

アシュミ ビュベンドラ メワダ

氏 名	ASHMI BHUPENDRA MEWADA
学 位 の 種 類	博士（工学）
学 位 記 番 号	論博第293号
学位授与の日付	平成28年3月23日
学位授与の条件	学位規則第4条第2項該当 論文博士
学 位 論 文 題 目	Carbon Dots as Targeted Drug Delivery System for Treatment of Cancer Cells (癌細胞の治療に向けたドラッグデリバリーとしてのカーボンドット)

論文審査委員	主 査	教授	曾我 哲夫
		教授	種村 眞幸
		准教授	Kalita Golap

論文内容の要旨

Ever since the debut of carbon dots (C-dots) in carbon nano world, they have been in extreme lime light due to their exceptional optical and physical properties. These illuminating dots under ultra violet-light falls in size range of 1-10nm and share the properties like semiconductor quantum dots and exhibit excitation dependent emission spectra. A few speculations on the origin of fluorescence in C-dots include energy emissive traps, oxygen containing functional groups, surface passivation and quantum confinement effect, turbostratic nature of carbon or edge defects. C-dots are found to be stable in fluorescence emission for long hours without alteration in their Photoluminescence spectra. C-dots have drawn great attention in the field of research due to their excellent tunable optical properties as well as its bio-compatibility and water solubility. Owing to need for treatment of cancer with the help of nanoparticle system to overcome the drawbacks of conventional therapy, the main aim of the present work is to design an efficient drug delivery vehicle using C-dots for active targeting of Doxorubicin (DOX) to cancer cells.

Chapter 1 is introduction to C-dots, their discovery, some important properties and applications are discussed. A brief review of literature is stated along with the objectives of the work.

Chapter 2 describes screening of novel natural precursors (Water chestnut peel, Neem gum, Sugarcane juice, Gum Arabic) and chemical precursors (Sorbitol and Phenylalanine) on the basis of their high carbon content and the ratio of C, H and O in their sugar moieties. Three synthesis methods namely refluxing at high temperature (Water chestnut peel), microwave assisted heating (Gum arabic, Sorbitol & Phenylalanine) and syntheses at room temperature (Neem gum & Sugarcane juice) were employed. Conventional dialysis method was proven to be promising for separation and purification of C- dots. Also, synthesis of C-dot conjugates namely mesoporous silicaoxide-C-dot conjugate and gold nanorod- C-dot conjugate is attempted in the present work which shows high potential in the field of cancer therapeutics.

Chapter 3 deals with characterisation of C-dots and C-dot conjugates. Spectral analysis was studied with the help of ultra violet-visible spectrophotometry and fluorescence spectroscopy, morphological analysis was studied using field emission-scanning electron microscopy, transmission electron microscopy and high resolution transmission electron microscopy. Presence of carbon was confirmed using X-ray diffraction and Raman analysis and surface functional group analysis was carried out using fourier transform infra-red spectroscopy.

Chapter 4 explains the formation of fluorescent C-dot dendrites whose mechanism is speculated based on classical nucleation theory.

Chapter 5 covers the drug delivery application part of the thesis. In this chapter, the drug carrying capacity of highly fluorescent sorbitol derived C-dots for targeted delivery of DOX has been explored. Folic acid has been used as navigational molecule due to high expression of folate receptors in most of the cancer cells. Before attachment of the DOX, the surfaces of C-dots were protected with bovine serum albumin to make them more biocompatible and hold high amount of drug. Release profile of DOX was studied using standard statistical models and confirmed to be first order at pH 7.2. Cellular imaging was performed using epifluorescence microscopy which showed bright green colored fluorescence due to internalization of C-dots specifically targeted with folic acid in HeLa cells (cancerous cells).

Chapter 6 summarizes all the general discussions and conclusions of the previous chapters. The effect of temperature and various methods on the synthesis and purification of C-dots has been discussed along with drug delivery to treat cancer cells. Also, future prospects of the present work have been explained in brief.

論文審査結果の要旨

本論文は、カーボンドットの合成とその物性評価、及びカーボンドットのドラッグデリバリーとしての評価について論じたものであり、各章は次のように要約される。

第1章は序論であり、カーボンドットの合成法、応用例、特にカーボンドットのドラッグデリバリーとしての現状及び本論文の目的について述べている。

第2章ではカーボンドットの合成法について述べている。天然原料であるヒシの実の皮、ニームゴム、サトウキビ汁、アラビアゴム、及び化学原料であるソルビトールとフェニルアラニンを用い、高温での還流（ヒシの実の皮）、マイクロ波加熱（アラビアゴム、ソルビトール、フェニルアラニン）、室温合成（ニームゴム、サトウキビ汁）の詳細な実験条件を示している。さらに、メゾポーラスシリカ/カーボンドット複合体、金ナノロッド/カーボンドット複合体の合成手法についても述べている。

第3章では合成したカーボンドットとカーボンドット複合体の評価結果について述べ、ニームゴムとサトウキビ汁から合成したカーボンドットは紫外域に吸収があるが、ヒシの実の皮から合成したカーボンドットは波長 536nm あたりに吸収の肩があることを示した。アラビアゴムを原料に用いて合成したカーボンドットはバックグラウンドの蛍光が最も小さく、最も高品質なカーボンドットであることを明らかにした。さらに、高分解能透過電子顕微鏡観察から、カーボンドットは合成法により 4nm から 18nm で異なったサイズであることを示した。X 線回折から、合成したカーボンドットは $2\theta = 25.6 \sim 25.8^\circ$ に鋭いピークをもつことから、グラファイトのナノ粒子であることを示した。ラマン散乱測定により、合成したカーボンドットの sp^3/sp^2 比についても論じている。メゾポーラスシリカ/カーボンドット複合体はサイズが 10nm 程度のカーボンドットとメゾポーラスシリカとの複合体であり、波長 972nm に固有の吸収ピークを持つことを明らかにした。また、金ナノロッド/カーボンドット複合体の吸収特性を明らかにし、透過電子顕微鏡観察から金ナノロッド/カーボンドット複合体の合成メカニズムについても言及している。

第4章ではソルビトールから合成したカーボンドットを用い、水熱プロセスにより紫外光下で緑色の蛍光を有するデンドライト構造が形成されることを明らかにした。さらに、ベロ細胞への細胞毒性試験により、合成されたデンドライト構造は生物適応性が高いことを示した。

第5章ではソルビトールから合成したカーボンドットを用い、抗がん剤の一つであるドキソルビシンのドラッグデリバリー特性を調べた。ドキソルビシンを担持する前にウシ血清アルブミンで保護することにより生体適応性が高まり、多量のドキソルビシンを担持できることを明らかにした。さらに、pH が 7.2 の時、カーボンドットからドキソルビシンの解離は理想的な 1 次反応であることを示した。また、正常な細胞にはほとんど害が無く、癌細胞に対して高い殺害率であることを示した。

第6章は総括であり、本研究の成果と今後の展開をまとめている。

以上の様に、本論文はカーボンドットの合成と評価、及び癌細胞の治療に向けたドラッグデリバリーとしての評価結果について論じたものであり、7編の審査有論文としてまとめられている。得られた結果はカーボンドット合成とそのドラッグデリバリー応用としての基礎研究としての価値が高く、本論文は博士(工学)の学位論文として十分価値あるものと認められる。