

# НАНОЧАСТИЦЫ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ

*Касьянова В. В., Бажукова И. Н.*

Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

[ValentinaKasianova@yandex.ru](mailto:ValentinaKasianova@yandex.ru), [i.n.sedunova@urfu.ru](mailto:i.n.sedunova@urfu.ru)

**Аннотация.** Согласно последним исследованиям, окислительный стресс, возникающий вследствие избыточного накопления активных форм кислорода (АФК) в организме, способствует возникновению различного рода патологий. Одним из методов уменьшения уровня АФК является использование экзогенных веществ, обладающих антиоксидантными свойствами. В данной работе была исследована возможность использования наночастиц диоксида церия в качестве такого внешнего антиоксиданта. Антиоксидантные свойства наночастиц были рассмотрены с точки зрения их способности выполнять функции фермента каталазы, ингибирующего пероксид водорода. Каталазаподобная активность наночастиц  $\text{CeO}_2$ , а также влияние на нее метода синтеза и свойств среды было исследовано методами оптической спектроскопии.

**Ключевые слова:** наночастицы диоксида церия, окислительный стресс, антиоксидант, мальтодекстрин, каталаза, ферментоподобная активность.

## CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES AS POTENTIAL EXTERNAL ANTIOXIDANTS

*Kasyanova V. V., Bajukova I. N.*

Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia

[ValentinaKasianova@yandex.ru](mailto:ValentinaKasianova@yandex.ru), [i.n.sedunova@urfu.ru](mailto:i.n.sedunova@urfu.ru)

**Abstract.** According to the recent research oxidative stress, resulting from the excess of the reactive oxygen species (ROS) in the body, contributes to the development of the various pathologies. One of the methods for reducing the level of ROS is the use of the exogenous substances with antioxidant properties. The possibility of use the cerium dioxide nanoparticles as such an external antioxidant was investigated in this study. Antioxidant properties of nanoparticles were considered in terms of their ability to perform the functions of catalase and inhibit the hydrogen peroxide. The catalase-like activity of the  $\text{CeO}_2$  nanoparticles, as well as the influence of the synthesis method and the properties of the surrounding on it, were investigated by optical spectroscopy.

**Key words** cerium dioxide nanoparticles, oxidative stress, antioxidant, maltodextrin, catalase, enzyme-like activity.

## **ВВЕДЕНИЕ**

В настоящее время все большее внимание в медицине уделяется проблеме повышения общего уровня здоровья людей и обеспечения их долголетия. Первостепенной задачей при этом является борьба с окислительным стрессом (ОС), вызываемым избыточным образованием активных форм кислорода (АФК) в организме, поскольку было показано, что именно он ответственен за старение организма и развитие многих нейродегенеративных, кардиологических и других заболеваний [1]. Одним из возможных методов решения данной проблемы является использование экзогенных веществ, способных выполнять функции естественных антиоксидантов или ферментов и предотвращать АФК-индуцируемое повреждение клеток.

Недавние исследования показали, что в качестве таких внешних антиоксидантов могут использоваться наночастицы диоксида церия [2]. Благодаря наличию в их структуре смешанных валентных состояний  $\text{Ce}^{3+}$  и  $\text{Ce}^{4+}$  и кислородных вакансий они способны участвовать в биохимических окислительно-восстановительных процессах в клетке, в том числе с активными формами кислорода. Однако эффективность данных наночастиц в защите клеток от ОС в значительной степени зависит от метода их синтеза и используемого стабилизатора, поскольку именно они определяют свойства поверхности наночастиц.

Поэтому целью данной работы является исследование возможности использования наночастиц  $\text{CeO}_2$  в качестве лекарственных средств для защиты клеток от окислительного стресса, а также определение влияния на их активность метода синтеза и свойств среды. Для этого была исследована способность данных наночастиц выполнять функции фермента каталазы, катализирующего реакцию разложения пероксида водорода.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В настоящей работе наночастицы диоксида церия были получены методом химического осаждения из раствора соли хлорида гептагидрата церия (III). В качестве стабилизатора при синтезе был использован нетоксичный биосовместимый мальтодекстрин, позволяющий получать нетоксичные агрегативно-устойчивые золи наночастиц, пригодные для применения в биомедицинской практике. Для определения влияния метода синтеза наночастиц на их ферментоподобную активность были также исследованы наночастицы

$\text{CeO}_2$ , полученные методом импульсного электронного испарения керамической оксидной мишени с конденсацией паров испаряемого материала в газе низкого давления на установке НАНОБИМ-2 (физический метод получения) [3].

Исследование антиоксидантной активности данных наночастиц было проведено методом оптической спектроскопии с использованием спектрофотометра Helios Alpha 9423UVA1002E. Регистрация спектров поглощения проводилась в диапазоне длин волн от 190 до 600 нм.

Для измерения спектров оптического поглощения были использованы суспензии наночастиц, приготовленные путем диспергирования нанопорошка в дистиллированной воде с концентрацией 200 мкг/мл. С целью увеличения эффективности диспергирования и предотвращения агрегации наночастиц полученные суспензии были подвержены ультразвуковой обработке в течение 40 минут. Стабильность полученных суспензий оценивалась путем анализа изменения поглощения суспензии наночастиц при  $\lambda = 380$  нм в течение 1 часа.

Каталазаподобная активность наночастиц была исследована при добавлении 20 мкл 3% раствора пероксида водорода в 1 мл суспензии наночастиц и последующем измерении спектров их оптического поглощения. Для анализа изменений, возникающих в спектрах поглощения после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$ , был измерен сдвиг полосы поглощения при оптической плотности 0,3.

Для определения влияния параметров среды на ферментоподобную активность наночастиц рН суспензии было изменено до 3 и 9 и далее были измерены спектры их оптического поглощения до и после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$  и рассчитаны разностные спектры. Изменение рН суспензии проводили добавлением концентрированного раствора лимонной кислоты или гидроксида натрия. Точное значение рН определяли при помощи рН-метра ИПЛ-301.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Использование наночастиц диоксида церия для защиты клеток от окислительного стресса требует глубокого понимания механизма их каталитической активности. На сегодняшний день было предложено несколько возможных реакций взаимодействия наночастиц  $\text{CeO}_2$  с АФК, однако единой точки зрения мнения на данный вопрос не существует и точный механизм их активности остается неясным. Для решения данной проблемы в настоящей работе были проанализированы спектры оптического поглощения суспензии наночастиц до и после добавления в нее  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

На рисунке 1 приведены спектры оптического поглощения суспензии наночастиц  $\text{CeO}_2$ , синтезированных химическим методом, измеренные

непосредственно перед, а также сразу же, через 5 и через 30 минут после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$  в суспензию.

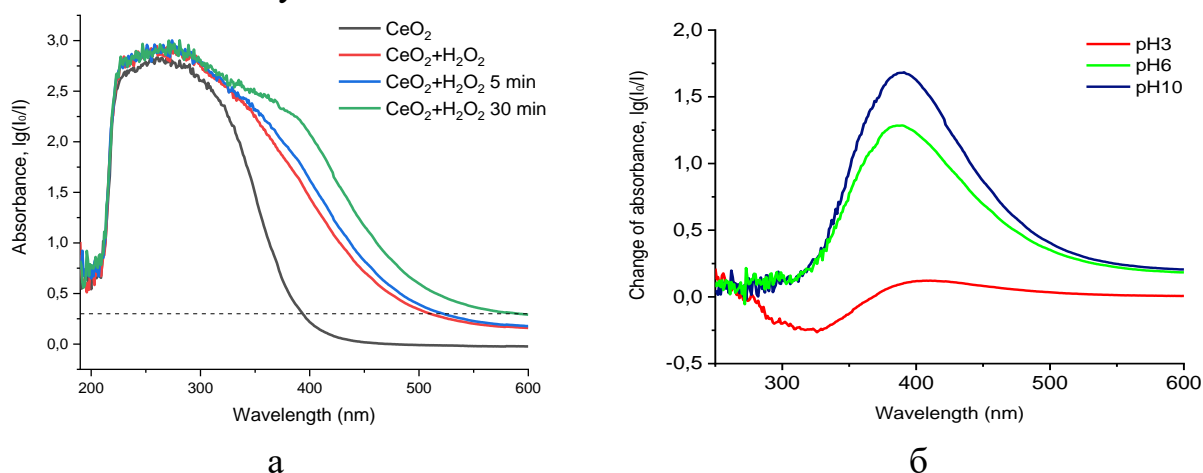


Рисунок 1 – Спектры оптического поглощения суспензии химических наночастиц  $\text{CeO}_2$  до и после добавления пероксида водорода (а) и разностные спектры наночастиц  $\text{CeO}_2$  при pH 3, 6 и 9 (б)

Согласно полученным спектрам добавление  $\text{H}_2\text{O}_2$  к суспензии наночастиц приводит к смещению края поглощения в область больших длин волн. Для анализа данного смещения была измерена разность длин волн, соответствующих оптической плотности 0,3, до и после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$  (таблица).

Таблица 1 – Изменение  $\Delta\lambda$ , соответствующей  $D=0,3$ , до и после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$

Время после добавления $\text{H}_2\text{O}_2$ , мин	0	5	30
$\Delta\lambda$ , нм	117	129	198

Как известно [15], положение края поглощения наночастиц  $\text{CeO}_2$ , содержащих смешанные валентные состояния  $\text{Ce}^{3+}$  и  $\text{Ce}^{4+}$  связано с величиной валентного соотношения  $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ . При этом сообщается [4], что красное смещение полосы поглощения связано с образованием на поверхности наночастиц ионов Ce в состоянии  $4+$  в результате взаимодействия  $\text{H}_2\text{O}_2$  с ионами  $\text{Ce}^{3+}$ .

Однако согласно работе [5] валентное состояние ионов Ce в свежеприготовленных  $\text{CeO}_2$  до и после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$  в основном составляет  $4+$ . Поэтому наблюдаемое красное смещение спектров вероятнее всего связано с формированием на поверхности наночастиц адсорбированных форм кислорода в результате взаимодействия наночастиц и  $\text{H}_2\text{O}_2$  [4].

Дополнительным подтверждением увеличения доли ионов  $\text{Ce}^{4+}$  является изменение окраски суспензии наночастиц от бледно- до ярко-желтой после введения в нее пероксида водорода, поскольку ионы  $\text{Ce}^{4+}$  поглощают излучение в данной области. Однако изменение окраски также может быть связано и с образованием координированных форм пероксида. При этом изменение окраски

происходило практически мгновенно после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$ , что указывает на быструю скорость процессов взаимодействия наночастиц с данной АФК.

Влияние pH среды на активность наночастиц  $\text{CeO}_2$

Изменение параметров среды, в которой находятся наночастицы, может приводить к модификации химических свойств их поверхности, а, следовательно, изменению их биологической активности. Поэтому важной задачей является исследование влияния свойств среды на активность наночастиц.

Для анализа влияния pH среды на свойства наночастиц были измерены спектры оптического поглощения суспензий наночастиц с pH 3, 6 и 9 до и после добавления  $\text{H}_2\text{O}_2$  и рассчитаны их разностные спектры (рисунок 1б). Можно видеть, что при pH 6 и 9 добавление  $\text{H}_2\text{O}_2$  к суспензии наночастиц приводит к увеличению интенсивности поглощения в диапазоне 350-500 нм, что может свидетельствовать о том, что в щелочной и нейтральной средах наночастицы  $\text{CeO}_2$  проявляют каталазаподобную активность, и при этом реакции их взаимодействия с  $\text{H}_2\text{O}_2$  аналогичны. Следует отметить, что интенсивность поглощения оказалась выше для щелочной среды, что говорит о более высокой активности наночастиц в данной среде.

Однако разностный спектр, полученный для среды с pH 3 имеет совершенно иную форму. Введение  $\text{H}_2\text{O}_2$  в суспензию наночастиц в данных условиях приводит к уменьшению поглощения в диапазоне 250-370 нм и незначительному увеличению в области выше 370 нм. Это может быть связано с уменьшением концентрации ионов церия  $\text{Ce}^{3+}$ , которые поглощают излучение в области меньше 320 нм. Ингибирование разложения  $\text{H}_2\text{O}_2$  в присутствии избыточного количества ионов  $\text{H}^+$  связывают с замедлением процесса восстановления  $\text{Ce}^{4+}$  в присутствии дополнительных ионов  $\text{H}^+$  [4]. О снижении интенсивности взаимодействия наночастиц с пероксидом водорода свидетельствует также уменьшение степени окрашивания суспензии при введении  $\text{H}_2\text{O}_2$  в кислой среде по сравнению с окраской суспензии в нейтральной и щелочной средах.

Влияние метода синтеза на ферментоподобную активность наночастиц

Для исследования влияния методики синтеза наночастиц на их свойства и активность в данной работе был проведен сравнительный анализ ферментоподобных свойств наночастиц  $\text{CeO}_2$ , синтезированных физическим и химическим методами. Для этого были проанализировали спектры суспензий данных наночастиц до и после добавления пероксида водорода. Сравнение относительного изменения поглощения суспензий наночастиц  $\text{CeO}_2$  показано на рисунке 2.

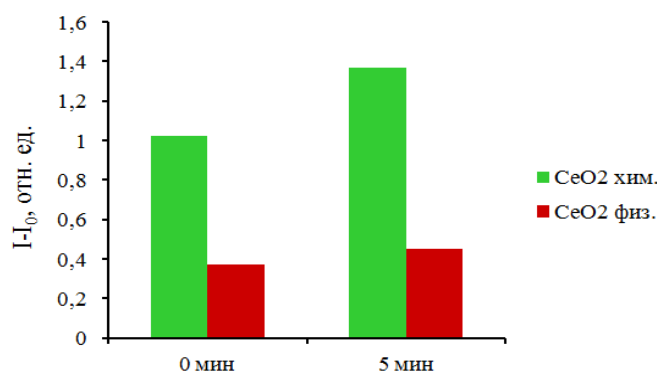


Рисунок 2 – Относительное изменение поглощения суспензий наночастиц CeO<sub>2</sub>, синтезированных разными методами

Согласно графику, представленному на рисунке 2, относительное изменение поглощения у химически полученных наночастиц существенно выше. Таким образом, вследствие более выраженных оптических характеристик, они более активно вступают в реакцию с пероксидом водорода и проявляют более высокую ферментоподобную активность.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты работы показывают возможность использования наночастиц диоксида церия в качестве экзогенных антиоксидантов для защиты организма от окислительного стресса. Было показано, что каталазаподобная активность наночастиц выше в щелочной среде, а в кислой среде наночастицы не проявляют данной активности. Сравнительный анализ ферментоподобной активности порошков наночастиц диоксида церия, синтезированных физическим и химическим методами, показал большую эффективность второго в ингибировании активных форм кислорода. Данный факт подтверждает первостепенную роль методов синтеза в биологической активности наночастиц.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance // Trends in Plant Sci. 2002. V. 7. № 9. P. 405-410.
2. Ceria Nanoparticles as Enzyme Mimetics / G. Wang, J. Zhang, X. He, Z. Zhang, Y. Zhao // Chinese Journal of Chemistry. 2017. V. 35(6).
3. Соковнин С.Ю., Ильвес В.Г. Применение импульсного электронного пучка для получения нанопорошков некоторых оксидов металлов. Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2011 318 с.
4. Damatov D., Mayer J.M., (Hydro)peroxide ligands on colloidal cerium oxide nanoparticles // Chem. Commun. 2016. V. 52. P. 10281–10284.

5. Engineering the defect state and reducibility of ceria based nanoparticles for improved anti-oxidation performance / Y.J. Wang, H. Dong, G.M. Lyu et al. // *Nanoscale*. 2015. V. 7. P. 13981-13990.