

京都大学	博士（工 学）	氏名	金 致源
論文題目	Synthesis of Porous Coordination Polymers for Controlled Nitric Oxide Release （一酸化窒素放出を制御可能な多孔性配位高分子の合成）		
（論文内容の要旨） 本博士論文では、一酸化窒素の放出制御が可能な多孔性配位高分子の合成、及びそれを用いた細胞又は動物への一酸化窒素刺激を研究テーマとしている。生体内で生産される一酸化窒素は情報伝達物質としての役割を有しており、生き物にとっては欠かせない重要な分子であり、血液中の血小板の凝集、免疫プロセス、創傷治癒、癌の発生、神経伝達などに関わっていることが明らかになっている。一酸化窒素を外部から生体内に導入することで生物学的・医学的な効果が期待される一方で、生体内では一酸化窒素の発生が時空間的に制御されているため、単純な導入方法では効果が期待できない。そのため、時空間的に一酸化窒素放出を制御可能なシステムの開発が望まれている。本研究では一酸化窒素放出制御材料を開発するにあたり、光刺激で一酸化窒素の放出制御が可能な多孔性配位高分子の開発を行った。更に、開発された多孔性配位高分子を用いて、細胞や動物に対する時空間制御型一酸化窒素刺激材料としての利用の可能性に関して検討を行った。本論文は、序論、及び本論（5章）により構成されている。 序論では生体内での一酸化窒素の役割、そして一酸化窒素放出の時間的・空間的制御を目的として開発された従来の分子や材料について記述した。一酸化窒素放出の時間的制御を目的として、光や温度などの外部刺激で一酸化窒素を放出する分子が開発されており、この分子の拡散を防ぎつつ、空間的制御能を向上させるために、ドナー分子と固体材料の複合化が現在進んでいる。特に多孔性シリカ、ゼオライトなど表面積が広い多孔性材料との複合化による放出量の向上が注目されているが、これら多孔性材料の分子設計性が低く、且つ生理的条件での安定性の低さが問題であり、一酸化窒素の時空間的放出制御が可能な材料の開発は困難であった。一方で、多孔性配位高分子は多孔性材料の中で最も高い表面積と無機—有機材料の複合的性質からくる優れた分子設計性を有している点から、一酸化窒素放出制御に向けた最適の材料であると言える。本論において、多孔性配位高分子と外部刺激で一酸化窒素を放出可能な分子を配位子として用いた多孔性配位高分子の合成、その結晶サイズ制御法、フレームワーク構造や結晶サイズが放出挙動に与える影響を詳細に調べ、また細胞や動物を用いた生体応用の可能性について記述した。 第1章では多孔性配位高分子の合成時に起きる錯形成反応を理解し、合成方法を変えることで均一な大きさや形態を持つナノサイズ結晶の合成を行った。マイクロウェーブ反応装置で均一に熱を加えることで均一な核形成を誘導し、均一な大きさの結晶を得ることに成功した。その際、反応混合物に有機配位子である1,4-ナフタレンジカルボン酸と同様の配位サイトであるカルボン酸を有するラウリン酸を加えることで錯平衡を調整し（配位モジュレーション法）、核形成速度の制御が可能であることを示し、多孔性配位高分子のナノ領域でのサイズ結晶制御が可能であることを明らかにした。 第2章では第1章と同様の合成方法で得られたナノサイズの微結晶が単結晶であることを利用し、磁場をかけて結晶を配向させる実験を行った。合成した$[\text{Cu}_2(\text{ndc})_2(\text{dabco})]_n$と$[\text{Cu}_2(\text{bdc})_2(\text{bpy})]_n$微結晶の磁場による配向は二次元X線回折測			

京都大学	博士（工 学）	氏名	金 致源
定で得られたスポット型回折パターンにより示された。更に、得られた解析パターンの解析により、$[\text{Cu}_2(\text{ndc})_2(\text{dabco})]_n$ と $[\text{Cu}_2(\text{bdc})_2(\text{bpy})]_n$ の磁化容易軸は銅の paddle wheel の方向により決定されることを明らかにした。相互貫入構造である $[\text{Cu}_2(\text{bdc})_2(\text{bpy})]_n$ 結晶を用いて回転磁場の中での三次元配向も行ったが、相互貫入構造による磁化困難軸の配向は困難であった。 第3章では二種類のニトロイミダゾール誘導体を有機配位子、亜鉛を金属イオンとする多孔性配位高分子（NOF-1 と NOF-2）の合成を行った。芳香環に連結したニトロ基は、励起状態で亜硝酸基へと変換され、その後一酸化窒素を放出することが知られている。NOF-1 や NOF-2 は紫外光照射により、一酸化窒素を非常に早い応答速度且つ大量に放出可能であることが明らかになった。合成された NOF-1 と NOF-2 は亜鉛を中心金属としたフレームワーク構造を形成する事で、ニトロイミダゾール分子間を効率的に離し、ニトロイミダゾールの励起状態の自己失活を防ぐことを可能にする。生じた内部空間は放出された一酸化窒素の拡散経路にもなり、早い放出が可能になったと考えられる。また、紫外光の強度を変化させることで、放出量の制御にも成功した。さらに、NOF-1 を組み込んだ機能性細胞培養基板を作成し、培養細胞に対し時空間的に一酸化窒素放出制御可能なプラットフォームを構築した。 第4章では紫外光照射で一酸化窒素を放出する bis-<i>N</i>-nitrosamine 基を有する多孔性配位高分子の合成及び生理学的条件での安定性の評価を行った。bis-<i>N</i>-nitrosamine は熱に弱い官能基である事を考慮し、bis-methylamine を有する有機配位子でチタンとアルミニウムを中心金属イオンとする多孔性配位高分子（Ti; preNOF-11 と Al; preNOF-12）を合成した。その後事後ニトロソ化反応で preNOF-11 と preNOF-12 の bis-methylamine をニトロソ化し、bis-<i>N</i>-nitrosamine へと変換した（Ti; NOF-11 と Al; NOF-12）。NOF-11 と NOF-12 から紫外光の照射による一酸化窒素の放出を確認した。さらに、preNOFs と NOFs の生理学的条件下での安定性の評価を行った結果、すべての条件において NOF-11 が最も安定である事が示された。これは、NOF-11 が大きな電荷を持つ Ti イオン（+4）を中心金属とするためイオン結合性が強く、より化学的に安定になっており、また bis-<i>N</i>-nitrosamine 基の導入により細孔ウィンドウが小さくなり、リン酸イオンの結晶内部への拡散や、金属—配位子間の結合開裂を防いだためであると考えられる。 第5章では紫外光で一酸化窒素を放出可能な多孔性配位高分子の結晶サイズの制御と結晶サイズと一酸化窒素放出効率及び生体適合性との相関に関する研究を行った。第4章と同様の bis-methylamine を有する有機配位子とジルコニウムを金属イオンとして、多孔性配位高分子（preNOF-10）の合成を行った。反応溶液の濃度や有機配位子に対する酢酸の比率を変える事で結晶の核形成や成長速度を制御し、100 nm から 1000 nm の間の様々な大きさを持つ微結晶を合成した。合成された preNOF-10 はニトロソ化反応で bis-<i>N</i>-nitrosamine を導入した（NOF-10）。一酸化窒素放出量を調べた結果、より小さい結晶からより多くの一酸化窒素が放出されることを確認した。これは紫外光の結晶への浸透深度が低く、大きな結晶の内部まで光が到達できないことが原因であると考えられる。NOF-10 結晶の生理的条件下での安定性を評価した結果、水では非常に安定であり、リン酸緩衝生理食塩水と細胞培養液では7日間の浸漬で一部はリン酸ジ			

京都大学	博士（工 学）	氏名	金 致源
ルコニウムに変換されながらも大半は残っている事が示された。さらに生体適合性の向上のために polyethylenimine(PEI) で結晶の表面を修飾した (NOF-10-PEI)。NOF-10-PEI を有する細胞培養液を用いて T24 細胞を培養し、結晶サイズによる細胞毒性や細胞への取り込み量を調べた結果、より小さい結晶の細胞毒性が低く、また細胞内へより取り込まれることが明らかになった。NOF-10-PEI を取り込んでいる一つの細胞に可視光を照射する事で、一酸化窒素の放出において単一細胞レベルの高い空間的制御に成功した。さらに、動物での一酸化窒素刺激を行うために NOF-10-PEI をネズミの皮下に注射を用いて導入し紫外光で刺激した。その結果、放出された一酸化窒素により導入サイト近辺の動脈血管が拡張することを、二光子顕微鏡を用いて観察することに成功した。これにより、NOF-10 は時空間的に一酸化窒素を放出制御可能な固体材料として、細胞だけではなく動物へも使用可能なツールである事が示された。			

(論文審査の結果の要旨)

本博士論文では、多孔性配位高分子の優れた設計性に基づき、一酸化窒素ガス分子の放出制御が可能な固体材料の開発に関する研究を行っている。申請者は、紫外光に応答し一酸化窒素を放出する新規配位子を合成し、様々な金属イオンと反応させることで種々の多孔性配位高分子を構築した。さらに、多孔性配位高分子の結晶サイズによる一酸化窒素放出挙動や生体適合性の評価を行った。本研究から得られた結果の概要を以下にまとめる。

1) 多孔性配位高分子の合成の際に、マイクロ波を利用し反応溶液を均一かつ素早く加熱することで核形成を均一に誘起し、多孔性配位高分子の結晶サイズ制御を行った。その際、有機配位子と同様のカルボン酸を持つラウリン酸を反応溶液に添加し、結晶表面での錯平衡を調整する事で結晶のサイズ制御が可能であることを見出した。

2) 有機配位子としてニトロイミダゾールを有する多孔性配位高分子を合成し、紫外光による一酸化窒素の放出制御に成功した。ニトロイミダゾールを多孔性配位高分子の骨格に取り込むことで、配位子の固体状態に比べて、一酸化窒素放出効率や速度の飛躍的向上が得られることを見出した。合成した結晶を用いて細胞培養基板を構築し、細胞に対し外部から一酸化窒素刺激が可能な新しいプラットフォームを構築した。

3) ニトロソアミンを有する有機配位子を新規合成し、アルミニウムとチタンを中心金属とする多孔性配位高分子の構築に成功し、紫外光による一酸化窒素放出制御を達成した。さらに、多孔性配位高分子の生理学的条件下での安定性を詳細に調べたところ、チタンを有する多孔性配位高分子は従来の多孔性配位高分子と比べて、水、バッファーなどの条件においても非常に安定である事を明らかにした。

4) ニトロソアミンを配位子として、ジルコニウムを中心金属とする多孔性配位高分子を合成し、さらに結晶サイズ制御を行った。一酸化窒素放出量、細胞を用いた生体適合性の結晶サイズ依存性評価を行った結果、100 nm 程度の小さい結晶の方が、500 nm の結晶に比べてより高い放出量と高い生体適合性を持つことを明らかにした。さらに、得られた多孔性配位高分子からの一酸化窒素放出によるマウスの血管拡張の直接観察に成功した。

以上本論文は、多孔性配位高分子の特徴を利用し、従来の物より優れた放出特性と安定性を持つ一酸化窒素放出材料の開発とそれを用いた細胞や動物への時空間制御的一酸化窒素刺激を達成し、一酸化窒素放出材料の開発と応用に重要な知見を与えるものであり、学術上、實際上寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年11月21日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、申請者が博士後期課程学位取得基準を満たしていることを確認し、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公開可能日：平成28年4月20日以降