odlišné vlastnosti. Napríklad 2H- MoS_2 je polovodičový s relatívne veľkým odstupom pásma (napr. 1,83 eV pre monovrstvu), zatiaľ čo 1T/1T'- MoS_2 sú kovové alebo polokovové. Vďaka svojim odlišným elektronickým štruktúram kovové 1T- a 1T'- MoS_2 nanoštruktúry preukázali vynikajúce výkony pri elektrochemickej výrobe vodíka či ako superkondenzátory v porovnaní s polovodičovými 2H (ZHOU Zhan, 2020).

Ako typický 2D TMDC, MoS_2 má nanoštruktúry po vrstvách, kde sa môžu vytvoriť silné kovalentné väzby Mo-S. Tento systém MoS_2 vykazuje vysokú stabilitu v porovnaní s inými 2D TMDC. Slabé van der Waalsove interakcie medzi vrstvami môžu pomôcť vytvoriť flexibilný systém použiteľný pre ďalšie modifikácie, zavádzanie liečiva a jeho riadené uvoľňovanie. Nano-systém MoS_2 vykazuje vysokú biologickú odbúrateľnosť, veľkú plochu povrchu, jednoduchú modifikáciu a silnú absorpciu v NIR oblasti, čo naznačuje veľký potenciál pre aplikácie v PTT. Vlastnosť veľkej plochy povrchu je využívaná vo funkcii nosiča liekov v organizme pri terapii, ako napríklad spojenie PTT a chemoterapie, kde MoS_2 má modifikovaný povrch a transportuje doxorubicín (DOX) k miestu nádoru (SHI Jinping, 2020).

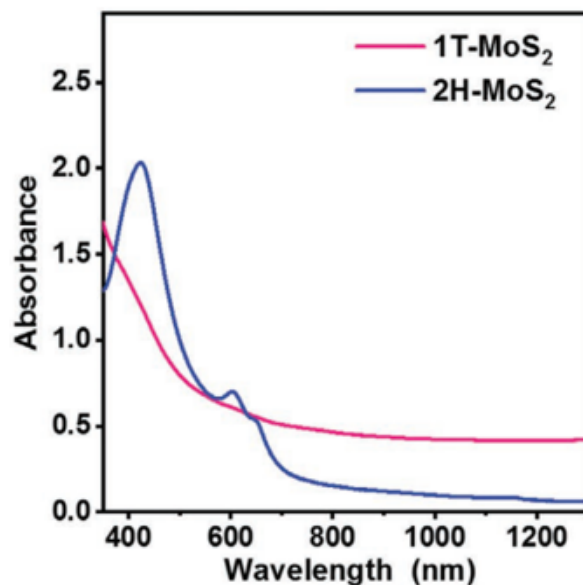
Huizhi Chen a spol sa zaoberali jeho antimikrobiálnou liečbou (Chen Huizhi, 2022) . Využívali kombináciu 1T/1T'-fázy označovanej ako M-MoS₂ a kombinácie laseru a ultrazvuku. V tomto prípade ultrazvuk bol využitý na vyvolanie reaktívnych foriem kyslíka (ROS).



Obrázok 2.10: Bakteriálne kolónie *S. Aureus*. Prevzaté a upravené z (Chen Huizhi, 2022)

Ako vidíme na obrázku 2.10, vrchný riadok predstavuje čistú kolóniu *S. Aureus* a spodný riadok je kolónia *S. Aureus* s M-MoS₂. Použitím ultrazvuku,lasera či ich kombinácii to u samotného kmeňa nemalo nejak významný posun. Naproti tomu kmeň v kombinácii s MoS₂ vykazoval viditeľné výsledky. Zaujímavejšie je, že skupina M-MoS₂, ultrazvuk a laser vykazovala mimoriadne účinný sterilizačný výkon a to takmer 100%. Jeho úlohu PTA v terapii to len potvrdilo.

Veľký pokrok sa dosiahol v spektrálnej oblasti NIR-I (750–1000 nm), ale účinnosť fotoindukovanej nádorovej terapie v tomto okne je obmedzená relatívne krátkou hĺbkou prieniku. Zistilo sa, že svetlo v okne NIR-II (1000–1350 nm) má väčšiu hĺbkou prieniku a väčšiu maximálnu prípustnú expozíciu v porovnaní so svetlom v okne NIR-I, čo z nich robí sľubné svetelné zdroje pre PTT ablácie rakoviny. Anorganické nanomateriály s absorpciou v okne NIR-II, ako napr TiO₂, Pt, SiO_x a iné, boli vyvinuté ako fototermálne činidlá pre PTT v posledných rokoch. Avšak tieto uvádzané anorganické fototermálne činidlá buď trpia nízkou absorpciou NIR-II alebo komplikovanými prípravnými postupmi. Preto je stále dosť náročné na vývoj vysoko účinných fototermálnych činidiel pre PTT v okne NIR-II (ZHOU Zhan, 2020).



Obrázok 2.11: UV-vis-NIR spektrá nanobodiiek 1T- MoS_2 a 2H- MoS_2 pri rovnakej koncentrácii.

Prevzaté z (ZHOU Zhan, 2020)

Ako je vidieť na obrázku 2.11, 1T- MoS_2 ma vyššiu abosrbanciu práve v NIR I. a II. okne (750-1350 nm) ako 2H- MoS_2 , čo z 1T robí sľubnú fázu MoS_2 pre aplikácie vo fototermálnej terapii. Veľkou nevýhodou je samotná stabilita 1T- MoS_2 , ktorá je naproti 2H veľmi nízka. V tejto práci sa však budeme zaoberať amorfnou vzorkou MoS_2 s náhodným usporiadaným atómov a vlastnosťami podobnými 1T fázy, čím poukážeme na rôzne výhody tejto vzorky oproti vzorke v 1T fáze MoS_2 .

3 CIEĽ

Cieľom tejto diplomovej práce je experimentálne určenie optických konštánt amorfnej vzorky disulfidu molybdénu (MoS_2), ktorý slúži ako fototransdukčné činidlo v PTT, pomocou spektroskopickkej elipsometrie a následne porovnanie optických vlastností tejto vzorky so vzorkou 1T- MoS_2 fázy v literatúre. Ako veľmi sľubná sa ukazuje práve 1T fáza, a však kvôli jej nestabilite je často problematická pre zavedenie do praxi. K vyriešeniu problému so stabilitou by mohol dopomôcť práve kandidát 1T - amorfná vzorka MoS_2 s lokálnym usporiadaním atómov.

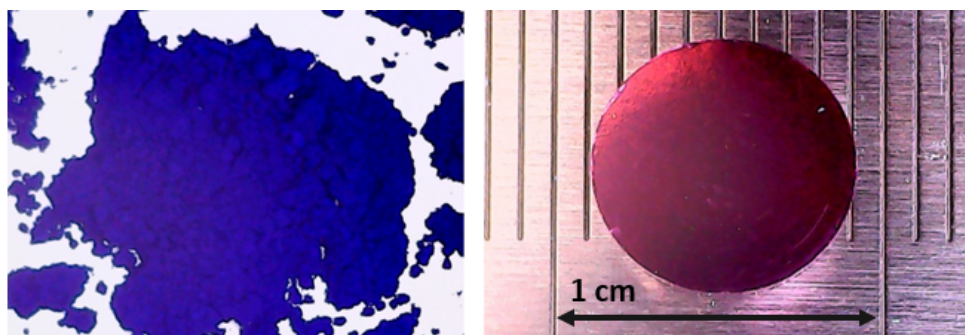
V tejto práci taktiež poukážeme a rozšírime nadobudnuté výsledky a dáta ftalocyanínu, ktorým sme sa zaoberali v predchádzajúcej bakalárskej práci (Husárová, 2020), ktorý ma veľký súvis s nami rozoberanou fototermálnou terapiou. Taktiež naďalej platí dôležitosť ab-initio teoretických metód, kde ku ich správnosti prispejeme porovnaním indexu lomu a extinkčného koeficientu, získaných teoreticky, s našimi experimentálnymi hodnotami.

4 EXPERIMENT

4.1 Príprava vzoriek pre meranie

4.1.1 Lisovanie práškoveho ftalocyanínu pomocou hydraulického lisu

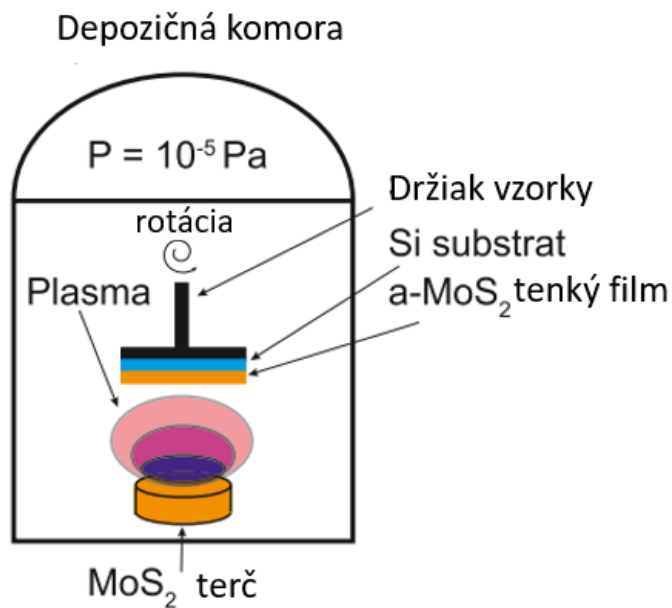
Vzorka práškoveho organického pigmentu- med'natého ftalocyanínu, ktorého molekulu sme ukázali v podkapitole 2.5.2 (vid' Obr. 2.7), bola pomocou ručného hydraulického lisu zlisovaná do tablety s priemerom cca 8 mm a hrúbkou 4 mm (vid' Obr. 4.1 (vpravo)). Lisovanie bolo uskutočnené pomocou oceľových matríc a raznice, ktorej lisovacia plocha musela byť čo najhladšia, kvôli tomu, aby povrch tablety vykazoval kvalitu blízku kvalite optickej. Inými slovami, aby odraz svetla nebol difúzny, ale spekulárny, čo má svoj význam pre vyhodnocovanie elipsomterických spektier. Proces lisovania prebehol postupne s maximálnym tlakom 6 MPa.



Obrázok 4.1: Práškový med'natý ftalocyanín (vľavo) a tableta z neho vyľisovaná (vpravo). Prevzaté z (Husárová, 2020)

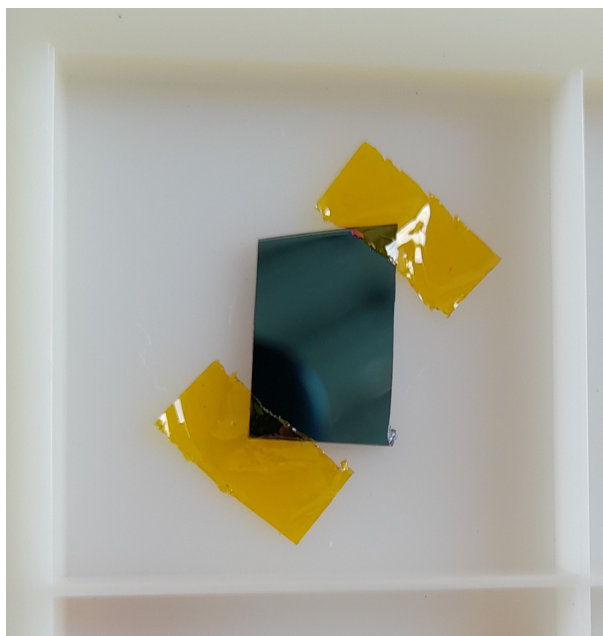
4.1.2 Depozícia tenkých vrstiev disulfidu molybdénu pomocou magnetronového naprašovania

Amorfne filmy MoS_2 boli nanosené ,pri laboratórnej teplote, pomocou rádio-frekvenčného magnetronového naprašovania na oxid kremičitý a kremíkové substráty (vid' obr. 4.2). Hrúbka nanosených filmov bola približne 50 nm. Aby sa zabránilo oxidácii vzorky počas kryštalizácie, časť vzorky bola umiestnená do čistej kremennej ampulky a utesnená (tlak 10^{-3} Pa).



Obrázok 4.2: Schéma znázorňujúca depozíciu amorfných tenkých vrstiev MoS_2 pomocou magnetróno-
vého naprašovania. Prevzaté a upravené z (Krbal Milos, 2021)

Proces kryštalizácie sa následne uskutočnil v peci s rýchlosťou zahrievania $2\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$. Vzorka sa zahrievala na $800\text{ }^\circ\text{C}$ počas 1 hodiny a potom prirodzene vychladla na laboratórnu teplotu.

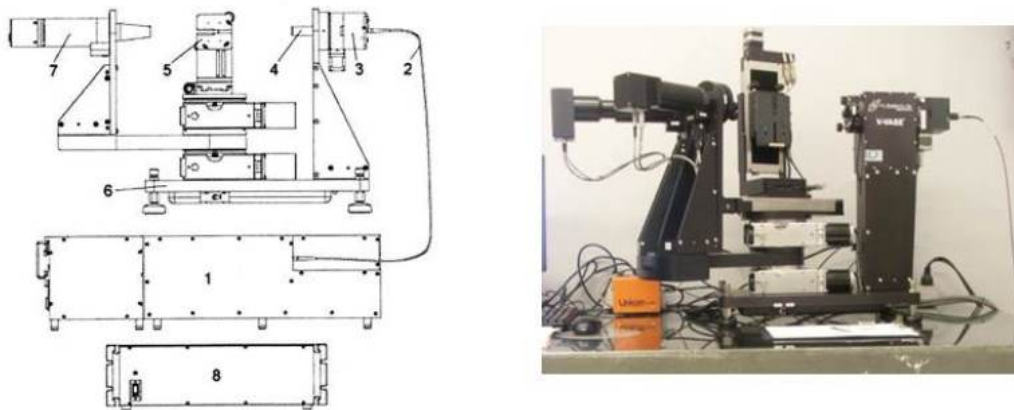


Obrázok 4.3: Foto vzorky depozičnej vrstvy MoS_2 na kremíkovom substráte

4.2 Spektroskopický elipsometer

Schémou „súčasťami prístroja a jednoduchým princípom elipsometra sme rozoberali už v bakalárskej práci. V tejto diplomovej práci ho znova využívame, a tak túto kapitolu uvádzame na pripomenutie informácii.

Spektroskopický elipsometer je určený na meranie zmeny polarizačného stavu svetla, ktorá nastáva pri jeho interakcii so vzorkou a následné určenie jeho optických vlastností.



Obrázok 4.4: Schéma (zľava) a foto (zprava) elipsometra VASE (Woollam ltd.). 1 - monochromátor, 2 - optické vlákno, 3 - kompenzátor, 4 - štvor-zónový detektor, 5 - držiak vzoriek, 6 - goniometer, 7 - detektor, 8 - riadiaca jednotka.

V našom prípade sme pracovali s elipsometrom VASE (Woollam ltd.) zobrazeného na Obr. 4.4. Zdrojom svetla je Xenónová výbojka, z ktorej vychádza polychromatické svetlo sústredené na vstupnú štrbinu monochromátora. Spektrálne rozložený zväzok je naviazaný do optického vlákna a následne navedený do vstupnej jednotky, ktorá obsahuje kompenzátor a polarizátor. Práve pomocou týchto elipsometrických komponent môžeme nastaviť požadovaný polarizačný stav svetla zaostrého na skúmanú vzorku. Do detekčnej jednotky, ktorá zahŕňa rotujúci polarizátor a detektor, vstupuje odrazený zväzok. Aby elipsometer vyhovel širokému spektrálnemu oboru, je vybavený troma detektormi, a to fotonásobičom (pre UV oblasť), Si-diódou (pre VIS oblasť) a InGaAs detektorom (pre NIR oblasť). Na uchytenie vzorky slúži vertikálny stolček, ktorý je umiestnený na priamo motorizovanom goniometre. Ovládanie elipsometra so zhromažďovaním dát je plnoautomatizované. Pre vyhodnotenie nameraných závislostí je k dispozícii komerčný software WVASE32 (Husárová, 2020).

5 VÝSLEDKY A DISKUSIA

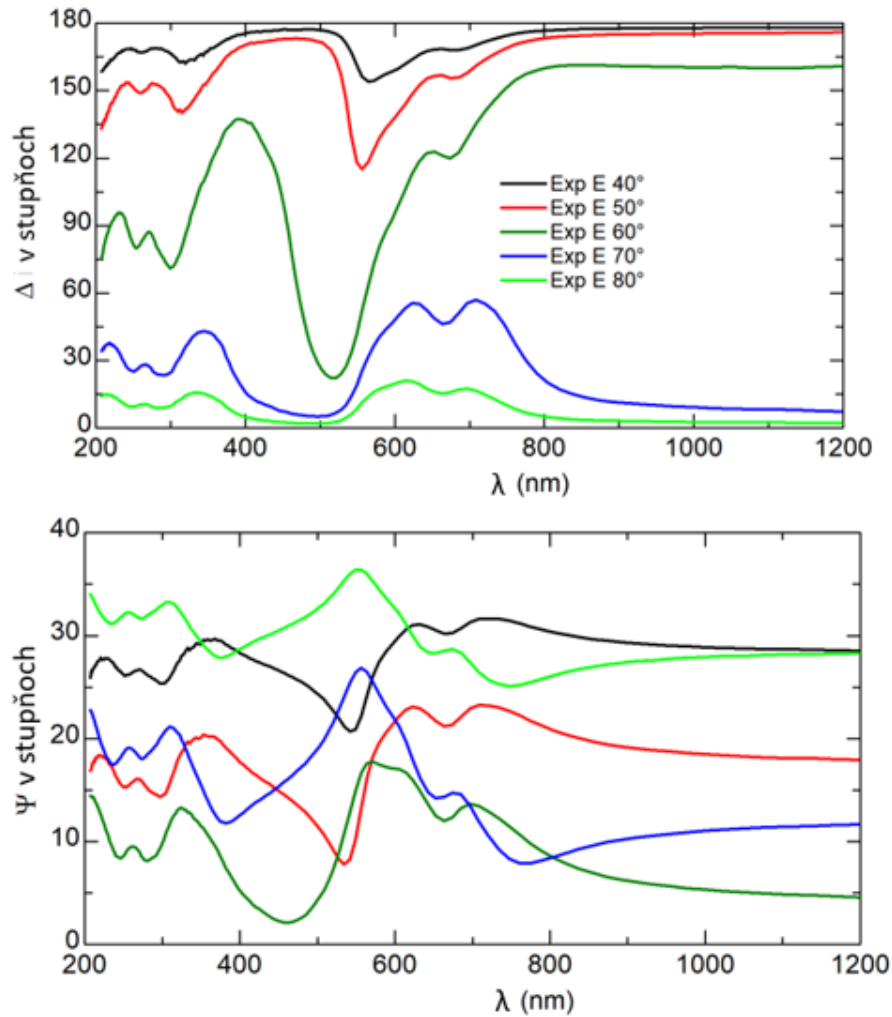
5.1 Určenie optických konštant med'natého ftalocyanínu

5.1.1 Experimentálne elipsometrické dáta

Ako bolo spomínané vyššie, ftalocyanínom sme sa zaoberali v bakalárskej práci. Jedná sa o významný fotosenzitizér v PDT, čím úzko súvisí práve s nami študovaným fototermálnym činidlom MoS_2 pre PTT, keďže sú často tieto terapie spájané pre nadobudnutie väčšieho účinky protinádorovej terapie. V podkapitole 2.5.2 sme v krátkosti poukázali na optické vlastnosti tejto látky, a taktiež výsledky experimentu publikované v odbornej literatúre, ktoré nám slúžia na porovnanie našich nadobudnutých výsledkov a dat, ktoré sme rozšírili a následne ich uvádzame v tejto kapitole.

Elipsometrické parametre Ψ a Δ boli premerané pre uhly dopadu 40, 60, 70 a 80 °. Spektrálny obor pritom pokrýval ultrafialovú, viditeľnú a blízku infračervenú oblasť, teda od 200 nm do 1200 nm. Zaznamenané spektra sú pre všetky uhly dopadu vynesené v Obr. 5.1. Lisované tablety boli relatívne krehké, preto bolo nutné pracovať obozretne pri ich umiestení a fixácii na držiak vzorky elipsometra. Odrazený zväzok vykazoval dominantne spekulárny odraz, difúzna zložka v odrazenom svetle nebola okom pozorovateľná, čo ukazuje na uspokojivú optickú kvalitu študovaného povrchu tablety ftalocyanínu. Brewstrov uhol, pri ktorom p-polarizovaná zložka v odrazenom zväzku vymizne, je pre ftalocyanín približne 60 ° (priemerná hodnota vzhľadom k jeho závislosti na vlnovej dĺžke v sledovanom spektrálnom obore). Elipsometricka merania sú teda najpresnejšie pri uhlu dopadu blízkeho hodnote Brewsterovho uhla. V našom prípade sme zvolili široké rozpätie hodnôt uhlu dopadu (40 °-80 °). Týmto nastavením sme chceli posúdiť vhodnosť použitia modelu jednoduchého rozhrania, prípadne potom optickú anisotropiu lisovaných tablet.

Porovnanie spektrálnych závislosti experimentálnych dat potvrdzuje Kramers-Kronigovu súdržnosť medzi Ψ a Δ parametrami pre všetky uhly dopadu. Priamo z experimentálnych dat je zrejmé, že elektronové prechody medzi molekulovými orbitálmi sú očakávané pre vlnové dĺžky menšie než 800 nm. Pre vyššie vlnové dĺžky sú spektra pevné bez výraznejších spektrálnych štruktúr.

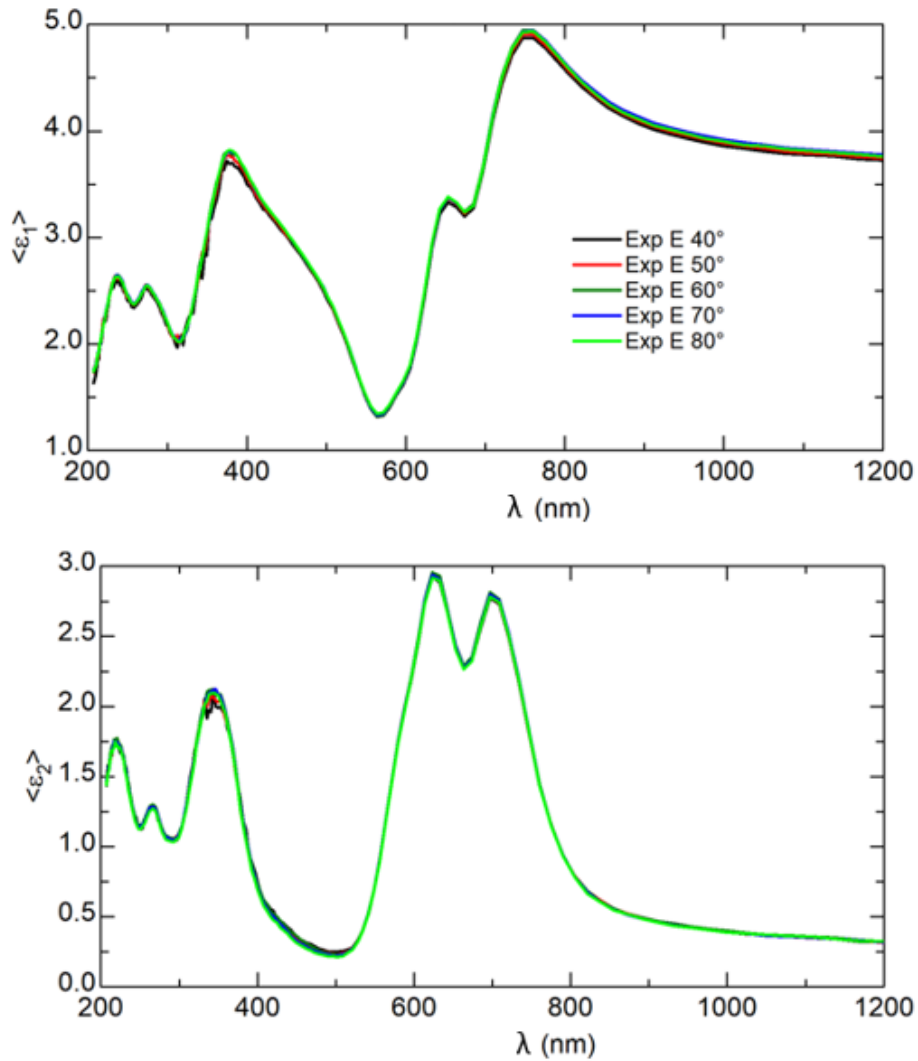


Obrázok 5.1: Experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ

5.1.2 Modelovanie experimentálnych dát a určenie optických konštánt

Vzhľadom k tomu, že zlisované tablety sú dostatočne hrubé, predpokladali sme, že dopadajúce svetlo interaguje iba s povrchom vzorky a ku spodnému rozhraniu sa nedostane ani v prípade dlhších vlnových dĺžok, kde sa očakáva slabá absorpcia, a teda väčšia penetračná hĺbka. Tento predpoklad sa potvrdil nízkym stupňom depolarizácie v odrazenom zväzku, ďalej potom nezaznamenanou skokovou zmenou Ψ parametra v blízkej infračervenej oblasti. Inými slovami, predpokladáme, že ku zmene polarizácie dochádza iba na povrchu tablety, a teda vplyv odrazu na spodnom rozhraní môžeme zanedbať. V tomto prípade je možné modelovať vylisovanú tabletu ako jednoduché rozhranie. Tato skutočnosť nám dáva možnosť určenia optických konštánt ftalocyaninu priamo z experimentálnych elipsometrických dát pomocou jednoduchšej analytickej formuly, bez toho aby sme museli používať zložitejšie numerické spracovanie fitovacími

procedúrami. Pre výpočet komplexnej reálnej a imaginárnej zložky elektrickej permitivity ftalocyanínu sme teda použili vzťah uvádzaný vyššie (viď rovnica (5) a (6)). Výsledne spektra sú prezentované na obrázku 5.2.



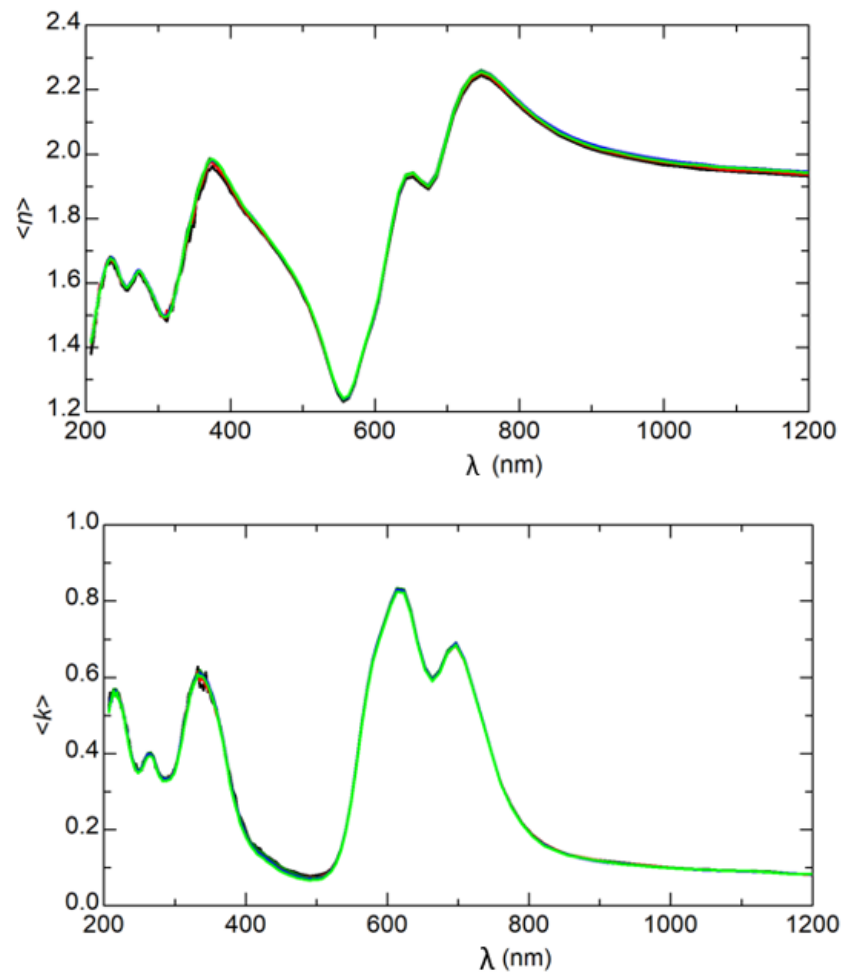
7

Obrázok 5.2: Reálna (hore) a imaginárna (dole) časť relatívnej permitivity ϵ , odpovedajúce experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ

Výpočet spektier elektrickej permitivity bol urobený pre všetky premerané uhly dopadu a získané spektra sú vynesené pre vzájomne porovnanie do spoločného grafu. Z obrázku 5.2 je zrejmé veľká miera takto spracovaných spektier. Týmto sa potvrdil náš predpoklad použiteľnosti aproximácie jednoduchého rozhrania a následne sme týmto nepriamo dokázali, že študovanej tablety sú prevažne opticky izotropné. V opačnom prípade by totiž spektra optických konštánt

určené zmienu analytickou rovnicou jednoduchého rozhrania vykazovali závislosť na uhle dopadu a výsledne optické konštanty by boli označené ako pseudo-konštanty.

Mnohokrát sa v literatúre udávajú optické vlastnosti ftalocyaninu vo forme komplexného indexu lomu ($n-ik$). Jeho reálna a komplexná časť bola určená pomocou známeho prevodného vzťahu, ktorý je odvodený vyššie (vid' rovnica(7) a (8)). K vyššie zmieneným výpočtom sme využili komerčný software WVASE a súčasne sem daný analyticky vzťah naprogramovali vo voľne dostupnom softwarovom prostredí Scilab, ktorý je vyvinutý pre pokročilé technické výpočty. Programový kód uvádzame v prílohe A, kde je taktiež vynesená obdržaná závislosť indexu lomu a extinkčného koeficientu na vlnovej dĺžke.

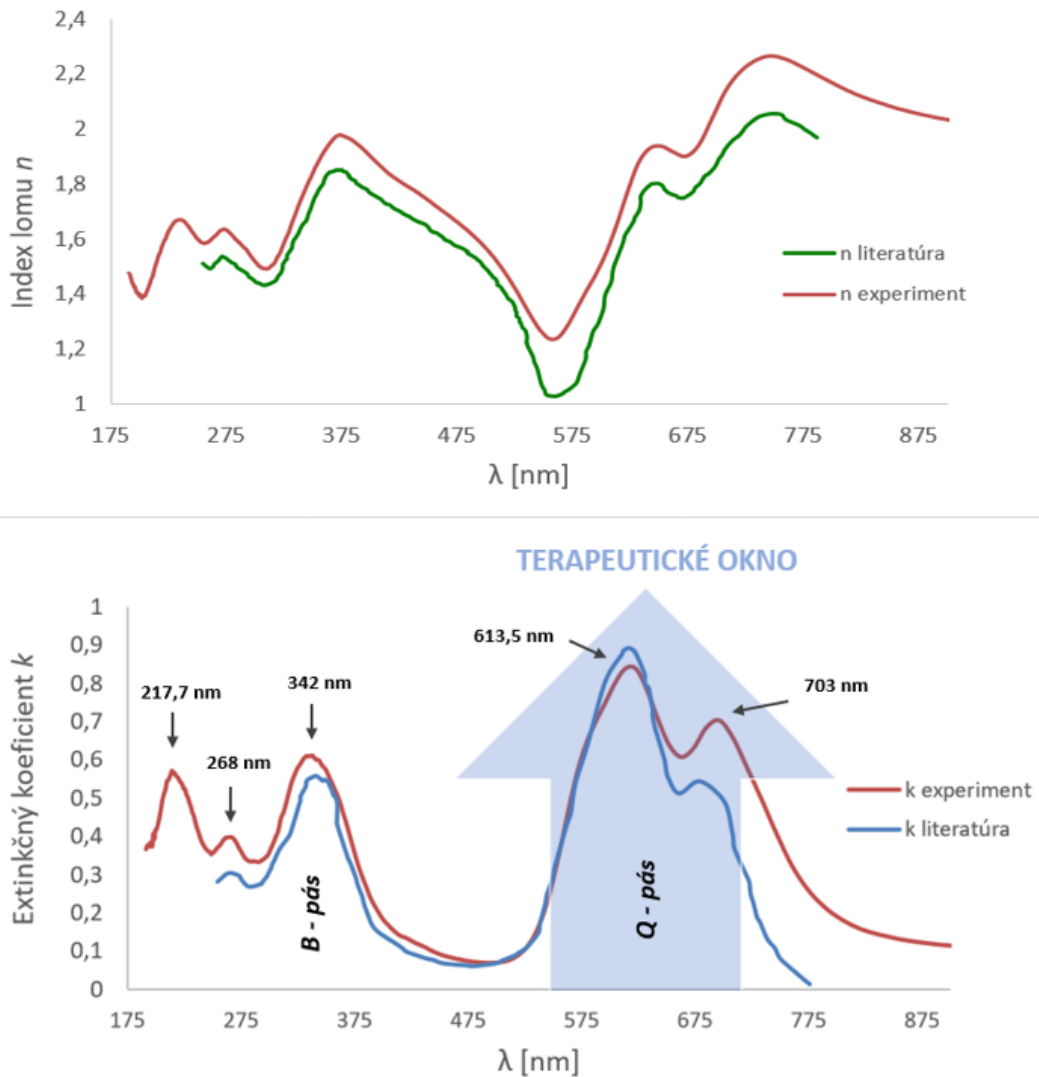


Obrázok 5.3: Index lomu (hore) a extinkčný koeficient (dole), odpovedajúce experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ

5.1.3 Interpretácia optických konštánt

Spektrá optických konštánt boli parametrizované sadou šiestich Lorentzových oscilátorov odpovedajúcim jedno-elektrónovým prechodom molekulových orbitálov. Určené vlnové dĺžky jednotlivých rezonancií sú v obrázku 5.4 zviditeľnené a dobre odpovedajú údajom publikovaným v literatúre (DJURIŠIĆ A.B., 2002).

Na obrázku 5.4 uvádzame index lomu a extinkčný koeficient, vypočítaných zo spektier elipsometrických parametrov, len pre uhol dopadu 70° , keďže ako sme videli vyššie (viď Obr. 5.3), u modelu jednoduchého rozhrania optické konštanty nezávisia od uhla dopadu a ich spektrálne závislosti, berúc do ohľadu chybu merania, sú totožné.

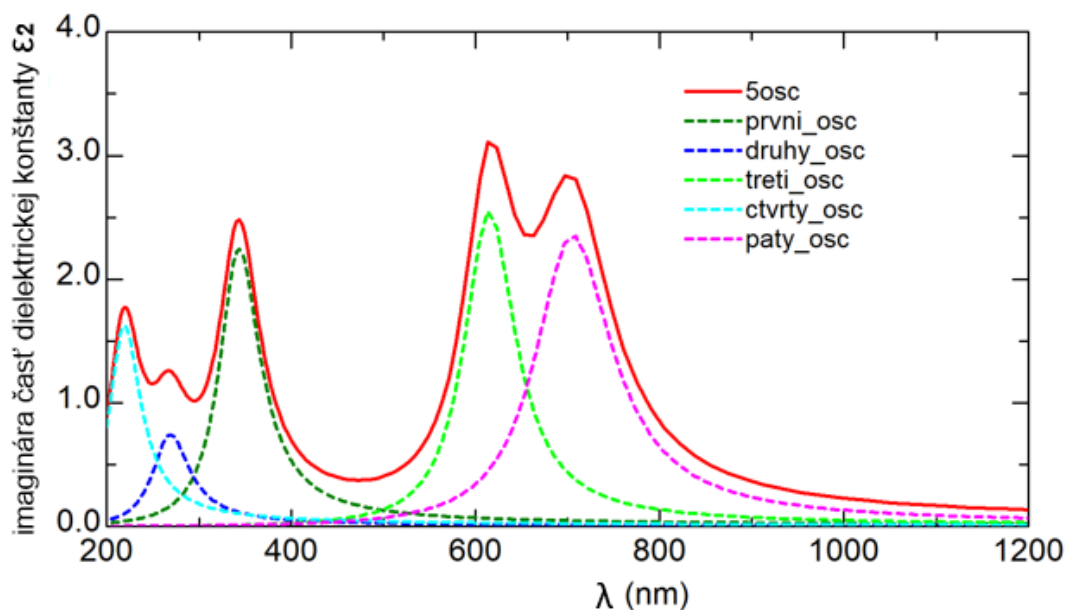


Obrázok 5.4: Optické konštanty odpovedajúce experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ , pre uhol dopadu 70° , porovnanými s literatúrou (DJURIŠIĆ A.B., 2002)

Pri porovnávaní údajov, s menšími odchýlkami, sme brali do úvahy fakt, že sme pracovali s ftalocyanínom zlisovaným do tablety, kým v publikovanej práci sa jednalo o ftalocyanín nanosený na tenkej vrstve.

Pokiaľ sa zameriame na spektrá samotné, vykazujú zhodu v tvare, ako je možné vidieť u indexu lomu n (vid' Obr. 5.4 (hore)), avšak amplitúda našich experimentálnych hodnôt je väčšia (približne o 0,2), ako amplitúda hodnôt publikovaných v literatúre.

Pri koncových bodoch a bodoch pri cca 570 nm je odlišnosť amplitúd dokonca väčšia ako 0,2. U extinkčného koeficientu k sa rozdiel amplitúd ukázal hlavne v oblasti 268 nm až 350 nm, kde sa jednalo o menší rozdiel cca 0,1, a následne pri koncových bodoch (cca 680 nm a viac), kde nastal ich rozdiel o cca 0,2. V oblastiach od 350 nm až 600 nm vykazovali hodnoty veľmi malú až žiadnu odchýlku amplitúd, kým nedošli ku cca 614 nm, kde hodnoty publikované v literatúre dokonca prevýšili hodnoty nami nameraných dát (Husárová, 2020).



Obrázok 5.5: Dekonvolúcia imaginarej časti elektrickej permitivity a zviditeľnenie dielčích príspevkov (Gaussových oscilátorov) v študovanom spektrálnom obore

U absorpčného spektra ftalocyanínu (všeobecne porfirínov) sa stretávame s modelom „štyroch orbitálov“ (jedná sa o dva najvyššie obsadené π a dva najnižšie neobsadené π^* orbitály). Lineárnou kombináciou týchto prechodov s jedným elektrónom vznikajú tzv. Q a B pásy (Hashimoto Tomohiro et al., 1999).

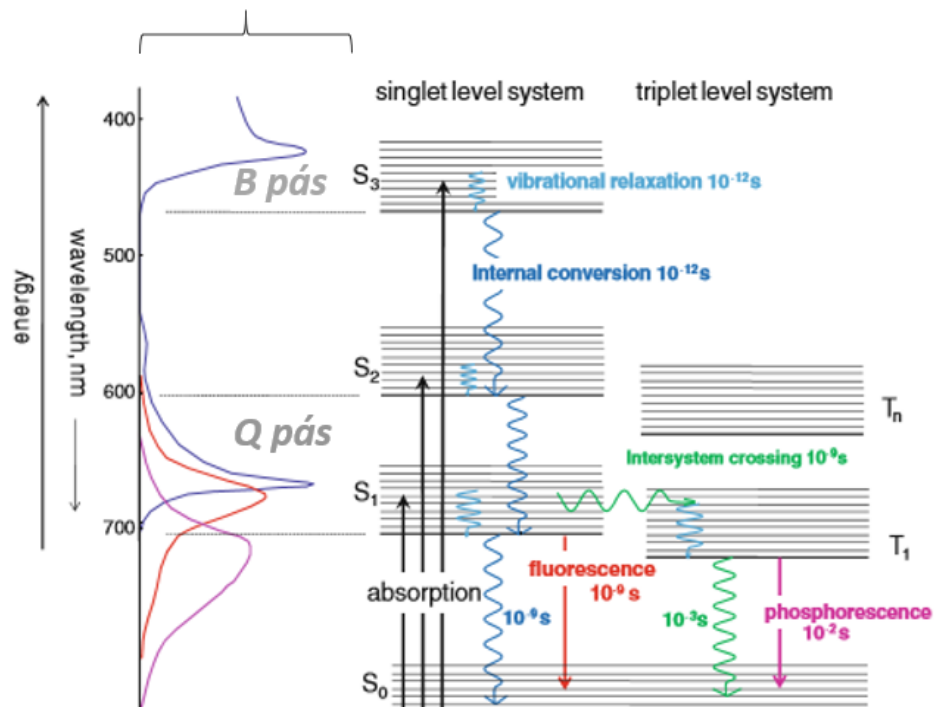
V porovnaní s literatúrou (DJURIŠIĆ A.B., 2002) sme, u extinkčného koeficientu k priradili dané oblasti Q a B pásov (vid' Tab. 5.1), k jednotlivým Lorentzovým oscilátorom, ktoré sme následne vyznačili v Obr. 5.4.

| | Q pás | | B pás |
|------------------------|----------|----------|----------|
| $\lambda_{experiment}$ | 703,0 nm | 613,5 nm | 342,0 nm |
| $\lambda_{literatura}$ | 724,5 nm | 589,9 nm | 353,9 nm |

Tabulka 5.1: Experimentálne a teoretické hodnoty elektrónových prechodov ftalocyanínu porovnané s literatúrou (DJURIŠIĆ A.B., 2002)

V oblasti 600-700 nm (vid' Obr.5.4 (dole)) sa nachádza významný absorpčný pás, ktorý priradzujeme do oblasti terapeutického (biologického) okna, to jest oblasť spektra s najväčšou penetračnou hĺbkou do tkaniva pacienta.

Absorpčné spektrum molekúl PS (všeobecne)



Obrázok 5.6: Prepojenie absorpčného spektra s Jablonského schémou, predstavujúcou typické fotofyzikálne procesy v molekulách všeobecne. Prevzaté z (KADER, 2014)

Ako je vidieť na Obr.5.6, práve v tejto oblasti, terapeutického okna (600-700 nm), dochádza v molekule PS k tzv. inter - crossingu, ktorý je dôležitým dejom pri prenose energie molekule kyslíku, a tým vzniku ROS. Hodnota optickej absorpcie práve v tejto spektrálnej oblasti je jedna zo zásadných vlastností fotosenzitizéru používaného pre PDT (Husárová, 2020).

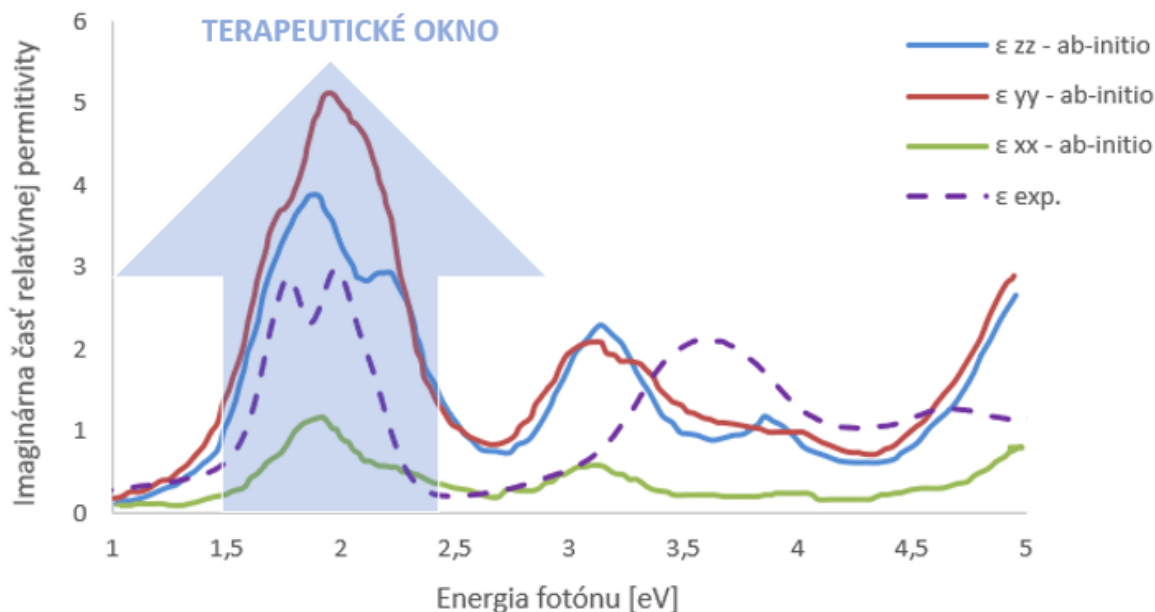
5.1.4 Zrovnanie s ab - initio výpočtami

Na druhú stranu, určenie optických konštánt v širšej spektrálnej oblasti ma svoj význam taktiež pre ladenie teoretických postupov ab-initio výpočtov optických konštánt rôznych materiálov. Po doladení daných postupov, môžu byť použité pre výpočty funkcionalizácie ftalocyanínu v snahe maximalizovať absorpciu v terapeutickom okne (≈ 650 nm).

Experimentálne určené spektrá optických konštánt tvoria v tomto prípade referenciu, ku ktorej sa teoretické výpočty majú priblížiť. Pre posúdenie nastávajúceho stavu úrovne výpočtov uvádzame zrovnanie oboch prístupov pre nami študovaného med'natého ftalocyanínu. Optické konštanty v tomto prípade prepočítavame (pre potreby zrovnania) z indexu lomu na hodnotu elektrickej permitivity vzťahom

$$n - ik = \sqrt{\epsilon_r - i\epsilon_i}, \quad (18)$$

kde ϵ_r a ϵ_i je reálna a imaginárna časť relatívnej permitivity ftalocyanínu. Zrovnanie ab-initio s nami určenými opt. konštantami je zobrazené na Obr. 5.7 prostredníctvom imaginárnej časti elektrickej permitivity. Teoretické výpočty vychádzajú zo symetrie molekuly, a teda získané hodnoty nadobúdajú v rôznych smeroch rôznych hodnôt označených ϵ_{xx} , ϵ_{yy} , ϵ_{zz} , ako je bežné pre anizotropné materiály (BIRNBAUM Tobias, 2014). Nami zlisovaná tableta obsahuje náhodne orientované pigmentové častice, a preto je vo výsledku opticky izotropná a určená elektrická permitivita je skalárna veličina.



Obrázok 5.7: Teoreticky vypočítané spektrá imaginárnej časti elektrickej permitivity ϵ_{xx} , ϵ_{yy} , ϵ_{zz} (BIRNBAUM Tobias, 2014) a im odpovedajúca nami experimentálne určená závislosť (fialová)

V spektrálnej oblasti terapeutického okna teoretické výpočty kvalitatívne správne postihujú experimentálne dáta. Napriek tomu v oblasti malých vlnových dĺžok (vyšších hodnôt energie fotónu) sa zo spektra príliš nezhodujú. Nami experimentálne určené konštanty ftalocyanínu tak dávajú možnosť doladenia rôznych prístupov v teoretických výpočtoch používaných, ktoré na druhú stranu, po svojej maturácii, môžu predikovať vplyv rôznej funkcionalizácie ftalocyanínu na sledované hodnoty extinkčného koeficienta, a tým dielčím spôsobom napomôcť procesu zefektívnenia PDT (Husárová, 2020).

5.1.5 Význam určených optických konštánt vzhľadom ku fotodynamickéj terapii

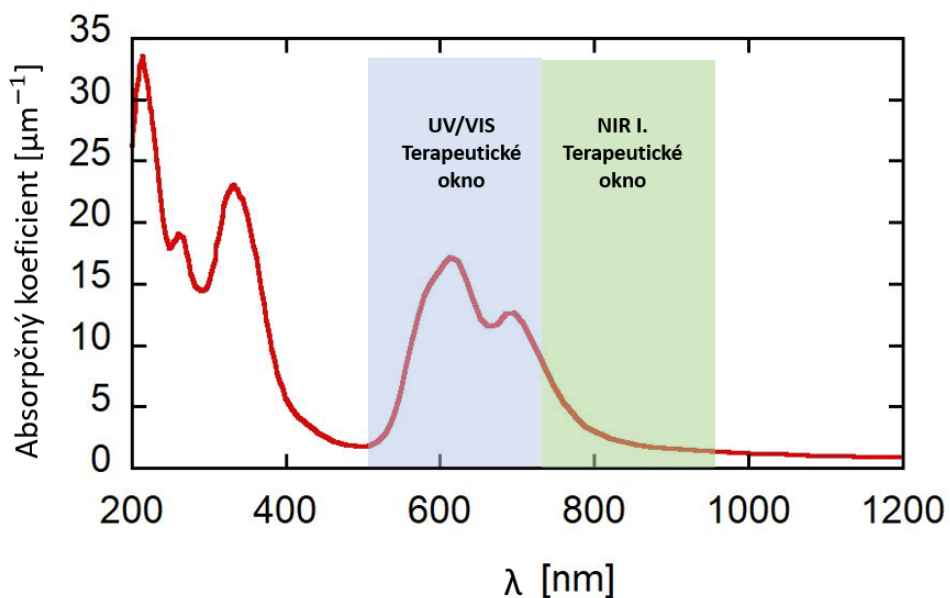
Naším cieľom bolo rozšíriť o nové poznatky a vlastnosti nami skúmaného PS - med'natého ftalocyanínu, pomocou spektroskopickéj elipsometrie, čím sme chceli prispieť k vylepšovaniu novodobých aplikácií v diagnostike a terapii nádorov a ochorení s tým spojených. Na to aby látka nadobudla úlohu fotosenzitizéru musí spĺňať mnoho kritérií a vlastností, od chemických cez biologické až fyzikálne, ktorým sme sa práve venovali my. Zamerali sme sa na optické vlastnosti a chovanie ftalocyanínu a tieto poznatky prepojili s teoretickými poznatkami. Poukázali sme na prominentný pás CuPc v jeho spektrálnej oblasti 600-700 nm (vid' Obr.5.4 (dole)), teda

oblasť terapeutického (biologického) okna, ktorá je veľmi významná pre daný typ fototerapie. Ftalocyanín túto úlohu PS bezpochyby spĺňa, čím sme poukázali na vhodnosť látky ako takej, ale taktiež aj na správnosť a presnosť nami zvolenej metódy - elipsometrie. Naše poznatky môžu ďalej napredovať v oblasti ab-initio výpočtov a dopomáhať tak k ich ladeniu a napredovaniu rozvoju danej terapie.

Schopnosť materiálu absorbovať svetlo a premieňať ho v tepelnú energiu najlepšie vystihuje veličina absorpčného koeficientu, ktorú je ľahké vypočítať z extinkčného koeficientu pomocou vzťahu

$$\alpha = \frac{4\pi k}{\lambda} \quad (19)$$

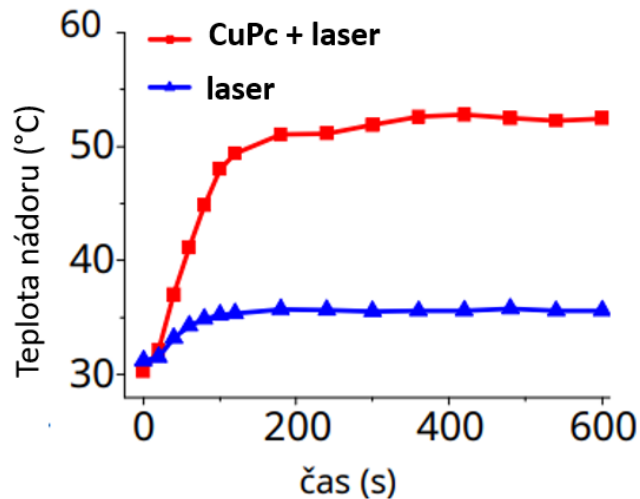
Takto prepočítané spektrum absorpčného koeficientu ftalocyanínu je uvedené na obrázku 5.8 s priradenými príslušnými spektrálnymi oblasťami terapeutického okna. K výpočtu sme použili extinkčný koeficient odpovedajúci experimentálnym elipsometrickým parametrom zaznamenaných pre uhol dopadu 70 °.



Obrázok 5.8: Absorpčný koeficient med'natého ftalocyanínu s priradenými spektrálnymi oblasťami terapeutického okna

Mnoho výskumov sa zaoberalo premenou svetla na teplo pomocou rôznych fotosenzibilizátorov využívaných bežne v PDT. Napríklad takí Xingshu a spol. sa zaoberali nami študovaným

ftalocyanínom medi, ktorý vykazuje vysokú in vivo účinnosť PTT proti myšiam nesúcim určitý druh nádoru (Li Xingshu, 2018). Jedinečný výskum osvetlil perspektívu nových aplikácií ftalocyanínov pre PTT, ktoré umožňujú kompenzovať inherentné chyby PDT.



Obrázok 5.9: Profil zmeny teploty buniek HepG2 inkubovaných s ftalocyanínom medi a vystavený laserovému žiareniu (730 nm). Ako kontrola- neošetrené bunky vystavené laseru. Prevzaté a upravené z (Li Xingshu, 2018)

Ako je vidieť na obrázku 5.9, bunky inkubované s CuPc po ožiarení laserom v spektrálnej oblasti 730 nm vykazovali dvakrát vyššiu fototermálnu konverziu, ktorá sa preukázala vo zvýšení teploty nádora, ako bunky inkubované bez CuPc a ožiarené laserom. Ako môžeme vidieť na našich výsledkoch 5.8, práve táto vlnová dĺžka- 730 nm, spadá do oblasti terapeutického okna CuPc (NIR-I.), teda do oblasti s najväčšou absorpciou svetla. Doposiaľ sa využíval ftalocyanín skôr z hľadiska úlohy fotosenzitizéra v PDT (oblasť UV/VIS), toto zistenie nám však ponúka nové perspektívy ftalocyanínu aj vo fototermálnej terapii, prípadne kombinácií oboch terapii za účelom zvýšenia účinnosti terapie.

Vyriešením otázky z hľadiska optiky a prieniku svetla do tkaniva v terapeutickom okne, prichádzame k ďalším kritériám vhodného fotosenzitizéra ako je životnosť kyslíka. Je podstatné aby kyslík vykazoval za pomoci vhodného PS čo najväčšiu životnosť a zotrval tak vo svojej reaktívnej forme čo najdlhšie, aby došlo k usmrteniu veľkého počtu nádorových buniek. K tomuto problému sa postavili A. Staicu a spol., ktorý vo svojej publikácii riešili životnosť kyslíka rôznych typov ftalocyanínu. Považujeme za dôležité uviesť tabuľku hodnôt z ich publikácie na porovnanie (Staicu Angela, 2013):

| | Názov zlúčeniny | Rozpúšťadlo | Životnosť kyslíka (μ s) |
|----|--|-------------|------------------------------|
| 1. | ZnPc | DMSO | 9.5 |
| 2. | Cu-tris(hydroxyetylaminometyl)-Pc | DMF | 20 |
| 3. | Cu-tris(hydroxymetyl)-trihydroximetil-Pc | DMSO | 4.8 |
| 4. | FePc | DMSO | 6.0 |
| 5. | CoPc | DMSO | 3,0 |
| 6. | CuPc | DMSO | 5.3 |
| 7. | NiPc | DMF | 3.9 |
| 8. | Chlórhlínik Pc (AlPcCl) | DMSO | 8.4 |
| 9. | Hydroxyalumínium Pc (AlPcOH) | DMSO | 11.8 |

Obrázok 5.10: Tvorba ROS rôznych druhov ftalocyanínu. Prevzaté a upravené z (Staicu Angela, 2013)

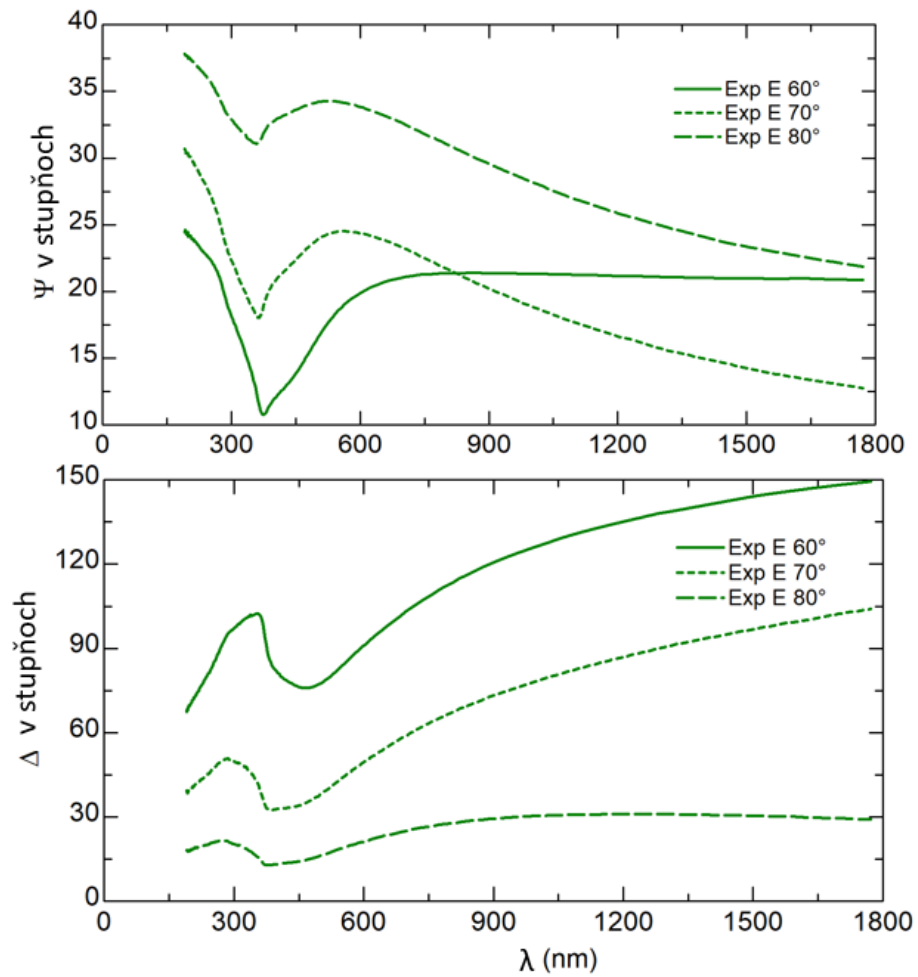
Ako vidíme v tabuľke 5.10, nami skúmaní CuPc ma polovičnú životnosť kyslíka ako napríklad ftalocyanín zinku (ZnPc). Našu metódu určenia optických konštánt -elipsometriu to však nezasahuje vo význame a jej prínose, pretože sme správne určili optické konštanty CuPc a nie je problém rovnakým prístupom a postupom zistiť optické parametre aj vyššie zmieneného zinkového ftalocyanínu.

Mnohé výskumy, aj v dnešnej dobe, sa neustále zaoberajú ftalocyanínmi, ich modifikáciami a prínosom aj do iných odvetí medicíny. Stále existuje mnoho otázok a takisto aj možností, kde výskum ftalocyanínu ako PS vo fotodynamickej či fototermálnej terapii posunúť, a tým napredovať k zlepšeniu podmienok terapie a zníženiu vedľajších účinkov, ktoré liečba rakoviny so sebou prináša.

5.2 Určenie optických konštánt disulfidu molybdénu

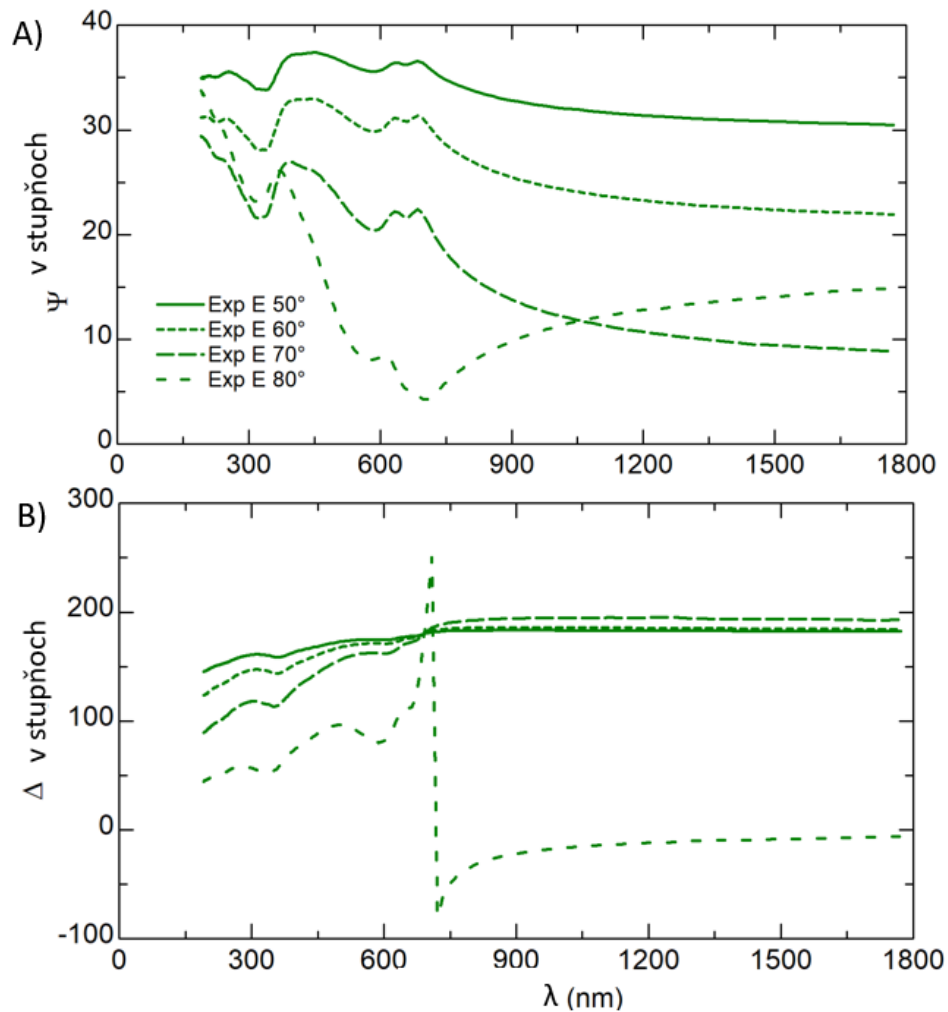
5.2.1 Experimentálne elipsometrické data

V tejto práci sme pracovali jednak s amorfnou vzorkou MoS_2 , s lokálnym usporiadaním atómov, a taktiež so vzorkou zakryštalizovanou v 2H fáze. Podrobnosti o depozícii vzorky sú uvedené v experimentálnej časti a zoznam ďalších komplementárnych charakteristík v Krbal Milos, 2021.



Obrázok 5.11: Experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ pre fázu amorfnú

Elipsometrické parametre Ψ a Δ boli zmerané u oboch vzoriek pre rôzne uhly dopadu (viď Obr.5.11 a 5.12). Už na prvý pohľad je zrejماً rozdielnosť spektrálnych závislostí týchto dvoch fáz, kde u kryštalickej fázy vidíme väčší počet výraznejších spektrálnych štruktúr vo viditeľnej oblasti oproti amorfnej fáze.



Obrázok 5.12: Experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ pre fázu kryštalickú-2H

5.2.2 Modelovanie experimentálnych dát a určenie optických konštánt

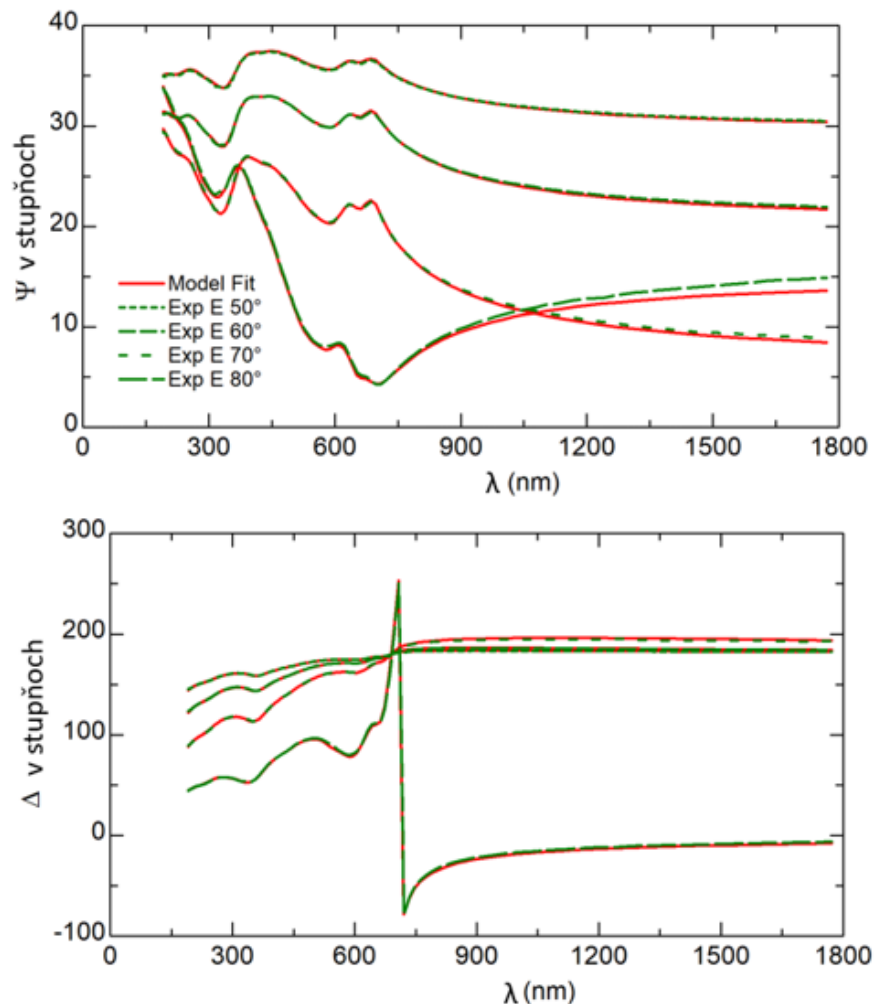
Modelová štruktúra vzorku použitá pre spracovanie spektier elipsometrických parametrov v tomto prípade bola zložitejšia v porovnaní s modelom štruktúry ftalocyanínu. Kým u ftalocyanínu sa jednalo o bulkovú tabletu modelovanú jednoduchým rozhraním u vrstvy MoS_2 bol tento model zložitejší.

| | |
|--------------------------|-----------|
| 3 srough | 3.497 nm |
| 2 ms24_800_single_8gauss | 22.650 nm |
| 1 sio2_jaw | 2.500 nm |
| > 0 si_jaw | 1 mm |

Model Options:
Non-ideal Model

Obrázok 5.13: Náhľad modelovej štruktúry zvolenej pre danú vzorku MoS_2

Ako vidieť na obrázku 5.13 nami zvolená modelová štruktúra pozostávala so substrátu kremíku s hrúbkou 1mm a jeho oxidovanej vrstvy SiO_2 . Hrúbka natívneho oxidu (2,5 nm) bola určená na referenčnej nepovlakovanej vzorke. Následné dva zvyšné adjustovateľné parametre, hrúbka vrstvy a drsnosť, patria pre samotné deponované vrstvy MoS_2 na zvolenom substráte. Ďalšie voľné parametre, ktoré sa upresnili numerickým fitom experimentálnych dat odpovedali parametrizácii elektrickej permitivity vrstvy MoS_2 . Tato parametrizácia pozostávala zo sumy ôsmich Gausovských oscilátorov (kryštalická fáza), prípadne potom troch (amorfná fáza). Po zmeraní elipsometrických parametrov Ψ a Δ a po nastavení modelu štruktúry vzorky sme pomocou software WVASE nafitovali získané parametre (vid' Obr.5.14) a spresnili tak údaje voľných parametrov, na reálne hodnoty.



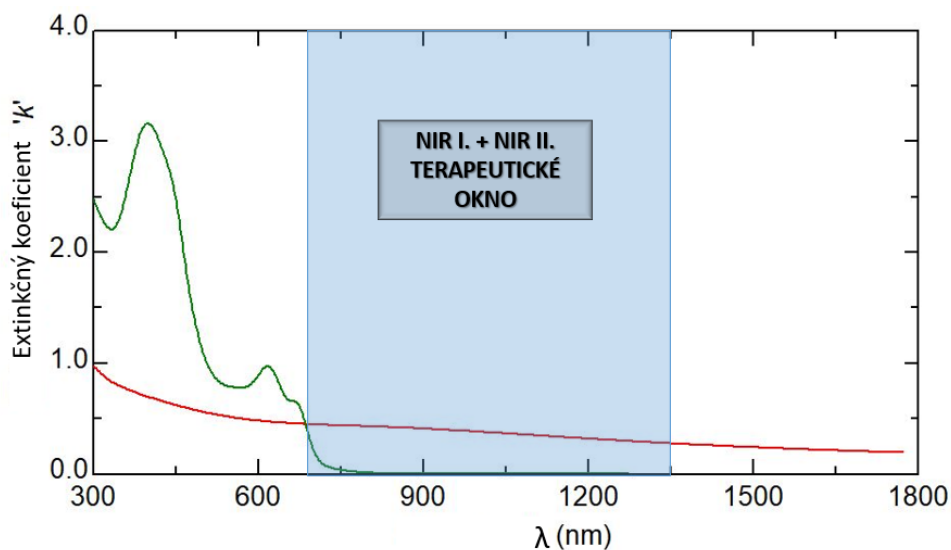
Obrázok 5.14: Fitované experimentálne zmerané elipsometrické parametre Ψ a Δ (software WVASE) pre kryštalickú 2H- MoS_2 fázu

Extinkčné koeficienty zakryštalizovanej a amorfnej fázy, získaných z elipsometrických parametrov, uvádzame na obrázku 5.15. Veľmi významná je rozdielnosť v oblasti od 750 nm, kde vidíme typické chovanie polovodiča zakryštalizovanej 2H fázy. V tejto oblasti 2H- MoS_2 neabsorbuje z dôvodu nepostačujúcej energie a oblasti zakázaného pásu. Naproti tomu amorfná fáza MoS_2 vykazuje vlastnosti vodiča, kde zakázaný pás energii nevzniká a energia z tejto spektrálnej oblasti je dostačujúca k absorpcii danej látky.

Táto oblasť je práve oblasťou NIR- terapeutického (biologického) okna (vid' Obr.5.15), významného pre fototermálnu terapiu, preto považujeme za dôležité aby daná látka, v podobe fototermálneho transdukčného činidla, práve v tejto oblasti absorbovala energiu, ktorú následne využívame v terapii v podobe tepla. V oblasti UV/VIS vykazuje vyššiu absorpciu 2H fáza vzorky a súvisí s absorpciou svetla na excitonoch. Táto oblasť sa v praxi využíva hlavne na liečbu povrchových ochorení kože, pretože v tejto spektrálnej oblasti má svetlo veľmi malú penetráciu do tkaniva, čím vyradzujeme možnosť liečby hlbšie umiestnených nádorov. Rovnaké vlastnosti ako amorfná vzorka vykazuje vzorka vo fáze 1T- MoS_2 , ktorú uvádzame z literatúry (ZHOU Zhan, 2020) v podkapitole 2.5.3. Jedná sa však o fázu nestabilnú a pre zavedenie do praxi nepraktickú. Naproti tomu naša amorfná vzorka je stabilná, čo nám ukazuje na veľký potenciál tejto fázy v zavedení do praxe.

5.2.3 Optické konštanty a ich význam vzhľadom k fototermálnej terapii

Hlavnou funkciou PTA vo fototermálnej terapii je dostatočná premena získanej energie, zo svetelného zdroja, na teplo. Na to aby túto dostatočnú energiu získal je potrebné aby v danej spektrálnej oblasti svetelného zdroja túto energiu PTA absorboval.

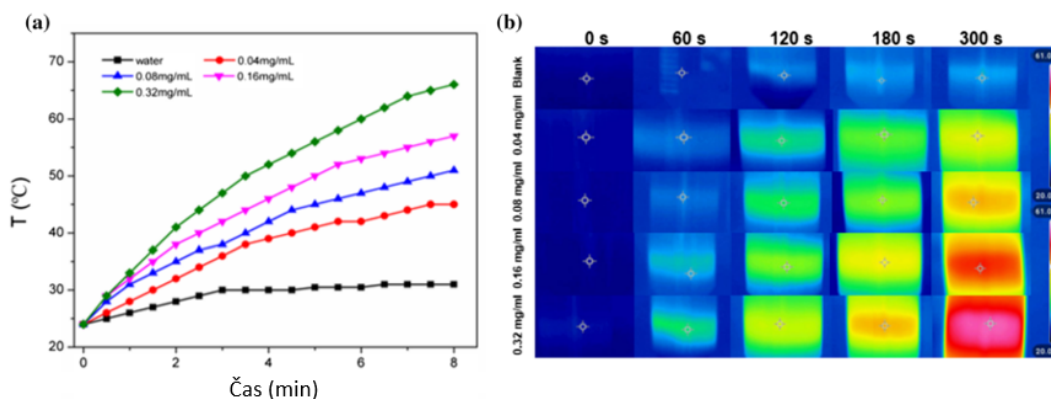


Obrázok 5.15: Extinkčný koeficient amorfnej (červená) a zakryštalizovanej (zelená) vzorky odpovedajúci experimentálne zmeraným elipsometrickým parametrom Ψ a Δ s priradenou oblasťou NIR-terapeutického okna

Naším zvoleným PTA bol MoS_2 , ktorý sa v praxi často vyskytuje len v 2H zakryštalizovanej fázy, kvôli jeho stabilite a dostupnosti. Jedná sa o fázu MoS_2 s vlastnosťami polovodiča. Kvôli hlbšej penetrácii svetla do tkaniva a takisto kvôli zobrazovacím technikám sa využívajú svetelné zdroje v NIR oblasti spektra. Ako sme zistili (vid' Obr.5.15), táto 2H fáza v tejto oblasti neabsorbuje, čo je spôsobené medzerou v pásme tzv. "bandgap"s veľkosťou okolo 1,8 eV, čím sa obohráme o možnosť využitia tejto látky aj pri liečbe hlbšie umiestnených nádorov v tele pacienta. Veľmi sľubnou voľbou sa v tejto oblasti ukázala fáza 1T- MoS_2 , s vlastnosťami vodiča, kde však znova narážame na nevýhodu v podobe stability fázy, ktorá ma tendenciu rýchlo spadať do 2H fázy. Túto situáciu sme chceli vyriešiť, skúmaním amorfnej vzorky MoS_2 s lokálnym usporiadaným atómom s väčšou stabilitou oproti 1T. Zamerali sme sa teda na jej optické vlastnosti, presnejšie na optickú konštantu - extinkčný koeficient k . Ukázalo sa, že vykazuje veľmi sľubné vlastnosti vodiča ako fáza 1T, s tým, že je oveľa stabilnejšia.

Ako sme spomínali v kapitole 2.5.3, MoS_2 má vrstvomú štruktúru a v závislosti od poradia atómom Mo a S môže existovať v rôznych fázach. Rôzne výskumy, ako napríklad Marzieh a spol, ukázali, že vodivosť 1T- MoS_2 fázy je asi 107-krát vyššia ako 2H- MoS_2 , pričom má väčšiu prenosnosť náboja a aktívnejšie stránky. Ppredstavovali MoS_2 -NS (1T) v podobe nanovrstvy a MoS_2 -NF (2H) v podobe nanovločiek (Marzieh Salimi, 2022). Ich výsledky znova poukazujú

na väčšiu výhodnosť použitia 1T fázy v NIR spektre ako 2H fázy, teda presnejšie, že schopnosť premeny svetla na tepelnú energiu je u 1T fázy dvakrát vyššia ako u fázy 2H.



Obrázok 5.16: Prevzaté a upravené z (Jie Wang, 2020)

Účinnosťou fototermálnej konverzie MoS_2 sa zaoberal aj Jie Wang (Jie Wang, 2020). Ako je vidieť na obrázku 5.16 vľavo, teplota lineárne rástla s časom a taktiež s koncentráciou. Na obrázku 5.16 vpravo poukazujú na výsledky tohto experimentu zachytené termokamerou. Vidíme zvýšenie teploty u vzorky s vyššou koncentráciou MoS_2 za určitý čas. Tieto zistenia znova potvrdzujú výborné fototermálne vlastnosti nami študovaného MoS_2 . Zistilo sa dokonca, že kovová 1T- MoS_2 fáza môže byť použitá ako dobrý fotosenzibilizátor pre indukovanie ROS v porovnaní s polovodičovou 2H- MoS_2 fázou. Detekciu singletového kyslíka a ultrazvuk využili vo svojom výskume Huizhi Chen a spol (Chen Huizhi, 2022), kde porovnávali tvorbu ROS 1T a 2H fázy MoS_2 . Ukázalo sa, že 1T nanovrstvy môžu generovať viac ROS ako 2H nanovrstvy pod ultrazvukovou úpravou. Keďže nami študovaná amorfná fáza vykazuje výborné fototermálne vlastnosti 1T fázy, otvára sa nám nová možnosť skúmania tejto amorfnej vzorky z hľadiska fotosenzibilizátora v úlohe PDT, prípadne skúmanie tejto vzorky ako kombináciu vlastností PS/PTA vo fototerapii všeobecne. Veľkou otázkou ostáva budúcnosť a aplikácie nami študovanej amorfnej vzorky MoS_2 , ktorá ako sme videli a experimentálne potvrdili (vid' Obr. 5.15), vykazuje veľmi sľubné vlastnosti a absorpciu v NIR oblasti terapeutického okna, a teda potenciál tejto vzorky nám otvára nové možnosti a spoločnú nanoplatformu pre teranostické biomedicínske aplikácie.

6 ZÁVER

V tejto diplomovej práci sme sa zaoberali fotoaktívnymi činidlami, presnejšie mednatým ftalocyanínom a disulfidom molybdénu, ktoré pôsobia v dvoch hlavných príspevkov fototerapie, a to presnejšie vo fotodynamickej (PDT) a fototermálnej (PTT) terapii ako činidlá absorbujúce svetlo v určitých vlnových dĺžkach, ktoré premieňajú buď na tepelnú energiu alebo túto energiu sprostredkúvajú kyslíku za vytvorenia jeho reaktívnych foriem. V oboch prípadoch je rovnaký následok, a to deštrukcia nádorových buniek. Obe terapie sú významnými disciplínami v role protinádorovej terapie, či už kožných povrchových ochorení, infekčných ochorení kože bakteriálneho pôvodu alebo veľmi zásadných ochorení ako sú rôzne nádorové ochorenia orgánov a kože.

Naším cieľom bolo určiť optické konštanty týchto dvoch látok za pomoci metódy spektroskopie elipsometrie a posúdiť ich rolu z hľadiska optických vlastností fotoaktívnych činidiel v daných terapiách. Taktiež sme chceli poukázať na vhodnosť a správnosť tejto metódy a otvoriť tak nové možnosti jej využitia v tomto odvetí terapie. U oboch látok, či mednatý ftalocyanín alebo MoS₂, sa v prvom rade jednalo o určenie elipsometrických parametrov Ψ teda zmeny amplitúdy a Δ ako parameter relatívnej fázovej zmeny. Následne z týchto parametrov a za pomoci adekvátnych matematických vzťahov boli získané optické konštanty extinkčný koeficient k a index lomu n . Ako sme spomínali už v úvode tejto práce, mednatým ftalocyanínom v úlohe fotosenzibilizátora v PDT a jeho optickými konštantami sme sa zaoberali už v predchádzajúcej bakalárskej práci. V tejto diplomovej sme tieto poznatky rozšírili a ako sa ukázalo, že veľa výskumov sa naďalej ftalocyanínmi zaoberá a dokonca vznikajú nové myšlienky využitia týchto pigmentov ako fototransdukčných činidiel vo fototermálnej terapii. Naše experimentálne hodnoty sme porovnávali s hodnotami publikovanými v literatúre (viď (DJURIŠIĆ A.B., 2002)) pričom sa ukázali ako porovnateľné, hoc pracovali s tenkou vrstvou a my s tabletou. Odlišnosti v kvalite obrazu spektier mohli byť spôsobené mnohými javmi ako rôznosť študovaných vzoriek, povrch tablety prípadne tlak pod ktorým sme pigmentový prášok, do podoby tablety, lisovali. Nič nám nebráni v tom, že túto metódu môžeme považovať za metódu veľmi presnú a náležitú v disciplíne fototerapie všeobecne. Oblasť terapeutického okna (600-750nm) bola správne ukázaná a priradená do oblasti najväčšej penetrácie CuPc. V spektrálne pásmo nad 750 nm, teda NIR-I, je oblasťou, ktorá by bola vhodná na preštudovanie z hľadiska CuPC ako fototermálneho činidla v PTT, kde vykazuje veľký potenciál.

U amorfnej vzorky MoS_2 sa jednalo o depozičné vrstvy na kremíkovom substráte a meranie prebehlo rovnakým spôsobom. Pre porovnanie sme pracovali s experimentom publikovaným v literatúre (viď (ZHOU Zhan, 2020)), kde porovnávali fázu 2H a 1T, keďže to sú hlavné fázy MoS_2 s ktorými sa pracuje. Ukázalo sa, že kým 1T fáza ma povahu vodiča a absorbuje svetlo aj vo vyšších vlnových dĺžkach, 2H fáza v tejto oblasti skoro vôbec neabsorbuje, čo je spôsobené jej povahou polovodiča energeticky zakázaného pásma prechodu (bandgap 1,8 eV). Práve v tejto oblasti spektra tzv. oblasť NIR-I. terapeutického okna, je zásadná oblasť pre fototermálnu terapiu. Jedná sa o oblasť najväčšej penetrácie svetla do tkaniva, ktorá je základom fototerapií. Veľkou nevýhodou je nízka stabilita 1T fázy a jej tendencia spadať do 2H fázy, ktorá je stabilnejšia. Nami skúmaná vzorka vykazovala veľmi podobné vlastnosti vodiča ako vzorka 1T, ako ukázali naše experimentálne prínosy, táto vzorka absorbovala v NIR-I. oblasti terapeutického okna a navyše vyriešila problém týkajúci sa stability, čím sa stala vhodným kandidátom na post fototermálneho činidla v PTT. Toto zistenie ponúka ďalšie možnosti výskumu danej amorfnej vzorky MoS_2 z iných hľadísk, ktoré musí spĺňať vhodné fototermálne činidlo, ako napríklad jej agregácia v organizme, životnosť a zotrvávanie v tele či štruktúrna úprava do podoby malých nanovločiek, ktoré sa vhodným spôsobom dostanú do tela nádorovej bunky, kde spôsobia jej zánik.

POUŽITÁ LITERATÚRA

- A. EDWARDS, S. Jenkinson, 2012. Perspective and Concepts: Overview of Techniques for Assigning Stereochemistry. In: *Comprehensive Chirality*. Amsterdam: Elsevier, s. 39–53. ISBN 978-0-08-095168-3. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-095167-6.00808-9>.
- AHSEN Vefa a Tebello NYOKONG, et al., 2012. *Photosensitizers in Medicine, Environment, and Security*. 1. vydání. Netherlands: Springer Science. ISBN 978-90-481-3872-2. DOI: [10.1007/978-90-481-3872-2](https://doi.org/10.1007/978-90-481-3872-2).
- AL., Goubin F. et, 2004. Experimental and Theoretical Characterization of the Optical Properties of CeO₂, SrCeO₃, and Sr₂CeO₄ Containing Ce⁴⁺ (f₀) Ions. *ChemInform*. 04/2004, **16**, 662–669. DOI: [10.1002/chin.200417017](https://doi.org/10.1002/chin.200417017).
- ALL, Niskanen I. et, 2007. Assessment of the complex refractive index of an optically very dense solid layer: Case study offset magenta ink. *Chemical Physics Letters*. **442**(4), 515–517. ISSN 0009-2614. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2007.06.036>.
- ALLEN Cynthia a Sharman, Wesley et al., 2001. Current status of phthalocyanines in the photodynamic therapy of cancer. *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. 02/2001, **5**, 161–169. DOI: [10.1002/jpp.324](https://doi.org/10.1002/jpp.324).
- AZZAM, R. M. A. a N. M. BHASHARA, 1997. *Ellipsometry and Polarized Light*. Amsterdam-New York-Oxford: North Holland.
- BERTHIER, S., 1993. *Optique des milieux composites*. Paris: Polytechnica.
- BIRNBAUM TOBIAS Torsten HAHN, et al., 2014. Optical and magneto-optical properties of metal phthalocyanine and metal porphyrin thin films. *Journal of Physics: Condensed Matter*. **26**. ISSN 0953-8984. DOI: [10.1088/0953-8984/26/10/104201](https://doi.org/10.1088/0953-8984/26/10/104201).
- BONNETT, Raymond, 1995. Photosensitizers of the porphyrin and phthalocyanine series for photodynamic therapy. *Chem. Soc. Rev.* **24**, 19–33. DOI: [10.1039/CS9952400019](https://doi.org/10.1039/CS9952400019).
- D.E. ASPNES, H. Arwin a, 1986. Determination of optical properties of thin organic films by spectroellipsometry. *Thin Solid Films*. **138**(2), 195–207. ISSN 0040-6090. DOI: [https://doi.org/10.1016/0040-6090\(86\)90393-7](https://doi.org/10.1016/0040-6090(86)90393-7).

- DASH BANENDU SUNDER Das Suprava, Chen Jyh-Ping, 2021. Photosensitizer-Functionalized Nanocomposites for Light-Activated Cancer Theranostics. *International Journal of Molecular Sciences*. **22**(13). ISSN 1422-0067. DOI: 10 . 3390/ijms22136658.
- DENG Xiangyu, Zengwu SHAO a Yanli ZHAO, 2021. Solutions to the Drawbacks of Photothermal and Photodynamic Cancer Therapy. *Advanced Science*. **8**(3). ISSN 2198-3844. DOI: 10.1002/advs.202002504.
- DJURIŠIĆ A.B., C.Y. et al., 2002. Optical properties of copper phthalocyanine. *Optics Communications*. **205**, 155–162. ISSN 00304018. DOI: 10 . 1016/S0030 – 4018 (02) 01311–1.
- DRUDE, P., 1889. *Ann. Phys. Chem.* **36**, 532.
- ERK, PETER a HEIDI HENGELSBERG, 2003. Phthalocyanine Dyes and Pigments. In: KADISH, Karl M. – Kevin M. SMITH a Roger GUILARD (editoři). *The Porphyrin Handbook*. Amsterdam: Academic Press, s. 105–149. ISBN 978-0-08-092393-2. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-092393-2.50009-3>.
- EVA HEMMER Benayas, Antonio et all, 2016. Exploiting the biological windows: current perspectives on fluorescent bioprobes emitting above 1000 nm. *Nanoscale Horiz.* **1**, 168–184. DOI: 10.1039/C5NH00073D.
- FABER C. P. BOULANGER, et al., 2014. Excitedstatespropertiesof organicmolecules: from density functional theory to the GW and Bethe–Salpeter Green’s function formalisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical physical and engineering sciences*. **372**. ISSN 1471-2962. DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2013.0271>.
- FUJIWARA, H, 2007. *Spectroscopic Ellipsometry: Principles and Applications*. 1. vydání. London: Wiley, John Wiley. ISBN ISBN 978-0-470-01608-4.
- GOLD, Michael H., 2011. Photodynamic Therapy in Dermatology. In: 1. vydání. New York: Springer-Verlag New York, s. 181–183. ISBN 978-1-4419-1298-5.
- GUI LI Zhou Jiahong, Zhou Lin, 2018. A smart copper-phthalocyanine framework nanoparticle for enhancing photodynamic therapy in hypoxic conditions by weakening cells through ATP depletion. *J. Mater. Chem. B*. **6**, 2078–2088. DOI: 10.1039/C8TB00334C.

- HASHIMOTO TOMOHIRO, Yoong-Kee CHOE a Haruyuki NAKANO, 1999. Theoretical Study of the Q and B Bands of Free-Base, Magnesium, and Zinc Porphyrins, and Their Derivatives. *The Journal of Physical Chemistry A*. **131**, 1894–1904.
- HE SHUQING Song Jun, Qu Junle et al., 2018. Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores: design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics. *Chem. Soc. Rev.* **47**, 4258–4278. DOI: 10.1039/C8CS00234G.
- HEUER, Jana – Ilpo NISKANEN – Susanne KLEIN a Kai PEIPONEN, 2011. Optical Properties of Suspensions of Organic and Inorganic Red Pigments. *Applied spectroscopy*. 10/2011, **65**, 1181–1186. DOI: 10.1366/11-06246.
- HOU Y Yang X, Liu R et al., 2020. Pathological Mechanism of Photodynamic Therapy and Photothermal Therapy Based on Nanoparticles. *International Journal of Nanomedicine*. **15**(5), 6827–6838. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S269321>.
- HUSÁROVÁ, Kristína, 2020. *Optické konštanty ftalocyanínu v úlohe fotodynamickéj terapie* [[online]]. Pardubice. Dostupné také z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/76591>.
- CHAKRABORTY, J.N. (editor), 2014. Dyeing with phthalocyanine dye. In: *Fundamentals and Practices in Colouration of Textiles*. Woodhead Publishing India, s. 169–176. ISBN 978-93-80308-46-3. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-93-80308-46-3.50014-5>.
- CHEN HUIZHI Zhou Zhan, Wu Zhikang et al., 2022. Metallic phase enabling MoS₂ nanosheets as an efficient sonosensitizer for photothermal-enhanced sonodynamic antibacterial therapy. *Journal of Nanobiotechnology*. **20**. DOI: 10.1186/s12951-022-01344-6.
- CHITRA RAJANI Vruti Patel, Pooja Borisa et al., 2020. Chapter 9 - Photothermal therapy as emerging combinatorial therapeutic approach. In: *The Future of Pharmaceutical Product Development and Research*. Academic Press, s. 297–339. Advances in Pharmaceutical Product Development and Research. ISBN 978-0-12-814455-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814455-8.00009-8>.
- ISAGO, Hiroaki, 2015. *Optical Spectra of Phthalocyanines and Related Compounds*. 1. vydání. Tokyo: Springer Science. ISBN 978-4-431-55102-7. DOI: 10.1007/978-4-431-55102-7.

- JIANG Z Shao J, Yang T, 2014. pharmaceutical development, composition and quantitative analysis of phthalocyanine as the photosensitizer for cancer photodynamic therapy. *J Pharm Biomed Anal.* **87**, 98–104. DOI: 10.1016/j.jpba.2013.05.014.
- JIE WANG Zhifeng Li, Yamin Yin et al, 2020. Mesoporous silica nanoparticles combined with MoS₂ and FITC for fluorescence imaging and photothermal therapy of cancer cells. *Journal of Materials Science.* **55**, 15263–15274. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10853-020-04950-7>.
- KADER Mahmoud H. Abdel, ed., 2014. Photodynamic Therapy: From Theory to Application. In: 1. vydání. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. ISBN 978-3-642-39629-8.
- KOLOKITHAS-NTOUKAS, Argiris a et al. BAKANDRITSOS, 2021. Condensed Clustered Iron Oxides for Ultrahigh Photothermal Conversion and In Vivo Multimodal Imaging. *ACS Applied Materials and Interfaces.* **13**(25), 29247–29256. DOI: 10.1021/acsmi.1c00908. PMID: 33942606.
- KRBAL MILOS Prokop Vit, Alexey A. et al, 2021. Amorphous-to-Crystal Transition in Quasi-Two-Dimensional MoS₂: Implications for 2D Electronic Devices. *ACS Applied Nano Materials.* **4**(9), 8834–8844. DOI: 10.1021/acsanm.1c01504.
- LAU, Janet T. F., 2013. Towards Dual and Targeted Cancer Therapy with Novel Phthalocyanine-based Photosensitizers. In: 1. vydání. Switzerland: Springer Science, s. 1–17. ISBN 978-3-319-00707-6. DOI: 10.1007/978-3-319-00708-3.
- LAURA A. SORDILLO Yang Pu, Sebastião Pratavieira et al., 2014. Deep optical imaging of tissue using the second and third near-infrared spectral windows. *Journal of Biomedical Optics.* **19**(5), 1–6. DOI: 10.1117/1.JBO.19.5.056004.
- LEVINE, Rachel a Eric KRENNING, 2017. Clinical History of the Theranostic Radionuclide Approach to Neuroendocrine Tumors and Other Types of Cancer: Historical Review Based on an Interview of Eric P. Krenning by Rachel Levine. *Journal of Nuclear Medicine.* 09/2017, **58**, 3S–9S. DOI: 10.2967/jnumed.116.186502.
- LI XINGSHU Peng Xiao-Hui, Zheng Bing-De et al, 2018. New application of phthalocyanine molecules: from photodynamic therapy to photothermal therapy by means of structural regulation rather than formation of aggregates. *Chem. Sci.* **9**, 2098–2104. DOI: 10.1039/C7SC05115H.

- LOTFY TAHA, Mohamed, 2013. Photodynamic Therapy: New research. In: 1. vydání. New York: Nova Science Publishers, s. 5–13. ISBN 978-1-62417-660-9.
- MALI, Sawanta – Dhanaji DALAVI – Popatrao BHOSALE – C.A. BETTY – Anil CHAUHAN a P. PATIL, 2012. Electro-optical properties of copper phthalocyanines (CuPc) vacuum deposited thin films. *RSC Adv.* 02/2012, **2**, 2100–2104. DOI: 10.1039/C2RA00670G.
- MARZIEH SALIMI Mohammad Ali Shokrgozar, Delavari H. Hamid, 2022. Photothermal properties of two-dimensional molybdenum disulfide (MoS₂) with nanoflower and nanosheet morphology. *Materials Research Bulletin.* **152**, 111837. ISSN 0025-5408. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2022.111837>.
- MENG CHAO Chen Xiaodong, Gao Yuanfeng et al., 2020. Recent Modification Strategies of MoS₂ for Enhanced Electrocatalytic Hydrogen Evolution. *Molecules.* 03/2020, **25**, 1136. DOI: 10.3390/molecules25051136.
- MICHAEL P. LUCIANO Saghar Nourian, Alexander P. Gorka et al., 2020. Chapter Eleven - A near-infrared light-mediated cleavable linker strategy using the heptamethine cyanine chromophore. In: CHENOWETH, David M. (editor). *Chemical Tools for Imaging, Manipulating, and Tracking Biological Systems: Diverse Chemical, Optical and Bio-orthogonal Methods.* Academic Press. Svazek 641, s. 245–275. Methods in Enzymology. ISSN 0076-6879. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2020.04.043>.
- MISTRÍK, J., 2019. Optical Characterization of Materials by Spectroscopic Ellipsometry. In: *Optical Properties of Materials and Their Applications.* John Wiley a Sons, Ltd, kapitola 15, s. 435–464. ISBN 9781119506003. DOI: [doi:10.1002/9781119506003.ch15](https://doi.org/10.1002/9781119506003.ch15).
- MOHAMMAD KOWSER MIAH Imam Hussain Shaik, Firuz Gamal Feturi et al., 2019. Chapter 29 - Clinical Pharmacokinetics. In: *Clinical Pharmacy Education, Practice and Research.* Elsevier, s. 409–424. ISSN 978-0-12-814276-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814276-9.00029-5>.
- MUSFELDT, J. – David TANNER a A. PAINE, 1993. Method for the determination of the optical properties of highly conjugated pigments. *JOSA A.* 12/1993, **10**, 2648–2657. DOI: 10.1364/JOSAA.10.002648.

- PALUMMO, Maurizia – Conor HOGAN – Francesco SOTTILE – Paolo BAGALÁ a Angel RUBIO, 2009. Ab initio electronic and optical spectra of free-base porphyrins: The role of electronic correlation. *The Journal of chemical physics*. **131**, 1–7. DOI: 10.1063/1.3204938.
- SHI JINPING Juan LI, Yan WANG et al., 2020. Recent advances in MoS₂-based photothermal therapy for cancer and infectious disease treatment. *Journal of Materials Chemistry B*. **8**(27). ISSN 2050-750X. DOI: 10.1039/D0TB01018A.
- STAIKU ANGELA, Pascu Alexandru et al., 2013. Studies about phthalocyanine photosensitizers to be used in photodynamic therapy. *Romanian Reports in Physics*. 06/2013, **65**, 1032–1051.
- WANG, Huihui – Takamitsu FUKUDA – Naoto ISHIKAWA a Yutaka MATSUO, 2014. Solvent-dependent morphology of thermally converted copper phthalocyanine for solution-processed small molecule organic photovoltaic devices. *Organic Electronics*. **15**(1), 139–143. ISSN 1566-1199. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.orgel.2013.10.023>.
- WEI, Guoqing – Guang YANG – Yi WANG – Hezhong JIANG – Yiyong FU – Guang YUE a Rong JU, 2020. Phototherapy-based combination strategies for bacterial infection treatment. *Theranostics*. 10/2020, **10**, 12241–12262. DOI: 10.7150/thno.52729.
- XIAO JUNYUAN Liang CHENG, Tonglei FANG et al., 2019. Nanoparticle-Embedded Electrospun Fiber-Covered Stent to Assist Intraluminal Photodynamic Treatment of Esophageal Cancer. *Small*. **15**(49). ISSN 1613-6810. DOI: 10.1002/smll.201904979.
- YOUGBARÉ Sibidou, Mutalik et al., 2021. Gold Nanorod-Decorated Metallic MoS₂ Nanosheets for Synergistic Photothermal and Photodynamic Antibacterial Therapy. *Nanomaterials*. **11**(11). ISSN 2079-4991. DOI: 10.3390/nano11113064.
- ZHOU ZHAN Bowen LI, Chuang SHEN et al., 2020. Metallic 1T Phase Enabling MoS₂ Nanodots as an Efficient Agent for Photoacoustic Imaging Guided Photothermal Therapy in the Near-Infrared-II Window. *Small*. **16**(43). ISSN 1613-6810. DOI: [doi:10.1002/smll.202004173](https://doi.org/10.1002/smll.202004173).

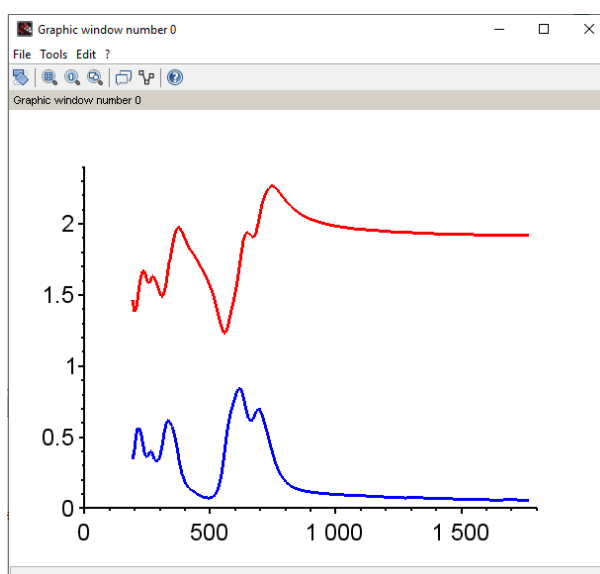
ZOZNAM PRÍLOH

| | |
|-------------------------------|----|
| A Program v Scilabe | 64 |
|-------------------------------|----|

Príloha A: Program v Scilabe

Nasledujúci kód v programovom prostredí Scilab načítava experimentálne dáta elipsometrických parametrov Ψ a Δ . Prevádza ich hodnoty zo stupňov na radiány. Následne z nich adekvátnym matematickým vzťahom vypočítava spektra optických konštánt: indexu lomu a extinkčného koeficientu. Následne posledným príkazom tieto získané spektrá vynášame do grafu, ktorý prikladáme v obrázku A.1.

```
data=read('6mpa_1.txt',-1,4);
lam=1238.9./data(:,1);
psi=data(:,3);
psi_rad=psi/180*%pi;
delta=data(:,4);
delta_rad=delta/180*%pi;
rho=tan(psi_rad).*exp(%i*delta_rad);
rr=((1-rho)./(1+rho)).^2.0;
N=sqrt(3/4*(1+3*rr));
plot2d(lam,[real(N),-imag(N)]);
//plot2d(lam,real(N));
//plot2d(lam,-imag(N));
```



Obrázok A.1: Spektrá optických konštánt ftalocyanínu spočítaných pomocou programového prostredia Scilab. Použité elipsometrické parametre- uhol dopadu 70°