

光捕集アンテナを基盤とする光エネルギー変換と人工光合成への応用展開

Light energy transformation and application for artificial photosynthesis using a light-harvesting antenna

研究代表者 大阪大学大学院工学研究科 助教 重光孟

Hajime Shigemitsu

Light is most abundant and ubiquitous resource on the earth and the utilization is one of the most important objectives in chemical fields. Toward establishment of molecular systems with efficient solar utilization, we prepared a light-harvesting antenna composed of cyclodextrin (CyD) and various chromophores and evaluated their photophysical properties. In this study, we established the synthetic method of CyD-based light-harvesting antennas and revealed their unique photophysical property. Furthermore, the encapsulated chromophore into CyD cavity enhanced the photostability owing to protection from reactive chemical species. The discovered property encouraged us to apply the antenna as a fluorescent probe.

要旨

石油や天然ガスなどの有限のエネルギーに依存している人類にとって、太陽光などの新たなエネルギー源の開拓と利用は必須の課題である。そのため、太陽光を電気や化学エネルギーへと変換する『人工光合成』が活発に研究されている。しかしながら、その実用化に向けて、光の捕集能やエネルギー変換効率の向上が大きな課題となっている。本研究では、高効率に光を捕集し、そのエネルギーを一点に集約できる『人工光捕集アンテナ』を創出し、光エネルギーの革新的な利用技術を開拓する。本研究では、シクロデキストリン(CyD)を基盤とした光捕集アンテナの合成方法の確立に成功し、光物性を評価した。合成した光捕集アンテナは、優れた吸光特性を示し、円偏光発光特性を有していることが明らかとなった。また、クマリン色素であるパシフィックブルー(PB)を修飾した CyD 誘導体は優れた耐光性を有しており、それらは細胞内でも良好な光耐性を示すことも明らかとなった。

かとなった。

1. 緒言

石油の枯渇や二酸化炭素濃度上昇による地球温暖化が懸念され、化石燃料に変わるエネルギー資源の開拓が急務となっている。⁽¹⁾ 太陽光エネルギーは、クリーンかつ莫大なエネルギー量を秘めているため、次世代エネルギーの有力な候補であり、人工光合成に関する研究が活発に行われている。しかしながら、地上に降り注ぐ太陽光は弱く、人工光合成を実用化するためには光捕集能の向上や効率的なエネルギー変換が必要である。⁽²⁾ 天然の光合成では、この課題を『有機色素(クロロフィル・カロテノイド)が環状に配列した光捕集アンテナ』によって克服している(図1A)。⁽³⁾ このアンテナ構造は、『有効光吸収断面積の拡張』および『反応中心への100%近い効率でのエネルギー輸送』を実現し、光捕集やエネルギーの利用効率の向上に極めて重要な役割を果たして

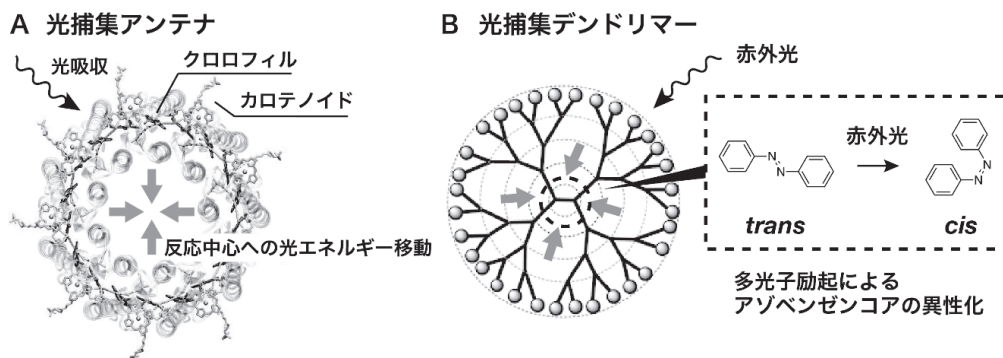


図1. (A) 天然の光捕集アンテナおよび (B) 光捕集デンドリマー

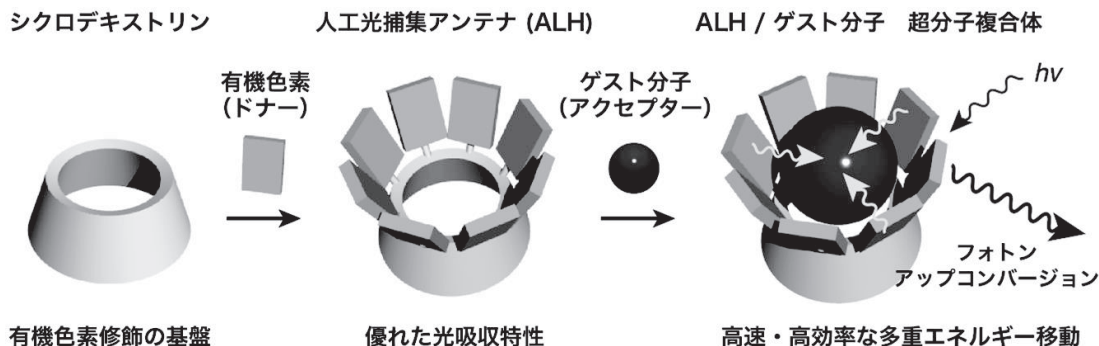


図2. 本研究の概要：人工光捕集アンテナの創製と光子・アップコンバージョン

いる。

この優れた光合成システムに触発され、 dendrimer などによる人工光捕集アンテナの研究が活発に行われてきた。⁽⁴⁾ これまでに dendrimer の光アンテナ効果によって、赤外光による多光子励起が生じ、アズベンゼンの異性化が誘起される、という驚くべき研究結果が報告されている (図 1B)。⁽⁵⁾ この結果は、アンテナ構造は吸収した光エネルギーを一ヶ所に集めるだけでなく、多段階励起などの非線形光学現象を発生させることを示しており、低エネルギー光の有効利用に大きな可能性を秘めていることを示唆している。しかしながら、人工光捕集アンテナの非線形光学効果についての研究は大きく進展しておらず、人工光合成への応用は未開拓である。

本研究では、シクロデキストリン (CD) と有機色素分子からなる『人工光捕集アンテナ (ALH: Artificial Light Harvesting Antenna)』を構築し、ALH とゲスト分子の超分子複合体を用いて、多重共鳴エネルギー移動による光子・アップコンバージョン現象を発生させることを目的とする (図 2、3)。光子・アップコンバージョンは、複数の色素間のエネルギー移動によって発生する『低エネルギーの光をより高いエネルギーの光に変換する』非線形光学現象である。⁽⁶⁾ これによって、長波長領域の光を有効利用が可能となるため、人工光合成の実用化への大きな足がかりになると期待され、それを実現する分子や方法論が求められている。

本研究で用いる ALH は有機色素に囲まれたナノ空間を有し、様々な有機色素分子と超分子複合体を構築できる (図 2 右)。その空間内でゲスト分子は、『多数の有機色素と近接した多重共鳴エネルギー移動に

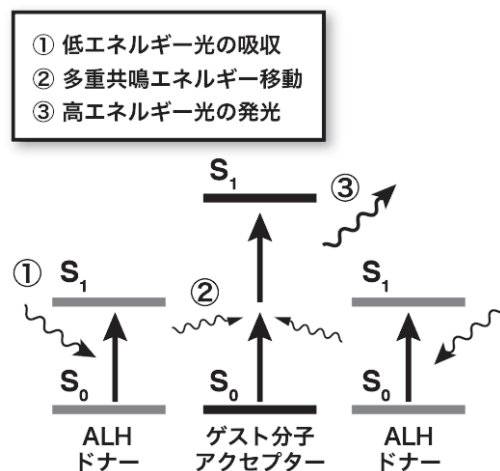


図3. 多重共鳴エネルギー移動による光子・アップコンバージョン

理想的な環境』にあるため、複数のエネルギー移動が高速かつ高効率で起こり、多段階励起による光子・アップコンバージョンの発生が期待される (図 3)。本系の重要な特徴として、独立した超分子での光子・アップコンバージョンが可能となる点が挙げられる。光子・アップコンバージョンは、複数の色素間でのエネルギー移動が関与するため、多数の分子からなる超分子集合体を利用した研究例が報告されている。一方、ALH は分子内に複数の色素を有しているため、孤立した単一の超分子での光子・アップコンバージョンが可能となる。その結果、有機薄膜太陽電池や酸化チタン (TiO₂) への修飾が容易となり、人工光合成の効率化に大きく寄与すると期待される。

光捕集機能を有する人工的なアンテナ分子として、 dendrimer や環状パイ共役系分子などが研究されているが、その多くがエネルギー捕集メカニズムの

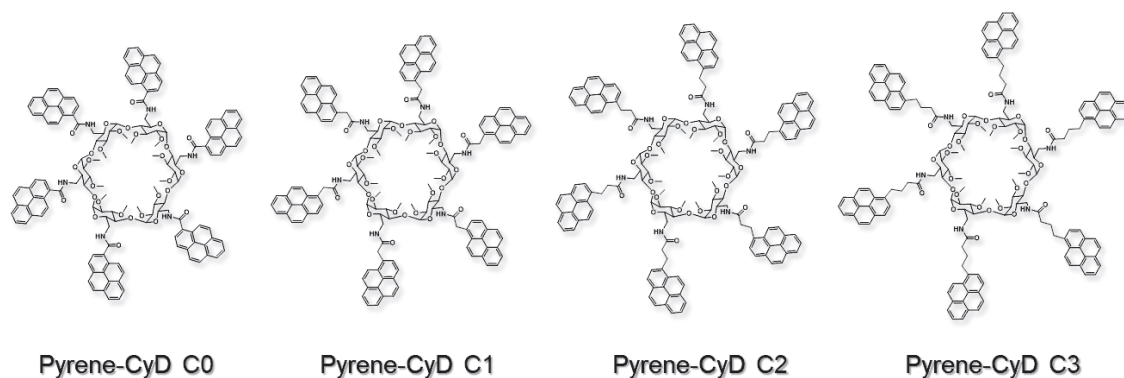


図4. 様々なリンカー長を有するピレン修飾シクロデキストリン誘導体

検討に留まっており、本申請研究のように非線形光学現象を達成した例はほとんどない。本研究は、独自の人工光捕集アンテナによって光子・アップコンバージョンを発生させ、人工光合成の効率化に挑戦する独創的な研究である。

2. 本文

2. 1 人工光捕集アンテナの設計と合成

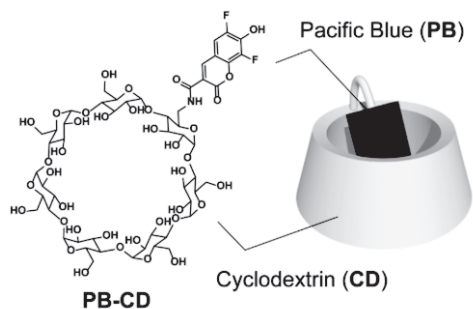
本研究では、種々の ALH を設計・合成して、光・電子物性の評価を行った。CyD は紫外・可視領域の光吸収がなく透明であるため、環状分子の中でも人工光捕集アンテナの基盤として非常に魅力的であり、安価で様々なサイズの CD が大量に入手可能である。さらに、CD は反応性の異なる修飾可能部位を複数有しているために、分子間距離や配向の異なる多様な ALH の合成も可能である。また、CD の分子包接能は十分に研究されており、ゲスト分子の取り込みも確実に見込める。上記の理由によって、CD を基盤とした ALH という、本研究の着想に至った。カリックスアレーンやピラーアレーンなど、数々の環状分子の研究が活発に行われているが、それらを光アンテナの基盤として使い、非線形光学現象の発現を目指した研究はほとんど報告されていない。Valeur らは、CD を基盤としてナフタレン型の人工光捕集アンテナを創出し、ゲスト分子への光エネルギー移動の効率がほぼ 100%であることを明らかにしているが、⁽⁷⁾ それらを利用した光子・アップコンバージョンの発生や人工光合成への応用は全く検討されてい

ない。2001 年以降、彼らの研究グループからの報告はなく、研究は進展していない。

初めに、多環式芳香族化合物（ナフタレン・アントラセン・ピレンなど）やキサントン色素（ローダミン・フルオレセインなど）などを基盤とする ALH を合成した（図4）。6位のヒドロキシ基をアミノ基に変換したアミノシクロデキストリンと色素分子のカルボン酸誘導体を縮合反応することで目的とする ALH を合成することに成功した。立体障害の大きな有機色素は修飾が不可能であるなどの欠点も明らかになったが、市販のシクロデキストリンから1段階で所望の光捕集アンテナを合成する合成手法を確立した。多環式芳香族化合物であるピレンやペリレンに加えて、イオン性色素であるパシフィックブルーを修飾した ALH の合成に成功した。⁽⁸⁾ また、環サイズやリンカー長の異なる CyD を基盤とした ALH も合成してライブラリーを拡充することができた。

2. 2 人工光捕集アンテナの光物性

合成した ALH の光吸収特性、蛍光量子収率・寿命および励起子の非局在化などの光・電子物性について各種分光装置を用いて詳細に評価した。また、PB 修飾シクロデキストリン (PB-CyD) は、PB が CyD 内部に包接されることで活性酸素の発生や高反応性の化学種から保護されるため、耐久性の高い色素となることも見出した（図5）。研究の目的は異なるが、本研究結果についても報告する。



Self-inclusion of an organic dye into a cyclodextrin
 ✓ Protection from reactive chemical species
 ✓ Suppression of ROS generation

Enhancement of photostability both in vitro and cell

図5. パシフィックブルー(PB)を修飾したシクロデキストリン (PB-CyD)

合成したピレン修飾シクロデキストリン (Py-CyD) の光物性 (紫外可視吸収 (UV-vis)、蛍光 (PL)、円二色性 (CD)、円偏光発光 (CPL) スペクトル、蛍光量子収率、蛍光寿命) を評価した結果、非常に良好な光吸収および CPL 特性 (quantum yield: 0.30, g_{lum} : 1.2×10^{-2}) を示すことが明らかとなった。今回、観測された CPL は2つのピレンが形成するエキシマー由来であることが明らかとなった。CPL 特性を示すエキシマー種を明らかにするために励起スペクトルを測定した結果、吸収スペクトルとほとんど一致し、静的エキシマーと呼ばれる基底状態でのダイマー構造が重要であることが明らかとなった。基底状態でのダイマー構造を調べるために X 線構造解析を行った結果、シクロデキストリン環状の2つのピレンのみがダイマーを組むコンフォメーションを有していることが明らかとなった。CPL の向きは、エキシマー-CPL 則と合致しており、⁽⁹⁾ 溶液中においても類似のコンフォメーションを形成していることが示唆された。

空間的に制限されたエキシマーが高い異方性における重要な因子であることを確認するために、リンカー長を伸張した Py-CyD C1-C3 も合成した (図4)。それぞれの分子の光物性を評価した結果、リンカー長が増加するにつれて、CPL 異方性が低下し、発光団の固定化が非常に重要であることが明らかとなった (図6)。また興味深いことに、リンカー長が奇数か偶数であるかによって CPL の向きが反転する『偶奇効果』を発見した。これは、リンカー長の偶奇に

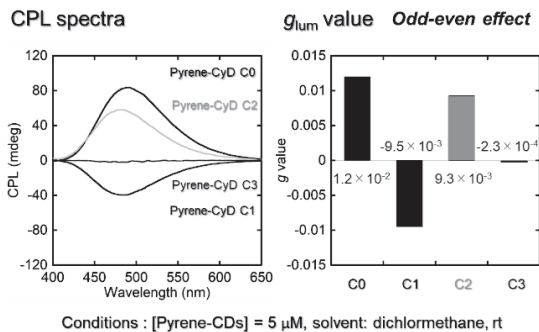


図6. Py-CyD の円偏光発光スペクトルと異方性因子

よってピレンの重なり方が変化したためである。以上の結果から、ピレン誘導体 ALH の優れたキロプティカル特性が明らかとなった。

2.3 シクロデキストリン保護によるクマリン色素の耐光性向上

クマリンは優れた発光特性を有し、バイオイメージングやセンシングに欠かせない分子群である。⁽¹⁰⁾ しかしながら、有機蛍光色素は光照射によって生じる一重項酸素、スーパーオキシド、過酸化水素、ヒドロキシラジカルなどの活性酸素種 (ROS: Reactive Oxygen Species) によって酸化されやすく、褪色するために長時間のイメージングや超解像イメージングへの応用が困難であることが課題となっている。

有機蛍光色素は一般に、基底状態にある色素が一重項励起状態に遷移し、景観交差によって三重項励起状態へと遷移する。この状態は、高い反応性とミリ秒オーダーの長い寿命を有するために近傍の化学種と反応する。特に、酸素分子と反応した場合には ROS が発生し、色素分子の褪色を引き起こす。光安定性の高い有機蛍光色素を開発するためには ROS 発生および反応の抑制が必要である。

有機蛍光色素の光褪色を抑制するための戦略がいくつか報告されている。1つ目は、色素分子骨格への電子求引基の導入による LUMO 準位の低下である。

⁽¹¹⁾ 例えば、トリフルオロメチル基やシアノ基などの電子求引基を分子内に導入することで ROS との反応性が低下し、光安定性が十数倍向上することが報告されている。⁽¹²⁾ 2つ目は、三重項励起状態をクエンチする置換基の導入である。シクロオクタテトラエン (COT) などのクエンチャーをシアニン色素に導入して ROS 生成を抑制することで 100 倍もの光安

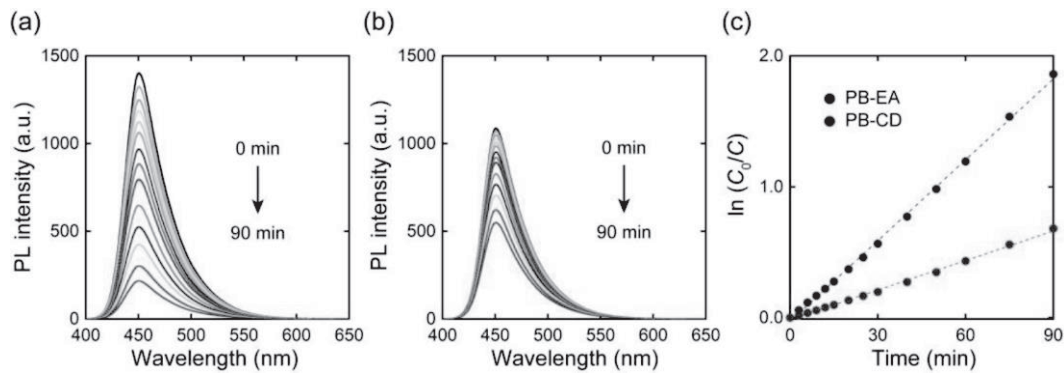


図7. (a) PB-EA および (b) PB-CD の光照射後の蛍光スペクトルと (c) 時間依存性

定性を得ることに成功した例が報告されている。⁽¹³⁾ しかしながら、これらの分子は煩雑な合成や光物性の顕著な変化が懸念される。3つ目は立体保護による分子間衝突の抑制である。例えばククルビットウリルの内部空孔にローダミンを包接させることで光安定性が30倍向上することが報告されている。⁽¹⁴⁾ 一方で、この超分子は非共有結合によって形成しているために様々な分子が混在する細胞内での利用は困難であることが予想され、実際に細胞内でのイメージング実験は報告されていない。保護の安定性を高めるためには、環状分子と色素を直接結合する必要がある。CyDとシアニン色素を結合した例が報告されているが、CyDの深さが8Åであるのに対してシアニン色素が17Åと大きく、完全に保護されていないため、光安定性の向上は8倍に留まっている。⁽¹⁵⁾ さらに、共焦点レーザー顕微鏡によるバイオイメージングは報告されていない。このような背景のもと、今回合成したクマリン/CyD複合体が優れた光耐性を有するバイオイメージングプローブになると期待して、光耐性を詳細に評価した。

まず、はじめに合成した複合体のクマリンがCyD内部に取り込まれているか、を評価するために2D-NMR測定を行った。その結果クマリンとCyD間に強い相関が観測され、PBがCD内部に包接されていることが示唆された。次に、基礎的な光物性に関する情報を得るために吸収および蛍光スペクトル測定を行った。この比較化合物にはパシフィックブルーエチルアミン(PB-EA)を用いた。これらのPB-EAおよびPB-CDはそれぞれ401 nm, 407 nmにピークを有していた。CyD内部の疎水的な環境が光物性に大きな影響を及ぼすことが知られており、PB-CDのレッ

ドシフトは内部に取り込まれた結果を反映しているものと考えられる。さらに蛍光量子収率はPB-EAが0.98であったのに対して、PB-CDは0.91であり良好な量子収率を保っていた。

次に、光耐性を評価した390 nmの光を照射した後、蛍光強度を測定することで光耐性を評価した。90分間光を照射すると、PB-EAに対してPB-CDは明らかに褪色が抑制されていた(図7)。この分解速度を算出すると 2.0×10^{-2} および $7.3 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ であった。PB-CDは2.8倍耐性が向上していることが明らかとなった。この光物性向上の詳細を明らかにするために、様々なROSを混合して評価を行った。一重項酸素を発生させるためにローズベンガルをもちいた。ローズベンガルは、光照射によって一重項酸素を良好な収率で発生させることを知られている。

⁽¹⁶⁾ローズベンガルとPB-CDを混合して、ローズベンガルのみを光を照射した結果、PB-EAとPB-CDの両方で光褪色が観測された。それらを速度論解析した結果、PB-EAとPB-CDの分解速度はそれぞれ 7.0×10^{-2} および $3.0 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ であり2.3倍ほど耐性が向上していることが明らかとなった。また、過酸

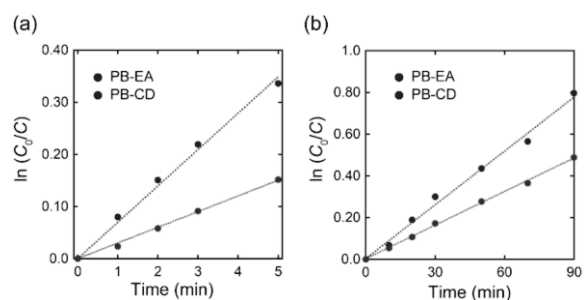


図8. PB-EA およびPB-CDの(a) H_2O_2 および(b) 一重項酸素との反応速度

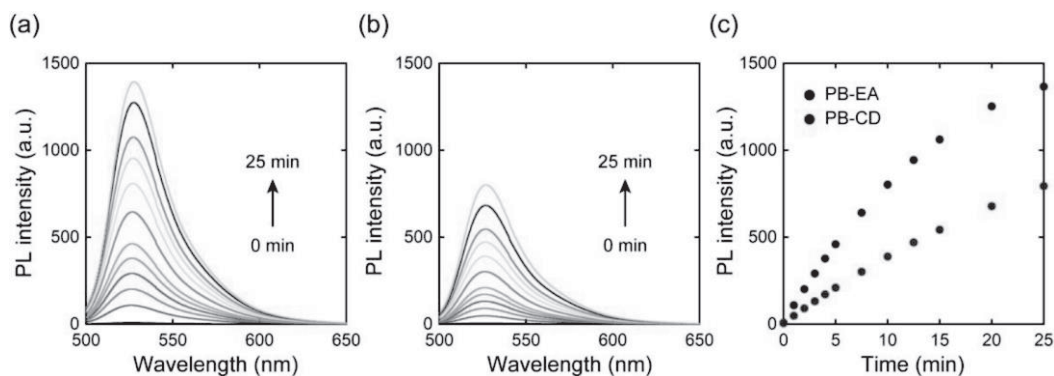


図9. (a) PB-EA および (b) PB-CD の活性酸素発生評価と (c) 時間依存性

化水素を添加した場合には、 8.7×10^{-3} , $5.4 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ と 1.6 倍向上していた (図8)。

前述したように、有機色素は励起状態を介して ROS を発生させることが知られている。PB-CD においては、酸素との衝突が抑制されるために ROS の発生も抑制できることが期待される。これを評価するために ROS と反応することで蛍光を発する DHR 123 をもちいた。各プローブを混合した後に、光照射を行った後の蛍光強度をプロットした結果、PB-EA が 4.0×10^{-1} , $1.8 \times 10^{-1} \mu\text{mol}/\text{min}$ であった (図9)。この結果は、CyD の被覆によって 2.2 倍ほど ROS の発生が抑制できたことを示している。CD の被覆は、ROS からの保護だけではなく、ROS の発生も抑制できることが明らかとなった。

2.4 PB-CyD の細胞内における光耐性評価

試験管内での光耐性の向上が確認できたので、次に細胞内部での光耐性を評価することとした。ヒト線維芽細胞 normal human dermal fibroblasts (NHDF) に、PB-EA および PB-CD を加えた結果、ともにエンドソームに集積することが明らかとなった。しかしながら、PB-EA は細胞内には入ることが出来なかった。そこで、ここでは比較化合物として PB-NHS をもちいた。PB-NHS は活性が高く、生体分子と反応して細胞内部に取り込まれることが期待される。実際に、細胞に添加した結果、細胞内に取り込まれてエンドソームに局在することが明らかとなった。共焦点レーザー顕微鏡のスキャン毎に蛍光強度をプロットした結果を図10に示す。

PB-NHS は 10 scan 後に蛍光強度が大きく低下した一方で、PB-CD は十分な蛍光強度を保っていた。

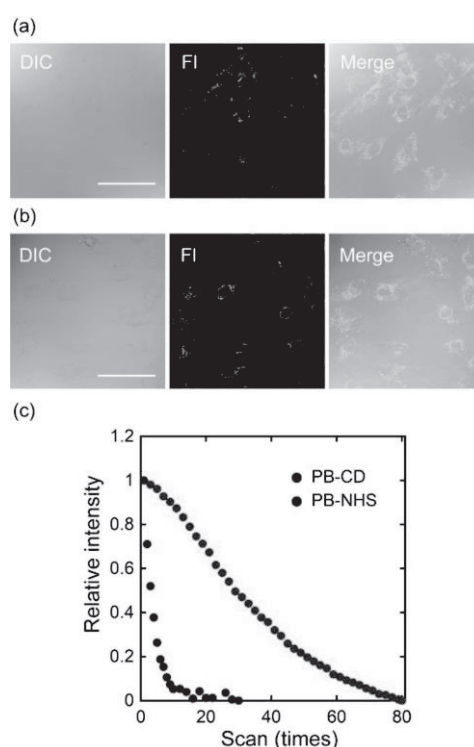


図10. (a) PB-EA および (b) PB-CD の光照射後の蛍光スペクトルと (c) 時間依存性

PB-NHS は生体分子と反応しているために、厳密には PB-CD と同じ状態であるとは言えないが、生体内での光耐性の向上は、CyD に被覆によるものと考えられる。

3. まとめ

本研究では、光エネルギーの有効利用を目指して CyD 型の光捕集アンテナの創製に取り組み、様々な光捕集アンテナの創出に成功した。合成した人工光捕集アンテナの光物性について詳細な評価を行った

ところ、優れた光吸収特性を有していることが明らかとなった。特に、ある種の光捕集アンテナはエキシマー発光や優れた円偏光発光特性を示すことを明らかにした。さらに、クマリン/CyD 複合体が優れた光耐性を有することを示し、細胞内での挙動も評価することに成功した。

さらに、クマリン誘導体である PB を修飾した CyD は PB 部位が CyD によって保護され、耐久性が向上することが分かった。それらは試験管内だけではなく、細胞内においても可能であることが明らかとなった。一方で、目的とするエネルギーアクセプター分子の包接には至っていない。これらの課題を解決していくことが今後の課題である。

4. 発表論文

- [1] C. Kogame-Asahara, H. Iguchi, K. Honda, H. Shigemitsu and T. Kida. Terminal trialkylsilyl substituent effect of janus-type molecular tubes on inclusion of unsaturated fatty acid esters. *ACS Omega*. 6, **2021**, 3227-3231.
- [2] H. Shigemitsu, Y. Tani, T. Tamemoto, T. Mori, X. Li, Y. Osakada, M. Fujitsuka and T. Kida, Aggregation-induced photocatalytic activity and efficient photocatalytic hydrogen evolution of amphiphilic rhodamines in water, *Chem. Sci.* 11, **2020**, 11843-11848.
- [3] H. Shigemitsu, K. Matsuda, T. Mori, H. Nakatsuji, M. Matsusaki and T. Kida, Enhancing photostability of a coumarin dye by self-inclusion into a cyclodextrin cavity in aqueous solution and living cells, *Asian J. Org. Chem.* 9, **2020**, 2112-2115.
- [4] J. M. Kalaw, R. Yamamoto, C. Kogame-Asahara, H. Shigemitsu and T. Kida. Control of guest inclusion and chiral recognition ability of 6-O-modified β -cyclodextrins in organic solvents by aromatic substituents at the 2-O position. *ChemPlusChem*, 85, **2020**, 1928-1933.
- [5] T. Kida, A. Teragaki, J. M. Kalaw and H. Shigemitsu. Supramolecular organogel formation through three-dimensional α -cyclodextrin nanostructures: solvent chirality-selective organogel formation. *Chem. Commun.* 56, **2020**, 7581-7584.
- [6] C. Kogame-Asahara, S. Ito, H. Iguchi, A. Kazama, H. Shigemitsu and T. Kida. *Chem. Commun.* 56, **2020**, 1353-1356.
- [7] H. Shigemitsu, R. Kubota, K. Nakamura, T. Matsuzaki, S. Minami, T. Aoyama, K. Urayama and I. Hamachi. Protein-responsive protein release of supramolecular/polymer hydrogel composite integrating enzyme activation systems. *Nat. Commun.* 11, **2020**, 3859.
- [8] H. Ishikawa, T. Chung, G. Fukuhara, H. Shigemitsu, T. Kida, T. Bach, T. Mori. Diastereoselective photocycloaddition reaction of vinyl ether tethered to 1,4-naphthoquinone. *ChemPhotoChem*. 3, **2019**, 243-250.

5. 参考文献

- (1) J. Gong, C. Li and M. R. Wasielewski, Advances in solar energy conversion, *Chem. Soc. Rev.* 48, **2019**, 1862-1864.
- (2) B. Zhang and L. Sun, Artificial photosynthesis: opportunities and challenges of molecular catalysts, *Chem. Soc. Rev.* 48, **2019**, 2216-2264.
- (3) J. Otsuki, Supramolecular approach towards light-harvesting materials based on porphyrins and chlorophylls, *J. Mater. Chem. A*, 6, **2018**, 6710-6753.
- (4) A. Adronov and J. M. Fréchet. Light-harvesting dendrimers. *Chem. Commun.* **2000**, 1701-1710.
- (5) D.-L. Jiang and T. Aida, Photoisomerization in dendrimers by harvesting of low-energy photons. *Nature*, 388, **1997**, 454-456.
- (6) P. Bharmoria, H. Bildirir and K. Moth-Poulsen, Triplet-triplet annihilation based near infrared to visible molecular photon upconversion. *Chem. Soc. Rev.* 49, **2020**, 6529-6554.
- (7) L. Jullien, J. Canceill, B. Valeur, E. Bardez, J.-P. Lefèvre, J.-M. Lehn, V. Marchi-Artzner and R. Pansu, Multichromohoric cyclodextrins. 4. Light conversion by antenna effect. *J. Am. Chem. Soc.* 118, **1996**, 5432-5442.
- (8) H. Shigemitsu, K. Matsuda, T. Mori, H. Nakatsuji, M. Matsusaki and T. Kida, Enhancing photostability of a coumarin dye by self-inclusion into a cyclodextrin cavity in aqueous solution and living cells, *Asian J. Org. Chem.* 9, **2020**, 2112-2115.
- (9) K. Takaishi, K. Iwachido, R. Takehana, M. Uchiyama and T. Ema, Evolving fluorophores into circularly polarized luminophores with a chiral naphthalene tetramer:

- Proposal of excimer chirality rule for circularly polarized luminescence, *J. Am. Chem. Soc.* 141, **2019**, 6158-6190.
- (1 0) D. Cao, Z. Liu, P. Verwilt, S. Koo, P. Jangjili, J. S. Kim and W. Lin, Coumarin-based small-molecule fluorescent chemosensors. *Chem. Rev.* 119, **2019**, 10403-10519.
- (1 1) J. Vogelsang, R. Kasper, C. Steinhauer, B. Person, M. Heilemann, M. Sauer and P. Tinnefeld. A Reducing and Oxidizing System Minimizes Photobleaching and Blinking of Fluorescent Dyes. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, **2008**, 5465-5469.
- (1 2) R. B. Altman, D. S. Terry, Q. Zhou, P. Geggier, R. A. Kolster, Y. Zhao, J. A. Javitch, J. D. Warren, S. C. Blanchard. Cyanine fluorophore derivatives with enhanced photostability. *Nat. Method.* 9, **2012**, 68-71.
- (1 3) W. Gong, P. Das, S. Samanta, J. Xiong, W. Pan, Z. Gu, J. Zhang, J. Qu, Z. Yang. Redefining the photo-stability of common fluorophores with triplet state quenchers: mechanistic insights and recent updates. *Chem. Commun.* 55, **2019**, 8695-8704.
- (1 4) B. R. Renikuntla, H. C. Rose, J. Eldo, A. S. Waggoner and B. A. Armitage. Improved photostability and fluorescence properties through polyfluorination of a cyanine dye. *Org. Lett.* 6, **2004**, 909-912.
- (1 5) M. C. DeRosa, R. J. Crutchley, Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coord. Chem. Rev.* 351, **2002**, 233-234.