

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23550153

研究課題名(和文)自己組織化ポルフィリン集合体の構造制御と複合機能化に関する研究

研究課題名(英文) Study of structural control and multi-functionarization of self-organized porphyrin assemblies

研究代表者

佐々木 健 (SASAKI, KEN)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・准教授

研究者番号：20205842

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：シクロデキストリンの非共有結合性相互作用を利用する大規模自己組織化体の人工的な構築法を開発し、この手法を光合成系光集光過程の人工的モデルであるポルフィリン多量体形成に応用した。今回、ポルフィリン平面の上下に4個、計8個のシクロデキストリンを有するホスト分子の合成に成功し、水溶性ポルフィリンと錯形成することでポルフィリン多量体が構築できることを示した。また、光機能分子の数と配置によりエネルギー移動効率が大きく変化し、多量体内での光機能を自由に制御できる可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Upon basic research of large scale self-organized molecular structures by non-covalent weak interactions, new methodology have been developed for multi-porphyrin assemblies using inclusion abilities of cyclodextrin for water soluble porphyrins. Here, Synthesis of a host porphyrin with 4 cyclodextrins of each surfaces, that is, total 8 cyclodextrins, which formed porphyrin assemblies with water soluble zinc porphyrin (ZnTPPS) were reported. Sterical arrangements were affected for energy transfer efficiency from ZTPPS to central host freebase porphyrin. These observations indicated that photo functions in assembly could be freely controlled by the molecular structure.

研究分野：生物有機化学

科研費の分科・細目：複合化学・機能物質化学

キーワード：自己組織化 超分子 光合成 シクロデキストリン ポルフィリン 光機能 分子認識

1. 研究開始当初の背景

近年、光合成細菌の光合成反応中心(PSII)のX線結晶構造解析がなされ、LH1と呼ばれる集光・電荷分離サイトとLH2と呼ばれる光エネルギー集光サイト双方の構造が明らかとなってきた。これによるといずれも18~30程度のバクテリオクロフィルが円環状に配置された直径5~7nmの巨大な構造体であり、LH1ではその中心部にキノンを電子受容体とする電荷分離系が存在する。このような多数の分子が円環状に配置された光合成系の人工的な再現にはシステムの持つ機能を単独で取り扱う主に次の二点からのアプローチがなされてきた。

- (i) 反応中心モデルとして単一または少数のポルフィリンと電子受容体からなる電荷分離システムの構築を目指す研究
- (ii) 光エネルギー集光サイトの再現を目指すものとしてポルフィリン多量体の構築

(i)の研究は1980年代から多数のシステムが報告されているが、近年、精力的な研究により、その詳細な機構が明らかにされるとともに超寿命の電荷分離状態を維持できるようになってきている。また、(ii)のポルフィリン多量体の構築にはLindsayやAidaらによる共有結合による逐次的合成法が報告され、それによる光エネルギー移動機構についての詳細な研究がなされている。しかしながら、現実の光合成系は各バクテリオクロフィルが共有結合でつながった形ではなく、タンパク質との弱い相互作用によって固定されただけのものである。そのため光エネルギー移動においても結合を経由する機構ではなく、空間移動型で進行するはずである。したがって非共有結合相互作用によるポルフィリン分子集合体の構築は天然系のモデル化と光エネルギー移動およびそれに続いて起こる電荷分離過程の解析を行ううえで不可欠なモデルである。

申請者らは、弱い相互作用による特異的分子認識システムの開発を行うとともに、それを利用する分子集合体の構築に関する研究を行ってきた。これらの研究において、積層ポルフィリン二量体が形成する分子空間内の強力な分子認識システムを見出した。この認識系を中核とする自己組織化システムを用いて、多数のポルフィリン分子を自発的に特定の空間位置に配置させる方法論を開発し、光合成細菌型光集光アンテナ系類似のポルフィリン9量体および17量体の構築に成功した。これらポルフィリン多量体は、約2万の分子量をもち、タンパクなどの生体分子に匹敵する分子サイズである。これは非共有結合のみからなる構造規制された人工的な自己組織化機能分子としては最大規模のものである。さらに、これらの集合体における16個の光集光アンテナポルフィリンから中央のフリーベースポルフィリンへのエネルギー

移動について静的および動的解析を行い、光エネルギーの空間移動過程の詳細を明らかにしてきた。このポルフィリン積層二量体が発現する分子認識機能は極めて強力であり、種々の形態のポルフィリン集合体の形成に適用可能であるものの、水素結合と配位結合を併用した認識系であるため、非極性有機溶媒中での利用に限定される。

申請者らは、純粋に空間的な相互作用のみからなる分子集合体の構築を意図し、特に、水中で疎水性相互作用による有機分子に対する強い包摂能を有するシクロデキストリン(CD)に着目した。このCDを複数もつ分子を合成し、これをホストとする多点認識型自己組織化システムを開発し、報告してきた<sup>8)</sup>。さらに、これを拡張してシクロデキストリンを複数有するポルフィリンアトロブ異性体ホスト分子を開発し、この誘導体が水溶性ポルフィリンとの間で立体構造に特異的なポルフィリン自己組織化体を形成することを明らかにしてきた。自己組織化体の構築に水素結合や金属との配位結合を利用する研究が数多くなされているものの、複数の相互作用点での結合の制御が難しく、一般に複数の化合物の統計的混合物となる。それに対してここで見いだされたシクロデキストリンホスト分子と水溶性ポルフィリン(TPPS)との相互作用は、非常に強く、結合定数は $10^8$ を超えるため、低濃度( $10^{-7}$  M)においても複数の分子の統計的分布を持たない定まった構造体として存在する。更に、このシクロデキストリン結合位置を制御することにより、多量体のポルフィリン位置配置の制御を行うことができる。従って、シクロデキストリン結合位置の異なる各種アトロブ異性体を合成することで、ゲストポルフィリン分子の位置と配向の異なる集合体を容易に構築可能である。

2. 研究の目的

本研究では、以上に述べた自己組織化体を基礎にして、各分子要素の自律的な集合および組織化によって空間配置の自由な制御と構造規定された光合成系類似の三種の機能分子からなる光集光・電子移動システムの構築を目指すものである。

具体的な研究目的は以下のとおりである。

- 【1】シクロデキストリンとポルフィリン両方を持つホスト分子を合成し、これと水溶性ポルフィリンとの錯形成過程の詳細な解析を行う。これを基にして環状ポルフィリン集合体を基本骨格とする三次元構造体の自発的形成的ためのシステムの必要要件を明確にする。
- 【2】ポルフィリン環状構造体にポルフィリン以外の第3の機能分子(電子供与体、電子受容体等)を共有結合によって導入

し,マルチポルフィリンシステムと電荷分離サイトの双方を有する光合成系類似の光エネルギー捕捉 - エネルギー移動 - 電荷分離系を構築する。

- 【3】金属ポルフィリンの配位機能を利用して,環状構造体が形成する空間内への自律的取り込みによる機能分子の導入を実現させる。これにより,一連の光エネルギーの化学エネルギーへの変換過程を自律的自己組織化構造体内のみで実現するシステムの構築を目指す。

### 3. 研究の方法

#### CD結合型ポルフィリンの合成

中心ポルフィリン周りのCDの空間配置,距離並び剛直性の異なる新しいホスト分子を合成した。生成物の構造解析には600MHz <sup>1</sup>HNMR (Brucker AV600)およびMALDI-TOF MASS (Brucker AutoMASS)を用いた。

#### 自己組織化体の構造解析

合成した各種ホスト分子とTPPSおよびその金属錯体との自己組織化体形成について,紫外可視吸収スペクトル,蛍光スペクトル両者の濃度変化を測定し,そのスペクトル変化から結合定数を,ホストゲスト分子比率変化から両分子の量比を決定した。測定にはShimadzu Multi-Spec1500分光光度計ならびにHITACHI F-4500蛍光分光光度計を使用し,スペクトル演算及び結合定数のnon-linear curve Fitting解析には連携研究者の開発した自作ソフトウェアを用いた。

#### 光エネルギー移動反応の解析

自己組織化分枝集合体において,TPPSからホストの中心ポルフィリンへの光エネルギー移動過程の機構を明らかにするために,次の測定法とを組み合わせで詳細に検討した。

(i) 蛍光スペクトルによるドナー(励起)分子の蛍光消光とアクセプターの蛍光増大での評価。

(ii) 蛍光寿命の測定により亜鉛ポルフィリンからフリーベースポルフィリンへのエネルギー移動過程を動力学的に解析による評価。

測定にはHAMAMATSU PhotonicsC-4530蛍光寿命測定装置を使用し,励起光源には410nmLピコ秒半導体パルスレーザ-PLP-10を使用した。

### 4. 研究成果

八個のシクロデキストリンをテトラフェニルポルフィリンのメタ位に配置した鑄型分子を合成し,それと水溶性ポルフィリンとで構築される分子集合体の構造を分光学的に調査した。

合成経路の概略は,以下のとおりである。まず,テトラキス(3,5-ジヒドロキシフェニル)ポルフィリンを合成し,これと4-ブロモブタン酸メチルとで側鎖に对する語気汁気を有するポルフィリンを合成した。次いでアミノ化シクロデキストリン誘導体との縮合により*m*-置換型TPP(*m*-CD)<sub>8</sub>を得た。この方法により原料となる中心ポルフィリンの位置異性体を適切に選択することにより容易にCD部位の空間配置を制御することが可能である。

TPP(*m*-CD)<sub>8</sub>についてUV吸収スペクトルの溶媒依存性を調べた。これまで*p*-置換体のTPP(*p*-CD)<sub>4</sub>ではCDが自身のポルフィリンを包接したいわゆる自己包接体を形成する。また,*o*-置換体ではそのような自己包接を示さない。今回合成した*m*-2置換体では*p*-体とは異なる溶媒依存性を示し,立体障害のために自己包接をしないTPP(*o*-CD)<sub>4</sub>と類似した挙動を示した。また,中心ポルフィリンのpKa値を求めたところ,TPP(*m*-CD)<sub>8</sub>においてpKaの値は各異性体によらず2.2と比較的大きな値を示し,自己包接構造をとらないものと矛盾しない値であった。

TPP(*m*-CD)<sub>8</sub>について水溶性ポルフィリンZn(TPPS)添加による吸収スペクトル変化の濃度依存性を検討した。Figure 1に示したようにSoletバンドならびにQバンドにおけるスペクトルの変化はTPPSと単純なシクロデキストリンの包接による変化とよく一致し,このQバンドの吸収スペクトル変化からホストとゲスト間の相互作用に基づくポルフィリン集合体を形成していることを示した。Qバンドにおける吸収スペクトルの変化量はTPP(*m*-CD)<sub>8</sub>:TPPS=1:4で平衡に達し,二段階の平衡により1:4錯形成を仮定したときのnon-linear curve fittingによる平衡定数はK<sub>1</sub>,K<sub>2</sub>とも10<sup>7</sup>以上の値を示した。二つのZn(TPPS)との集合体形成はきわめて大きな結合定数で自発的になされることを示した。蛍光スペクトルのZn(TPPS)濃度変化はFigure 2に示したようにZn(TPPS)添加に伴い中心ポルフィリンの蛍光強度が増大し,Zn(TPPS)からホスト分子内のフリーベースポルフィリンへの強いエネルギー移動が観測された。1:1から1:3錯体形成時のエネルギー移動効率は80%と見積もることが可能であったが,1:4錯体では10%程度エネルギー移動効率が低下し,70%の値を示した。

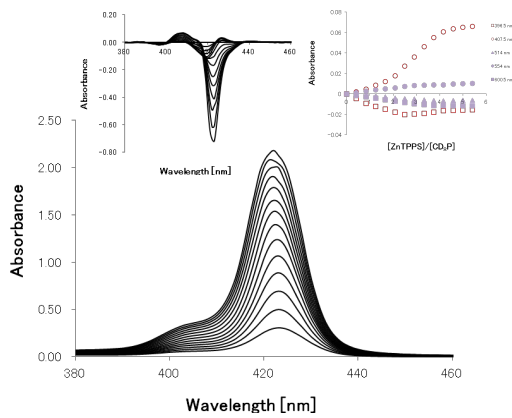


Figure 1. Visible absorption spectral change of TPP(m-CD)<sub>8</sub> upon titration with Zn(TPPS).

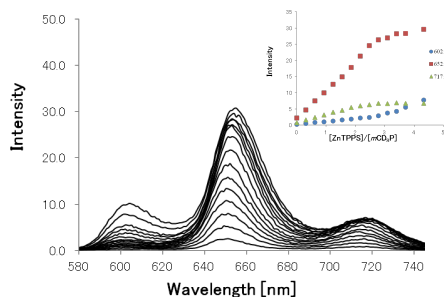


Figure 2. Fluorescence spectral change of TPP(m-CD)<sub>8</sub> upon titration with Zn(TPPS).

1:1 錯体と 1:4 錯体について蛍光寿命測定により動力学的にエネルギー移動効率を求めた。Table 1 に示したように、1:1 錯体では ZnTPPS の蛍光寿命 ( $\tau$ ) は大きく減少し、蛍光寿命から算出したエネルギー移動効率 (ET-QY)  $\tau_{ET(1:1)}$  は蛍光スペクトル測定による数値(80%)とおおむね一致した。ところが 1:4 錯体では  $\tau_{ET(1:4)}$  では大きく低下し、26.4%の値が得られた。これは静的な蛍光測定から得られた ET 効率(ET-QY)70%のおよそ 2/5 であり、全く異なる値である。4 つ目の ZnTPPS が包接されることによる構造変化で、包接された全ての ZnTPPS が同じ状態にあれば両者が一致するものと考えられる。つまり、ここで得られた結果は 4 つ目の ZnTPPS からの寿命であり、1~3 個の包接された ZnTPPS からの蛍光は明確に確認することはできなかったものの、1~3 個目の ZnTPPS が包接された状態と 4 つ目の ZnTPPS の状態とが異なることを示すものである。錯体中の 4 つの ZnTPPS のうち 3 個の ZnTPPS の ET 効率を 80%、1 個の ET 効率を 27%として ET 効率を計算すると、67%が得られ、静的な蛍光測定から得られた 70%の値と概ね一致した。

Table.1 Fluorescence life time( $\tau$ )and ET-QY

substance	$\tau_1$ [ns]	$k_{ET}[s^{-1}]$	$d_{ET}$	$s_{ET}$
ZnTPPS	2.05	-	-	-
TPP(m-CD) <sub>8</sub>	11.79	-	-	-
1:1	0.42	1.89E9	79.5	79.8
1:4	1.51	1.74E8	26.4	70.5

1:1 から 1:3 において得られたエネルギー移動効率の値から Förster mechanism に基づいてドナー - アクセプター間の距離を計算した。エネルギー移動効率  $\Phi_{ET} = 0.80$  を用いてドナー - アクセプター間の距離  $R$  は次式により 18 と計算された。

$$R = \left( \frac{1}{\Phi_T} - 1 \right)^{-6} R_0$$

この値は Figure 3 に示したような中心ポルフィリンの上下に Zn(TPPS)を包接した 4 つの CD が配置された構造を仮定したときのポルフィリン間距離(16.8)とほぼ等しく、このような自己組織化構造体の形成を強く示唆するものである。

1:4 錯体における 4 つ目の ZnTPPS からのエネルギー移動が減少する理由として、Rigid な環境におかれたため、ドナー側の自由度が低下し、遷移モーメントの一致のための再配向が困難となるため、4 つ目の ZnTPPS は配向定数 $\kappa^2$ が変化する(大きくなる)ためであると考えられる。フェルスター半径  $R_0$  と配向定数 $\kappa^2$  とは比例関係にあることから、蛍光寿命測定により得られた 1:1 錯体の  $R$  値 18 と 1:4 錯体の  $R$  値 26.9 の値を用いて 1:4 錯体での $\kappa^2$ を算出すると 1.0 ( $26.9 \times (2/3)/18$ )と大きな値が得られた。これは励起状態において、遷移モーメントの角度が異なる ZnTPPS が 1 個存在するものであることを示唆する。

この 1:1 から 1:4 錯体について CD スペクトルを測定したところ、何れも Zn(TPPS)添加により、419 nm、425 nm、432nm に負、正、負のピークが現れ、ポルフィリン環同志の強い励起子間の相互作用 (exciton coupling)の存在を示した。さらに ZnTPPS を加えると、419 nm の楕円率の減少とともに、425 および 432 nm のピークは 422 および 429 nm に短波長シフトした。ZnTPPS および TPP(m-CD)<sub>8</sub> 単独ではほとんど効果を示さないため、この変化は ZnTPPS が TPP(m-CD)<sub>8</sub>に包接されたことによるものと考えられる。また、2 当量と 4 当量において明確な屈曲点が観測されることから、CD スペクトル変化は 2 当量までと 4 当量までの 2 つの構造変化を反映したのものと考えらえる。



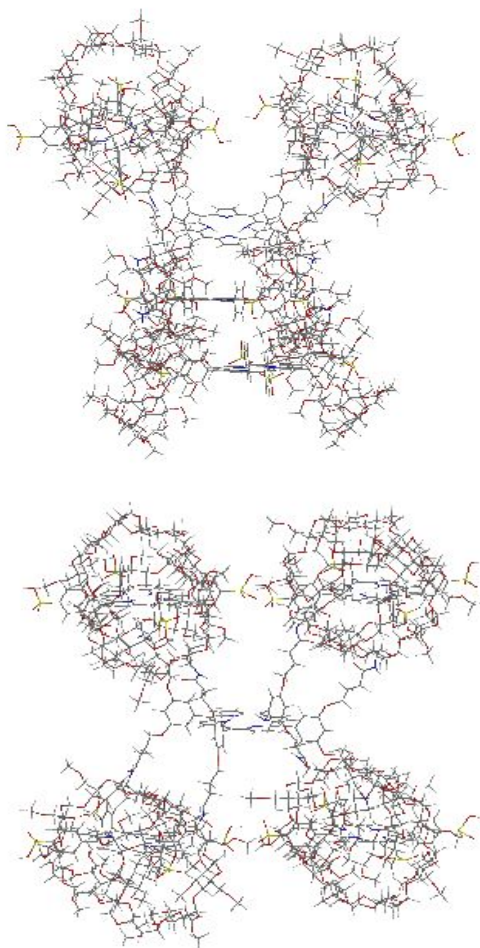


Figure 3. Possible structure of self-assembly of porphyrin pentamer (upper: twist type, lower: parallel type)

一般に、ポルフィリン同士が非常に近い位置にあって相互作用していると、ここで観測されたようなエキサイトンカップリングと呼ばれる正と負の2つに分裂した顕著なコットン効果が見られる。これは Figure 3 のような積層ポルフィリン 5 量体構造と矛盾しないものである。このように本ホストゲストシステムでは構造規制された自己組織化集合体を容易にかつ自発的に形成することが分かった。

ここで新規に合成した 8 置換 CD ポルフィリンではその位置異性体を選択することによりシクロデキストリンの空間配置を自由に制御可能である。そのため複数のクロモファー分子の空間配置の異なる自己組織化ポルフィリン集合体を自由に設計できる点できわめて画期的なシステムである。今後、各種空間配置 CD ホスト分子を合成するとともに、電子受容機能等を付与あるいは自己組織化させることにより、さらに高度な機能分子の構築に導くことが可能であるものと考えられ、光合成初期過程を模した光機能材料としての可能性を開くものである。

なお、本研究で開発した色素分子構造体の分光学的機能解析手法ならびに構造決定法を応用して、有機色素分子の分光学的同定に関する研究も並行して行ない、多くの成果を得ている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 6 件)

1. Yoshiko Sasaki, Ryohei Fukae, and Ken Sasaki, Chemical analysis of red dyestuffs used for Rouge-cotton, BUNKAZAI-HOZON SHUFUKU GAKKAISHI, 査読有, **56**, 37-50 (2013)
2. Yoshiko SASAKI and Ken SASAKI, Analysis of Protoberberines Containing Dye Materials: An Approach for Provenance of Historical Textiles in East Asia based on Analysis of Amur Cork Tree. e-PRESERVATION SCIENCE, 査読有, **10**, 83-89 2013
3. Yoshiko SASAKI, Kenzo FUJII, and Ken SASAKI, Provenance Study for Historical Textiles upon Quantitative Analysis of Protoberberines in Amur Cork Tree, *Archeology and Natural Science*, 査読有, **63**, 71-88 (2012)
4. Yoshiko SASAKI and Ken SASAKI, Determination of Dye Plant Materials including Protoberberines by Component Analysis using HPLC and ESI-mass Spectrometry, *Archeology and Natural Science*, 査読有, **63**, 53-69 (2012)
5. Yoshiko SASAKI, Yoshio IKUTANI, and Ken SASAKI, Development of Micro-analytical Techniques for Dyes in Historic Textiles (4) Applications of ESI-MS and MSMS Methods for Identification of Synthetic Azo Dyes in "Memorial Notebook of Textiles for Prince Chichibu's Coming-of Age Ceremonial Costumes" *Archeology and Natural Science*, 査読有, **62**, 19-42 (2011)
6. Yoshiko SASAKI, and Ken SASAKI, Development of Micro-analytical Techniques for Dyes in Historic Textiles (3) ESI Mass Spectrometric Analysis of Early Acid Azo Dyes, *Archeology and Natural Science*, 査読有, **62**, 1-17 (2011)

[学会発表](計 14 件)

1. 松田 章太・佐々木 健  
シクロデキストリンの分子認識機能による自己組織化ポルフィリン多量体の構築と評価 日本化学会第 94 春季年会(名古屋大学東山キャンパス, 名古屋) 2014 年 3 月 27 日~29 日 1PB-030 PB

2. Yoshiko SASAKI and Ken SASAKI  
Red Dyed used for Rouge Cotton (Enji-wata), 32nd Meeting of Dyes in History and Archaeology, 3-5 October 2013 La Rochelle (France) p. 18
  3. Yoshiko Sasaki and Ken Sasaki  
The usage of the red insect colorant in the Asia based on the chemical analysis, 3<sup>rd</sup> International Symposium on Conservation of Cultural Heritage in East Asia, Gyeongju (South Korea), Sept. 5-6 2013, Abstract pp.87-90
  4. Yoshiko SASAKI and Ken SASAKI ,  
HPLC Analysis of Yellow Dye "Phellodendron" to Determining the Provenance of Historical Textiles of East Asia, IUPAC 44<sup>th</sup> Chemistry Congress, Istanbul, Turkey, 11-16, August 2013, Abstract p.203
  5. Kutsuna Hiromi, Sasaki Yoshiko, Sasaki Ken, Kutsuna Takahiko  
A Study of Enji: Cosmetics, Medicine and Colour Material made from Red Dyes in China  
31th Meeting of Dyes in History and Archaeology, 17-20 October 2012 Antwerp (Kingdom of Belgium) p. 38
  6. Yoshiko SASAKI and Ken SASAKI ,  
Provenance Analysis of Protoberberines in Amur Cork Tree in Historical Textiles: An Approach for Origin of the Textiles in East Asia  
31th Meeting of Dyes in History and Archaeology, 17-20 October 2012 Antwerp (Kingdom of Belgium) p. 24
  7. Yoshiko SASAKI and Ken SASAKI,  
Scientific Identification for Protoberberines as Natural yellow dyes in historical textiles, International Symposium and Exhibition on Natural Dyes 2012 (KUCHING, SARAWAK, MALAYSIA) 27 Sep. 2012
  8. 平林 拓馬・佐々木 健・黒田 裕久  
光捕集機能と電荷分離能を有する自己組織化ポルフィリン集合体の構築  
日本化学会第 93 年会 1PC-062, 2013 年 3 月 22 日 立命館大学, 草津
  9. 内藤 展洋・黒田 裕久・佐々木 健, シクロデキストリン多修飾ポルフィリンを用いた自己組織化およびエネルギー移動機構 第 6 回 バイオ関連化学シンポジウム, 2P-021, 北海道大学, 札幌 2013 9 月 7 日
  10. 平林 拓馬・黒田 裕久・佐々木 健, 光捕集・電荷分離機能をもつ多機能ポルフィリン多量体における電子受容体の評価 第 6 回 バイオ関連化学シンポジウム 1P-008 北海道大学 札幌 2013 9 月 6 日
  11. 内藤展洋・佐々木健・黒田裕久, シクロデキストリン多修飾ポルフィリンによる自己組織化高次構造体の構築 日本化学会第 92 春季年会, 2PA- 180, 慶応大学横浜, 2012, 3 月 26 日
  12. Yoshiko Sasaki, Ryouhei Fukae, Takahiko Kutuna, Hiromi Kutuna, Ken Sasaki, Determination of Red Dyes used for Rouge Cotton (Enji-wata), 30th Meeting of Dyes in History and Archaeology, 12-15 October 2011 Derby (United Kingdom)
  13. Yoshiko Sasaki\* and Ken Sasaki, Determination of Yellow Dyes based on Quantitative Analysis of Protoberberine Alkaloids, 30<sup>th</sup> Meeting of Dyes in History and Archaeology, 12-15 October 2011 Derby (United Kingdom)
  14. 佐々木 健・黒田 裕久, シクロデキストリン多修飾ポルフィリンの合成とその包接挙動 内藤 展洋・, 第五回バイオ科学シンポジウム, つくば(エポカルつくば) 2011 年 9 月 13 日, 2P-029
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)  
取得状況(計 0 件)
- 〔その他〕  
ホームページ等  
なし
6. 研究組織  
(1)研究代表者  
佐々木 健 (Sasaki Ken)  
京都工芸繊維大学 工芸科学研究科 准教授  
研究者番号: 20205842
- (2)研究分担者  
なし ( )  
研究者番号:
- (3)連携研究者  
なし ( )  
研究者番号: