Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
Федеральное государственное
бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тверской государственный университет»

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ИЗУЧЕНИЯ КЛАСТЕРОВ,
НАНОСТРУКТУР
И НАНОМАТЕРИАЛОВ**

МЕЖВУЗОВСКИЙ СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

выпуск 10

ТВЕРЬ 2018

УДК 620.22:544+621.3.049.77+539.216.2:537.311.322: 530.145

ББК Ж36:Г5+В379

Ф50

Рецензирование статей осуществляется на основании Положения о рецензировании статей и материалов для опубликования в Межвузовском сборнике научных трудов «Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов».

Официальный сайт издания в сети Интернет:

www.physchemaspects.ru

Ф50 Физико-химические аспекты изучения кластеров, наноструктур и наноматериалов [Текст]: межвуз. сб. науч. тр. / под общей редакцией В.М. Самсонова, Н.Ю. Сдобнякова. – Тверь: Твер. гос. ун-т, 2018. – Вып. 10. – 708 с.

ISBN 978-5-7609-1395-1

Зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации СМИ ПИ № ФС 7747789 от 13.12.2011.

Сборник составлен из оригинальных статей теоретического и экспериментального характера, отражающих результаты исследований в области изучения физико-химических процессов с участием кластеров, наноструктур и наноматериалов физики, включая межфазные явления и нанотермодинамику. Сборник предназначен для научных и инженерно-технических работников, преподавателей ВУЗов, студентов и аспирантов. Издание подготовлено на кафедре общей физики Тверского государственного университета.

УДК 620.22:544+621.3.049.77+539.216.2:537.311.322: 530.145

ББК Ж36:Г5+В379

ISBN 978-5-7609-1395-1

ISSN 2226-4442

© Коллектив авторов, 2018

© Тверской государственной
университет, 2018

УДК 537.621:615.014.6

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ

Р.А. Вазиров¹, С.Ю. Соковнин^{1,2}, В.Г. Ильвес²

¹ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет
имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»
620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19

²ФГБУН «Институт электрофизики УрО РАН»
620016, Екатеринбург, ул. Амундсена, 106

ruslan.vazirov@urfu.ru, sokovnin@iep.uran.ru, ilves@iep.uran.ru

DOI: 10.26456/pcascnn/2018.10.196

Аннотация: Исследования биологической активности наночастиц диоксида церия показывают, что это соединение проявляет антиоксидантные, противоопухолевые, антибактериальные и противовирусные свойства. Наночастицы диоксида церия были получены методом импульсного электронного испарения мишени в газе низкого давления с удельной поверхностью ~ 190 м²/г. Для определения ферментоподобной активности наночастиц диоксида церия проводился химический анализ взаимодействия с перекисью водорода. Результаты показывают активное ингибирование активных форм кислорода при pH выше 6.

Ключевые слова: нанопорошок, наночастицы, суспензия, диоксид церия, активные формы кислорода, антиоксидант.

1. Введение

Наночастицы диоксида церия (НЧДЦ) представляют собой перспективный объект для различных биомедицинских приложений. Многочисленные исследования показывают, что это соединение проявляет антиоксидантные, противоопухолевые [1], антибактериальные [2] и противовирусные свойства, что свидетельствует о перспективах его использования в фармацевтике [3]. Значительный интерес к изучению данного объекта обусловлен тем, что при переходе в наноразмерное состояние возникает кислородная нестехиометрия и на поверхности наночастицы ионы Ce^{4+} восстанавливаются до состояния Ce^{3+} . Подобная кислородная нестехиометрия коррелирует с каталитической активностью НЧДЦ и, как предполагается, отвечает за их уникальную биологическую активность. [4].

АФК вносят существенный вклад в гибель клеток от радиации. НЧДЦ способны выполнять каталазную функцию по ингибированию АФК. Одним из основных активных форм кислорода (АФК), возникающим в результате взаимодействия ионизирующего излучения с веществом является перекись водорода (H_2O_2). Ферментоподобный механизм действия НЧДЦ может быть представлен в виде химической деградации H_2O_2 [3].

Процесс протекает в несколько этапов, в результате чего происходит

окисление диоксида церия с последующей регенерацией в исходное состояние. В качестве промежуточного продукта в водном растворе НЧДЦ при $pH > 7$ образуется моноперокситригидроксид церия, который затем разлагается до исходного состояния [3]. Образующейся соединении можно зарегистрировать, измеряя поглощение суспензии на длине волны 380 нм.

Следует отметить, что метод получения наночастиц оказывает значительное влияние на их физико-химические свойства. Полученные нанопорошков на установке НАНОБИМ-2 [5] позволяет получать наночастицы с высокой удельной поверхностью, с образованием большого количества дефектов в кристаллической решетке наночастиц [6]. При этом радиационные дефекты, образующиеся при облучении тормозным излучением испаряющего пучка электронов, увеличивают содержание дефектов в материале. Дополнительной особенностью данного метода является получение мезапористых нанопорошков, что позволяет их использовать для доставки лекарств [7]. Настоящая работа посвящена исследованию ферментоподобной активности по ингибированию АФК НЧДЦ, полученных методом импульсного электронного испарения.

2. Описание эксперимента

НЧДЦ были получены путем импульсного испарения мишени электронным пучком в газе низкого давления на установке НАНОБИМ-2 [5]. Определяющим фактором, повышающим биологическую активность нанопорошков является дефектность кристаллической решетки. Большое количество дефектов в кристаллической решетке НЧДЦ приводит к образованию кислородных вакансий и наличию различных ионов в кристаллической решетке, в результате НЧДЦ активно участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. Полученные НЧДЦ имеют распределение размер зерен от 3 до 5 нм, удельная поверхность агломератов составляют $190 \text{ м}^2/\text{г}$ [6].

Для стабилизации НЧДЦ использовали цитрат натрия $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ в соотношении 1:1 и озвучивалась в ультразвуковой ванне ПСБ-Галс в течении 20 минут периодически нагревая суспензию до 90°C . Измерения размеров агломератов НЧДЦ, индекса полидисперсности и Z потенциала проводились на системе Zetasizer Nano ZS (Malvern) при помощи динамического светорассеяния. Для анализа ферментоподобной активности проводились измерения оптической плотности суспензий НЧДЦ с концентрацией 200 мкг/мл после добавления перекиси водорода в диапазоне 220–600 нм и динамическое изменение оптической плотности на длине волны 380 нм. На спектрофотометре ThermoFisher Science Helios α и ПЭ-5300 Экросхим. Для изменения pH в среду добавляли лимонную кислоту и гидроксид натрия. Контроль кислотности среды производилось

pH метром KELILONG PH-009. В среду добавляли НЧДЦ и переливали 1 мл в кюветы, далее образцы измерялись на спектрофотометрах.

Измерение спектров проводилось в кювете Eppendorf UVetteroutinepack через окно 10 мм, с проницаемостью в диапазоне 220–1600 нм. После измерения оптической плотности суспензии в кювету добавлялось 20 мкл перекиси водорода и измерения повторялись. Измерения проводились сразу после добавления перекиси водорода, через 5, 30, 60 и 120 минут. Из полученных спектров вычитались спектры поглощения образцов до добавления перекиси водорода.

3. Результаты и их анализ

На рис. 1 представлены результаты, полученные методом динамического светорассеяния. Диаметр агломератов НЧДЦ составил 153 нм, при этом индекс полидисперсности составлял 0,2, что подтверждает однородность распределения по размерам агломератов. Измеренный *Z* потенциал наночастиц, стабилизированных цитратом натрия, составлял –47 мВ. Высокое абсолютное значение *Z* потенциала НЧДЦ характеризует удовлетворительную стабильность агломератов в суспензии [8].

Рис. 1. Распределение размеров агломератов наночастиц диоксида церия стабилизированного цитратом натрия в суспензии с концентрацией 200 мкг/мл.

Цитрат натрия в качестве стабилизатора обеспечивает отрицательное значение *Z* потенциала НЧДЦ, предотвращая слипание наночастиц белками и облегчает их перенос в клетку и способность непосредственно воздействовать на внутри клеточную среду [9]. Поверхностный заряд частиц и особенно *pH* биологической среды являются наиболее важными факторами для фармакокинетики НЧДЦ. Полученные результаты подтверждают возможность того, что НЧДЦ могут проникать во

внутриклеточную среду здоровых и раковых клеток.

Полученные спектры на рис. 2-3 поглощения суспензий НЧДЦ позволяют оценить протекающие химические реакции в образцах. У всех образцов наблюдается изменение поглощения в диапазоне 360–390 нм. При добавлении перекиси водорода поглощение в этом диапазоне увеличивается за счет увеличения концентрации темного кристалла моноперокситригидрата церия. При этом максимальное поглощение наблюдается в образцах с щелочной средой (см. рис. 3). Кроме того, в более щелочной среде реакция протекает на всем наблюдаемом промежутку времени, в то время как в кислой реакция замедляется уже через час.

Рис. 2. Спектр поглощения суспензии НЧДЦ: сразу после добавления 20 мкл перекиси водорода (t_1), через 5 минут (t_2), через 30 минут (t_3), через 60 минут (t_4) и через 120 минут (t_5): а – $pH = 4$, б – $pH = 5$.

Рис. 3. Спектр поглощения суспензии НЧДЦ сразу после добавления 20 мкл перекиси водорода (t_1), через 5 минут (t_2), через 30 минут (t_3), через 60 минут (t_4) и через 120 минут (t_5): а – $pH = 6$, б – $pH = 8$.

Спектры поглощения в образцах с $pH=4$ и $pH=5$ (см. рис. 2) показывают снижение поглощения в диапазоне 300–320 нм. Поглощение в этом диапазоне определяется кислородной нестехиометрия и ионами Ce^{3+} . Уменьшения поглощения может быть вызвано тем, что в кислой среде ионы церия не восстанавливаются до трехвалентного состояния. Кроме того, в обоих образцах наблюдается уменьшение поглощения при длине волны 380 нм в течение интервала времени 120 минут (см. рис. 4 а).

Рис. 4. а – динамика изменения оптической плотности 200 мкг/мл суспензии НЧДЦ (длина волны 380 нм) в зависимости от pH раствора при добавлении 20 мкл перекиси водорода, б – зависимость каталитической активности суспензии НЧДЦ от кислотности среды.

Из рис. 4 а видно, что реакция протекает в несколько этапов с образованием и распадом моноперокситригидрата церия. В щелочной среде наблюдается большой рост концентрации кристалла во всем промежутке времени. Однако в среде с pH менее 5 концентрация кристалла снижается через 60 минут после добавления перекиси водорода. Полученные результаты показывают значительное увеличение скорости ингибирования АФК в среде с pH более 7. В средах с $pH=4$ и $pH=5$ реакция протекает значительно медленнее и со временем полностью останавливается.

На рис. 4 б показана зависимость протекания реакции ингибирования АФК от pH . Указанные значения определены как разница между площадью под пиком 380 нм суспензий НЧДЦ через 5 и 30 минут после и до добавления перекиси водорода в суспензию.

4. Выводы

Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что НЧДЦ обладают ферментоподобными свойствами ингибирования АФК [3]. Установлено, что активность ингибирования АФК зависит от

кислотности среды. При этом зависимость не линейная и подобна активации ингибирования АФК при $pH > 6$.

Полученные физическим методом НЧДЦ обладают высокой химической активностью по сравнению с химически полученными частицами [10], что объясняется малым размером зерен и высокой пористостью нанопорошков. Однако стабилизация наночастиц полученных физическим методом усложняется. Дальнейшее совершенствование методов стабилизации НЧДЦ приведет к достижению меньших размеров агломератов и получению более биологически и химически активных частиц.

Впервые установлено, что уменьшается оптическое поглощение в диапазоне 300–320 нм суспензий НЧДЦ после добавления перекиси водорода при $pH < 5$. Это может быть вызвано тем, что в кислой среде церий не восстанавливается до трехвалентного иона, а переходит в 4 валентное состояние.

Полученные результаты размеров агломератов и Z потенциала подтверждают возможность проникновения НЧДЦ через мембрану клеток и влиять на составляющие клеток.

Таким образом, за счет управления дефектами и свойствами НЧДЦ, возможно изменять его биологическую активность для решения широкого спектра задач, в том числе сочетанного воздействия на биологические объекты с другими физико-химическими факторами.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № 0389-2014-0005 и при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-08-00514).

Библиографический список:

1. **Vazirov, R.** Radiomodification of cell cultures of line Hela by cerium oxide nanoparticles to X-ray irradiation / R. Vazirov, S. Sokovnin, M. Ulitko // Radiation and Applications. – 2017. – V. 2. – I. 2. – P. 139-141.
2. **Жолобак, Н.М.** Антивирусное действие наночастиц оксида церия, стабилизированных низкомолекулярной полиакриловой кислотой / Н.М. Жолобак, З.М. Олевинская, Н.Я. Спивак и др. // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т. 72. – № 3. – С. 42-47.
3. **Щербаков, А.Б.** Наноматериалы на основе диоксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине / А.Б. Щербаков, Н.М. Жолобак, В.К. Иванов, Ю.Д. Третьяков, Н.Я. Спивак // Biotechnologia Acta. – 2011. – Т. 4. – № 1. – С. 9-28.
4. **Heckert, E.G.** The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria / E.G. Heckert, A.S. Karakoti, S. Seal, W.T. Self // Biomaterials. – 2008. – V. 29. – I. 18. – P. 2705–2709
5. **Sokovnin, S.Yu.** Production of nanopowders using pulsed electron beam / S.Yu. Sokovnin, V.G. Il'ves // Ferroelectrics. – 2012. – V. 436. – I. 1. – P. 101-107.

6. **Ilves, V.G.** Production and studies of properties of nanopowders on the basis of CeO_2 / V.G. Ilves, S.Yu. Sokovnin // *Nanotechnologies in Russia*. – 2012. – V. 7. – I. 5-6. –P. 213-226.
7. **Zhang, Y.** Dual-responsive dithio-polydopamine coated porous CeO_2 nanorods for targeted and synergistic drug delivery / Y. Zhang, W. Xiaowen // *International Journal of International Journal of Nanomedicine*. – 2018. – V. 13. – P. 2161-2173.
8. **Patil, S.D.** Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential / S.D. Patil, A. Sandberg, E.G. Heckert, W.T. Self, S. Seal // *Biomaterials*. – 2007. – V. 28 – I. 31. – P. 4600-4607.
9. **Suh, W.H.** Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience / W.H. Suh, K.S. Suslick, G.D. Stucky, Y.H. Suh // *Progress in Neurobiology*. – 2009. – V. 87. – I. 3. – P. 133-170.
10. **Иванов, В.К.** Нанокристаллический диоксид церия: свойства, получение, применение / В.К. Иванов, А.Б. Щербakov, А.Е. Баранчиков, В.В. Козик. – Томск: Издательство Томского университета, 2013. – 284 с.

References:

1. **Vazirov, R.** Radiomodification of cell cultures of line Hela by cerium oxide nanoparticles to X-ray irradiation / R. Vazirov, S. Sokovnin, M. Ulitko // *Radiation and Applications*. – 2017. – V. 2. – I. 2. – P. 139-141.
2. **Zholobak, N.M.** Antivirusnoe dejstvie nanochastic oksida ceriya, stabilizirovannyh nizkomolekulyarnoj poliakrilovoj kislotoj / N.M. Zholobak, Z.M. Olevinskaya, N.Ya. Spivak i dr. // *Mikrobiologichnij zhurnal*. – 2010. – V. 72. – no. 3. – P. 42-47.
3. **Shcherbakov, A.B.** Nanomaterialy na osnove dioksida ceriya: svoystva i perspektivy ispol'zovaniya v biologii i medicine / A.B. Shcherbakov, N.M. Zholobak, V.K. Ivanov, Yu.D. Tret'yakov, N.Ya. Spivak // *Biotechnologia Acta*. – 2011. – V. 4. – I. 1. – P. 9-28.
4. **Heckert, E.G.** The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanoceria / E.G. Heckert, A.S. Karakoti, S. Seal, W.T. Self // *Biomaterials*. – 2008. – V. 29. – I. 18. – P. 2705–2709
5. **Sokovnin, S.Yu.** Production of nanopowders using pulsed electron beam / S.Yu. Sokovnin, V.G. Il'ves // *Ferroelectrics*. – 2012. – V. 436. – I. 1. – P. 101-107.
6. **Ilves, V.G.** Production and studies of properties of nanopowders on the basis of CeO_2 / V.G. Ilves, S.Yu. Sokovnin // *Nanotechnologies in Russia*. – 2012. – V. 7. – I. 5-6. –P. 213-226.
7. **Zhang, Y.** Dual-responsive dithio-polydopamine coated porous CeO_2 nanorods for targeted and synergistic drug delivery / Y. Zhang, W. Xiaowen // *International Journal of International Journal of Nanomedicine*. – 2018. – V. 13. – P. 2161-2173.
8. **Patil, S.D.** Protein adsorption and cellular uptake of cerium oxide nanoparticles as a function of zeta potential / S.D. Patil, A. Sandberg, E.G. Heckert, W.T. Self, S. Seal // *Biomaterials*. – 2007. – V. 28 – I. 31. – P. 4600-4607.
9. **Suh, W.H.** Nanotechnology, nanotoxicology, and neuroscience / W.H. Suh, K.S. Suslick, G.D. Stucky, Y.H. Suh // *Progress in Neurobiology*. – 2009. – V. 87. – I. 3. – P. 133-170.
10. **Ivanov, V.K.** Nanokristallicheskiy dioksid ceriya: svoystva, poluchenie, primenenie / V.K. Ivanov, A.B. Shcherbakov, A.E. Baranchikov, V.V. Kozik. – Tomsk: Izdatel'stvo Tomskogo universiteta, 2013. – 284 p.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES

R.A. Vazirov¹, S.Yu. Sokovnin^{1,2}, V.G. Ilves²

¹ Ural Federal University named after the First President of Russia B. N. Yeltsin

² Institute of Electrophysics of the Ural Branch of RAS

DOI: 10.26456/pcascnn/2018.10.196

Abstract: Studies of biological activity of cerium dioxide nanoparticles show that this compound exhibits antioxidant, antitumor, antibacterial and antiviral properties. The cerium dioxide nanoparticles were obtained by evaporation of a target by a pulsed electron beam in a low-pressure gas with a specific surface area of 190 m²/g. To determine the enzyme-like activity of cerium dioxide nanoparticles, chemical analysis of interaction with the hydrogen peroxide was carried out. The results show an active inhibition of reactive oxygen species at *pH* above 6.

Keywords: *nanopowder, nanoparticles, suspension, cerium dioxide, reactive oxygen species, antioxidant.*

Вазиров Руслан Альбертович – младший научный сотрудник кафедры экспериментальной физики физико-технологического института ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Ильвес Владислав Генрихович – к.т.н., старший научный сотрудник группы электрофизических технологий ФГБУН «Институт электрофизики Уральского отделения Российской академии наук»

Соковнин Сергей Юрьевич – д.т.н., профессор ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», ведущий научный сотрудник, руководитель группы электрофизических технологий ФГБУН «Институт электрофизики Уральского отделения Российской академии наук»

Ruslan A. Vazirov – Junior Researcher, Department of Experimental Physics, Physics and Technology Institute Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin

Vladislav G. Ilves – Ph. D., Senior Researcher, Group of Electrophysical Technologies, Institute of Electrophysics of the Ural Branch of RAS

Sergey Yu. Sokovnin – Dr. Sc., Professor, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Leading Researcher, Head of the Group of Electrophysical Technologies, Institute of Electrophysics of the Ural Branch of RAS