



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Towards artificial photosynthesis on the lipid bilayer of liposomes

Klein, D.M.

Citation

Klein, D. M. (2022, September 15). *Towards artificial photosynthesis on the lipid bilayer of liposomes*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3458516>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3458516>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Samenvatting in het Nederlands

Kunstmatige fotosynthese heeft veel potentie voor de productie van duurzame brandstoffen uit ruim beschikbare bronnen, zoals water, koolstofdioxide (CO_2) en zonlicht. In een kunstmatig fotosynthetisch systeem worden twee chemische reacties gecombineerd, zoals de oxidatie van water en de reductie van protonen of CO_2 . Om een dergelijk systeem te maken is het cruciaal om te beschikken over: a) efficiënte absorptie van het licht, b) stabiele katalysatoren voor de oxidatie- en reductiereactie, c) proton- en elektrontransport tussen de locatie waar oxidatie plaatsvindt en de locatie waar reductie plaatsvindt, d) efficiënte ladingsscheiding, en e) een sterk, fotostabiel membraan dat zo min mogelijk moleculaire componenten lekt. Bij natuurlijke fotosynthese wordt aan deze voorwaarden voldaan door middel van compartimentalisatie. Hierbij worden de belangrijkste componenten van het fotosynthetisch systeem van elkaar gescheiden. Een voorbeeld hiervan is het in groene planten voorkomende zuurstof-vormende complex bestaande uit fotosysteem I en II en de elektronentransportketen, die rondom de lipide dubbellaag van het thylakoïdemembraan gelokaliseerd zijn. Het gebruik van bolvormige lipide membranen (zoals liposomen), die het biologische thylakoïdemembraan nabootsen, is een veelbelovende benadering om oxidatiereacties en reductiereacties van elkaar te scheiden door ze onder te brengen in eigen compartimenten. Dit maakt ladingsscheiding gemakkelijker en daarnaast worden ladingsrecombinatie of andere nevenreacties voorkomen. In het in dit proefschrift beschreven onderzoek is geprobeerd om een volledig kunstmatig fotosynthetisch systeem op basis van liposomen te maken. Verschillende belangrijke mijlpalen op deze weg werden bereikt: 1) unidirectionele elektronenoverdracht over een liposomaal membraan van een elektronendonor gelokaliseerd aan de binnenkant van het liposoom naar een elektronenacceptor buiten het liposoom (**Hoofdstuk 2**), en 2) fotokatalytische reductie van CO_2 (**Hoofdstuk 3**) en van protonen (**Hoofdstuk 4**) aan het oppervlak van liposomen. In het werk beschreven in **Hoofdstuk 2** en **Hoofdstuk 5** is daarnaast speciale aandacht besteed aan de

(foto)stabiliteit van het membraan en licht-geïnduceerde lekkage, aspecten die in eerdere studies onderbelicht bleven.

In **Hoofdstuk 2** beschrijven we de synthese van twee metallopeptiden (**WALP23-Ru₂** en **WALP23-Re₂**), die in een membraan ingebed konden worden. **WALP23-Ru₂** en **WALP23-Re₂** zijn ontworpen om licht-geïnduceerde elektronenoverdracht te bewerkstelligen van een elektronendonor in het binnenste compartiment van het liposoom naar een elektronenacceptor buiten het liposoom. Bij bestraling met licht leek **WALP23-Ru₂** snelle elektronenoverdracht door het lipide membraan te geven. Helaas bleek dat de waargenomen fotoreactie het resultaat was van licht-geïnduceerde lekkage van het membraan, waarbij de elektronendonor vrijkwam, gevolgd door licht-geïnduceerde elektronenoverdracht aan de buitenkant van het liposoom. Deze interpretatie werd ondersteund door de toevoeging van Zn²⁺-ionen aan de oplossing. De aanwezigheid van Zn²⁺-ionen in de oplossing verhindert de fotoreactie door het deactiveren van de elektronendonormoleculen, die door het membraan lekten. Bovendien toonden moleculaire dynamica simulaties aan dat de metallopeptiden niet alleen de verwachte oriëntatie aannamen waarbij ze door het membraan heen steken, maar ook een andere oriëntatie kunnen aannemen waarin ze gebonden zijn aan één kant van de lipide dubbellaag. Met **WALP23-Re₂** werd ook elektronenoverdracht gevonden na bestraling met licht, maar in dit geval vond elektronenoverdracht nog steeds plaats na de toevoeging van Zn²⁺-ionen aan de oplossing. **WALP23-Re₂** is daarmee een van de weinige moleculen die in staat is echte transmembraan-elektronenoverdracht te realiseren, terwijl **WALP23-Ru₂** dat niet kan. Dit werk benadrukt de mogelijkheden van kunstmatige metallopeptiden als transmembraanelektronentransporteurs en het belang van het uitvoeren van lekkagestudies voor de ontwikkeling van kunstmatige fotosynthetische systemen op basis van liposomen.

In **Hoofdstuk 3** wordt de synthese beschreven van een reeks op rhenium gebaseerde CO₂-reductie katalysatoren [Re(4,4'-(C_nH_{2n+1})₂-bpy)(CO)₃Cl] (**ReC_n**; 4,4'-(C_nH_{2n+1})₂-bpy = 4,4'-dialkyl-2,2'-bipyridine) en op ruthenium gebaseerde fotosensibilisatoren [Ru(bpy)₂(4,4'-(C_nH_{2n+1})₂-bpy)](PF₆)₂ (**RuC_n**)

met verschillende alkylketens ($n = 0, 9, 12, 15, 17$ en 19). **ReC_n** en **RuC_n** werden geïmmobiliseerd op liposomen (volledige systeem = **C_n**) om fotokatalytische CO₂-reductie uit te voeren in de aanwezigheid van natrium ascorbaat (NaHAsc) en tris(2-carboxyethyl)phosphine (TCEP) als elektronendonoren. De resultaten van het fotokatalytische proces in de verschillende **C_n** liposomen bleken sterk afhankelijk te zijn van de lengte van de alkylketen: het omzettinggetal voor CO-productie nam af wanneer de lengte van de alkylketen toenam van **C₉** naar **C₁₉**. Deze trend werd geanalyseerd door het percentage **RuC_n** en **ReC_n**, dat was geïmmobiliseerd op de liposomen, te kwantificeren met behulp van een inductief gekoppelde plasmamassaspectrometer, door het meten van de snelheid van elektronenoverdracht met behulp van tijdsopgeloste spectroscopie en door laterale diffusiemetingen met behulp van fluorescentielevensduurcorrelatiespectroscopie. De ICP-MS metingen toonden aan dat de lengte van de alkylketen geen belangrijk effect had op de efficiëntie van de immobilisatie van **RuC_n** en **ReC_n**. De tijdsopgeloste spectroscopiemetingen onthulden dat elektronen inderdaad sneller werden overgedragen tussen **RuC₉** en **ReC₉** dan tussen **RuC₁₉** en **ReC₁₉**, wat de waargenomen fotokatalytische trend ondersteunde. Tenslotte toonden de laterale diffusiemetingen aan dat de rutheniumcomplexen bestaan als een mengsel van twee subpopulaties in het membraan: een langzame en een snelle populatie. De hogere bijdrage van de snel diffunderende component voor het **C₉** systeem, vergeleken met die van het **C₁₉** systeem, correleerde goed met de grotere elektronenoverdrachtssnelheid tussen de Ru- en Re-complexen die in het eerste geval werd waargenomen. Dit werk heeft een belangrijke voortgang opgeleverd in het fundamentele begrip van supramoleculaire samenstellingen van katalysatoren en fotosensibilisatoren, die op lipide membranen zijn geïmmobiliseerd: langere alkylketens zijn nadelig voor fotokatalyse op liposomen, omdat het de moleculen te hydrofoob maakt, waardoor ze in de kern van het membraan vast komen te zitten. Hierbij verliezen ze hun vermogen om te diffunderen en om elektronen van molecuul tot molecuul te transporteren.

In **Hoofdstuk 4** wordt de synthese van het nieuwe gealkyleerde kobaltpolypyridylcomplex **CoC₁₂** beschreven. **CoC₁₂** werd bestudeerd als een

mogelijke protonreductiekatalysator voor fotokatalytische waterstofgeneratie op liposomen in combinatie met de gealkyleerde fotosensibilisator **RuC₁₂** (beschreven in **Hoofdstuk 3**) en NaHAsc en TCEP als elektronendonoren. Het systeem werd geoptimaliseerd door te variëren in de membraanconcentratie van **CoC₁₂** en **RuC₁₂**, de pH en de lipide samenstelling. Een maximaal omzetgetal van 161 H₂ moleculen per katalysator molecuul werd bereikt, wat even hoog is als die van de beste fotokatalytische liposoomsystemen die tot nu toe in de literatuur gepubliceerd zijn. Stabiliteitsstudies toonden aan dat de katalytische activiteit herwonnen kon worden door de toevoeging van vers **RuC₁₂** na een eerste voltooide fotokatalytische meting. Toevoeging van vers **CoC₁₂** leidde echter niet tot verdere waterstofproductie, wat aantoont dat de ontleding van **RuC₁₂** de factor was die de waterstofproductie beperkte. In eerder werk werd de fotokatalytische protonreductie op liposomen beperkt door de stabiliteit van de katalysator in plaats van de stabiliteit van de fotosensibilisator. Dit werk is een belangrijke stap naar een door liposomen ondersteund fotokatalytisch watersplitsingssysteem dat volledig gebaseerd is op ruim beschikbare elementen. Hiervoor is het van belang dat de ruthenium fotosensibilisator vervangen kan worden door een fotosensibilisator die zowel stabiel is alsook gebaseerd op niet-zeldzame elementen.

Hoofdstuk 5 heeft geen betrekking op kunstmatige fotosynthese, maar het beschrijft een samenwerking met de Universiteit van Amsterdam. Een membraanlekkagetest, vergelijkbaar met die beschreven in **Hoofdstuk 2**, is gebruikt om de stabiliteit te meten van liposoommembranen tegen inhoudslekage tijdens verneveling. Verneveling is een veelgebruikte techniek voor medicijnafgifte via de longen. Om dit te kunnen bestuderen werd het zelfdovende fluorofoor calceïne ingekapseld in de binnenste waterige kern van liposomen. Vervolgens werd de lekkage, die werd geïnduceerd door verneveling met verschillende apparaten, bestudeerd met behulp van emissiespectroscopie. De vibrerende mesh-vernevelaars gaven meer dan tien keer zoveel ingekapseld materiaal vrij dan de continue jet-vernevelaars, omdat de energieën die bij het vernevelingsproces betrokken zijn veel groter zijn. Al met al biedt dit werk een uitstekende methodologie

om te beoordelen of een bepaalde liposomale formulering geschikt is voor studies waarbij membraanlekkage moet worden vermeden (**Hoofdstuk 2**). Het toont ook aan dat schijnbaar stabiele liposomen onstabiel kunnen worden bij het uitoefenen van externe stress, zoals door mechanische vernevelaars.