

Title	Furoxan-Containing Polymeric Nanomedicines for Nitric Oxide Delivery
Author(s)	王, 騰蛟
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/59606">https://doi.org/10.18910/59606</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 ( 王 騰 蛟 (Wang Tengjiao) )

論文題名

Furoxan-Containing Polymeric Nanomedicines for Nitric Oxide Delivery  
(フロキセン含有高分子ナノメディシンによる一酸化窒素デリバリー)

## 論文内容の要旨

In this doctoral thesis, preparation and potential therapeutic application of polymeric furoxan nanomedicine including polymeric furoxan conjugates and furoxan bearing micelles were described. Furthermore, an efficient protocol for the removal of copper impurities from polymers during nanomedicine synthesis was developed. The abstract of each chapter were summarized below.

In chapter 2, “Nitric oxide-releasing polymeric furoxan conjugates” was described. The polymeric furoxan conjugates were prepared by conjugating azide-functionalized furoxan derivatives to poly(ethylene glycol) (PEG) with an alkyne end group by the copper(I)-catalyzed 1,3-Huisgen cycloaddition. The NO release properties in response to cysteine, hydrolytic stability and a synergistic anti-proliferative effect with ibuprofen in human colon cancer cells were evaluated.

In chapter 3, “Furoxan-bearing micelles for nitric oxide delivery” was described. The furoxan-containing polymeric micelles were prepared from an amphiphilic block copolymer consisting of a hydrophobic furoxan-bearing block and a hydrophilic poly (*N*-acryloylmorpholine) (PAM) block, which was synthesized by using a combination of the reversible addition-fragmentation chain transfer (RAFT) polymerization and the copper(I)-catalyzed 1,3-Huisgen cycloaddition reaction techniques. The NO release properties in response to cysteine, hydrolytic stability and a synergistic anti-proliferative effect with ibuprofen in human colon cancer cells were evaluated.

In chapter 4, “Copper removal from polymers by diethyldithiocarbamate complexation” was described. In chapter 2 and 3, furoxan-containing polymeric NO donors were prepared by using the copper(I)-catalyzed 1,3-Huisgen cycloaddition reaction. However, a drawback of this approach is the remaining trace amounts of copper catalyst in the final product, which may affect the NO releasing property of furoxans. In this chapter, new purification method using diethyldithiocarbamate (DTC) as a complexing ligand followed by size exclusion chromatography was developed to remove copper impurities from the PEG-furoxan conjugate as well as furoxan-containing polymeric micelle.

In chapter 5, “NO-releasing micelles from amphiphilic furoxan-bearing block polymers by modification of poly(*N*-acryloylmorpholine)-*b*-poly(pentafluorophenyl acrylate) with amine-containing

furoxan” was described. Since the use of the copper-catalyzed reaction to conjugate furoxan moieties to polymers requires the additional purification step to remove the copper impurities, a new synthetic approach to prepare a furoxan-bearing block copolymer without using a copper catalyst was developed. Poly(*N*-acryloylmorpholine)-*b*-poly(pentafluorophenyl acrylate) diblock copolymer was synthesized and the pentafluorophenyl ester moieties were reacted with amine-containing furoxan derivative to yield a furoxan-bearing diblock copolymer. The micelles were prepared from this polymer and the morphology and NO release property were characterized.

In chapter 6, the results and conclusions obtained in each chapter were summarized.

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 王 騰 蛟 )	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 教授 宇山 浩
	副 査 教授 古澤 孝弘
	副 査 教授 井上 豪
	副 査 教授 桑畑 進
	副 査 教授 林 高史
	副 査 教授 南方 聖司
	副 査 教授 町田 憲一
	副 査 教授 今中 信人
副 査 教授 櫻井 英博	

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、一酸化窒素 (NO) の輸送能をもつフロキセン含有高分子ナノメディシンの合成と機能評価に関する研究成果をまとめたものであり、その内容を要約すると以下の通りである。

第2章では、親水性高分子であるポリエチレングリコール (PEG) の末端に、異なる置換基をもつフロキセンを修飾することにより、PEG-フロキセンコンジュゲートの合成に成功している。銅触媒を用いたHuisgen環化付加反応により、アジド基をもつフロキセンと末端アルキル基をもつPEGを反応させることにより、フロキセンをPEGに効率よく修飾できることを見出した。得られたPEG-フロキセンコンジュゲートは、システインなどのチオール含有化合物の添加によりNOを放出した。また、ヒト結腸癌細胞においてイブプロフェンの抗腫瘍効果を増強することを明らかとした。

第3章では、第2章の手法を発展させ、コア部分にフロキセン基を結合した高分子ミセルの調製に成功している。親水性高分子ブロックであるポリアクリロイルモルフォリン (PAM) とフロキセン基を複数含有する疎水性高分子ブロックよりなる両親媒性ブロックコポリマーを可逆的付加開裂連鎖移動 (RAFT) 重合およびHuisgen環化付加反応により合成した。得られたブロックコポリマーは、水中での自己組織化により粒径50 nmの高分子ミセルを形成することを見出した。高分子ミセルの疎水性コア部分にフロキセン基を結合することにより、フロキセンの水溶液中における分解安定性を著しく向上させた。高分子ミセルは、システインの添加によりNOを放出した。さらに、ヒト結腸癌細胞においてイブプロフェンの抗腫瘍効果を著しく増強した。

第4章では、フロキセン含有高分子中に残留した銅触媒の効率のよい除去方法を開発している。第2および3章においてHuisgen環化付加反応により合成したフロキセン含有高分子に微量の銅触媒が吸着しており、この残留した銅触媒がNO放出能に影響を与えることが示唆されていた。残留銅触媒を含む高分子とジエチルジチオカルバミン酸ジエチルアンモニウムをジメチルフォルムアミド中で混合した後、サイズ排除クロマトグラフィーにより高分子を単離することにより、吸着した銅触媒を容易に除去できることを明らかとした。本手法により精製された高分子は、より高いNO放出能を示すことを確認した。本手法は、温和な条件で吸着した銅触媒を遊離できることから、銅触媒を用いた高分子材料の合成において、汎用性の高い精製手法となり得る。

第5章では、ペンタフルオロフェニルエステル基とアミノ基含有フロキセンの反応を用いることによりフロキセン含有両親媒性ブロックコポリマーを合成している。親水性高分子ブロックであるPAMとポリペンタフルオロフェニルアクリレートよりなるブロックコポリマーをRAFT重合により合成し、アミノ基含有フロキセンと反応させることにより、フロキセン含有ブロックコポリマーを得ている。これにより、銅触媒を用いないフロキセン含有ブロックコポリマーの新規合成法を確立した。得られたブロックコポリマーは、水中での自己組織化により高分子ミセル

ルを形成し、システイン添加によりNO放出能を示すことを明らかにした。

以上のように、本論文はフロキセン含有高分子ナノメディシンの合成法を確立し、その安定性およびNO放出能、生理活性について評価している。これらの結果は、生理活性ガスであるNOを用いた治療技術の発展において、新規アプローチを提案すると共に、基礎・応用の両面から重要な知見を与えている。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。