

МУЛЬТИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАНОЗИМЫ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦЕРИЯ

Н. Ю. Офицерова, И. Н. Бажукова, А. В. Мышкина

*Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина,
Екатеринбург, Россия*

Исследования наночастиц оксида церия показывают, что они проявляют мультиферментативную активность. Зафиксировано проявление наночастицами как антиоксидантных, так и прооксидантных свойств, соответственно, в разных условиях наночастицы могут как защищать организм от окислительного стресса, вызванного активными формами кислорода, так и вызывать его. В работе приведен обзор физико-химических свойств, обуславливающих высокую биологическую активность наночастиц оксида церия, рассмотрена ферментоподобная активность и факторы, которые оказывают на нее влияние. Приведены результаты исследования мультиферментативной активности наночастиц оксида церия, стабилизированных мальтодекстрином.

Ключевые слова: наночастицы оксида церия; нанозимы, активные формы кислорода; окислительный стресс; антиоксидант; прооксидант; ферментоподобная активность.

1. Введение

Нанотехнологии и наноматериалы считаются основой современного научно-технического прогресса и общества. Их разработкой и использованием занимаются многие страны мира. Нанокристаллический оксид церия включен в десятку приоритетных материалов экспертами межведомственной программы по корректному управлению химическими препаратами (Inter-Organization Programme for the Sound Management of Chemicals, IOMC) и организации экономической кооперации и развития (Organization for Economic Cooperation and Development, OECD). Он является перспективным материалом, нашедшим применение как в современных высокотехнологичных отраслях промышленности, так и в медико-биологической отрасли [1–5].

В настоящее время большое внимание уделяется возможности использования нанокристаллического оксида церия в биомедицинских целях. Перспективы применения CeO_2 в биомедицине, такие как биовизуализация, антиоксидантная терапия, адресная доставка лекарств, тераностика онкологических заболеваний, создание хемо- и биосенсоров, обусловлены его уникальными физико-химическими свойствами: валентным соотношением $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхности частиц, оптическими характеристиками, размером и формой частиц. В частности, интерес для изучения представляет антиоксидантный потенциал наночастиц оксида церия, так как задаче защиты организма от окислительного стресса, являющегося причиной нейродегенеративных (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, деменция), кардиологических и других заболеваний, хронических воспалений, уделяется в настоящее время большое внимание [6]. Благодаря своим уникальным свойствам, наночастицы CeO_2 способны выполнять функции ферментов и неферментативных компонентов естественной антиоксидантной

системы организма, тем самым предотвращая повреждающее действие активных форм кислорода (АФК).

Необходимо отметить, что, согласно исследованиям, наночастицы CeO_2 проявляют мультиферментативную активность, выполняя функции различных ферментов: супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, оксидазы [1–4]. Так, наряду с исследованиями, демонстрирующими способность наночастиц CeO_2 ингибировать активные формы кислорода и защищать клетки от повреждения, существуют работы, в которых были зафиксированы прооксидантные эффекты влияния наночастиц в результате сильного окислительного стресса [7]. Кроме того, некоторые исследования свидетельствуют о том, что наночастицы CeO_2 могут быть каталитически неактивными по отношению к клеткам [8]. В литературе встречаются противоречивые данные, поэтому мультиферментативная активность наночастиц CeO_2 и закономерности, связывающие биологическую активность наночастиц с их физико-химическими свойствами, требуют более тщательного изучения.

Возможность применения наночастиц CeO_2 в биологических системах обусловлена их окислительно-восстановительными свойствами, низкой токсичностью и способностью к регенерации [4, 6]. Высокая биологическая активность нанокристаллического оксида церия связана в первую очередь со строением его кристаллической решетки. Церий – редкоземельный металл из группы лантаноидов, проявляющий степени окисления +3 и +4, соответствующие оксиды церия – Ce_2O_3 и CeO_2 . Кристаллическая решетка оксида церия CeO_2 представляет собой кубическую гранецентрированную решетку, каждый атом кислорода расположен в центре тетраэдра, вершинами которого являются четыре атома церия. С уменьшением размеров частиц, в отличие от многих веществ, для оксида церия наблюдается увеличение параметра элементарной ячейки кристаллической решетки. При переходе в нанокристаллическое состояние поверхностный атом кислорода покидает решетку и оставляет после себя два электрона, которые локализуются во внутренней оболочке двух ближайших атомов церия, осуществляя переход из Ce^{4+} в Ce^{3+} [9]. Ионный радиус Ce^{3+} (0,1143 Å) больше ионного радиуса Ce^{4+} (0,097 Å), что объясняет расширение кристаллической решетки.

Таким образом, образование кислородных вакансий в структуре нанокристаллического оксида церия CeO_{2-x} ведет к повышению доли атомов Ce^{3+} на поверхности частиц и увеличению кислородной нестехиометрии. Нанокристаллический оксид церия представляют собой структуру «ядро в оболочке», где ядром является близкий к стехиометричному оксид церия CeO_2 , а поверхность близка по составу к Ce_2O_3 . Иными словами, кислородная нестехиометрия увеличивается от центра к периферии [1, 2]. Такая структура обуславливает активность наночастиц оксида церия в окислительно-восстановительных процессах. Благодаря высокой кислородной нестехиометрии наночастицы способны связывать реакционные кислородсодержащие соединения и радикалы, губительные для живых систем.

Еще одной из наиболее значимых характеристик любого вещества, рассматриваемого с целью применения в биомедицинской практике, является его токсичность. Существует множество исследований, посвященных изучению токсичности наночастиц CeO_2 [1, 2]. В первую очередь токсичность наночастиц зависит от их размера. Для оксида церия существует несколько размерных диапазонов с точки зрения токсичности. При размере частиц менее 10 нм их токсичность резко уменьшается, что связано с резким увеличением кислородной нестехиометрии частиц и их восстановительной активностью.

Способ синтеза наночастиц также во многом определяет их токсичность: минимальная токсичность достигается при формировании наночастиц в мягких

условиях. Температура синтеза частиц выступает определяющим фактором биологической активности полученных наноматериалов и их токсичности: обработка наночастиц CeO_2 при высоких температурах ведет не только к потере антиоксидантной активности, но и к приобретению прооксидантных свойств. Различаются свойства полученных наночастиц одинаковой формы и размера в зависимости от прекурсоров. Например, осаждение из растворов Ce(IV) приводит к образованию более стехиометричных наночастиц по сравнению с образцами, синтезированными из солей Ce(III) [10]. Значительную роль играют стабилизаторы, используемые в процессе синтеза для предотвращения агрегации наночастиц; допанты, которыми легируют наночастицы для модификации степени окисления поверхности и увеличения числа кислородных вакансий; лиганды, которыми функционализируют поверхность наночастиц с целью их адресной доставки. Помимо изменения активности наночастиц в результате этих операций, используемые вещества сами по себе могут обладать определенной биологической активностью и проявлять цитотоксичность [1–4].

Следующий фактор, влияющий на токсичность наночастиц, – это заряд поверхности (или дзета-потенциал). Этот параметр определяет способность наночастиц агломерироваться в биологической среде, устойчивость при разных значениях pH, способность сорбироваться на границах раздела фаз и проникать через мембраны. При изучении влияния заряда поверхности наночастиц CeO_2 на их локализацию и токсичность было обнаружено, что положительно заряженные частицы имеют максимальную, а незаряженные – минимальную токсичность для нормальных клеток. Частицы с отрицательным зарядом поверхности малотоксичны для нормальных и токсичны для раковых клеток [1].

Значение pH среды в ходе накопления и активности наночастиц влияет не только на дзета-потенциал, но и на редокс-свойства наночастиц CeO_2 . Например, при пониженном значении pH наночастицы проявляют прооксидантные свойства, усиливают окислительный стресс и могут быть токсичными [1, 4]. На этом основаны перспективы применения наночастиц оксида церия в терапии онкологических заболеваний, так как внеклеточный pH опухолей понижен.

Большинство из факторов, влияющих на токсичность, оказывает воздействие на структурные особенности материала и, как следствие, окислительно-восстановительную активность, проявляемую наночастицами. Например, это изменение количества кислородных вакансий на поверхности, изменение соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$, а также возможность перехода между этими состояниями. Хотя многие исследования свидетельствуют о низкой токсичности наночастиц оксида церия, которая обеспечивает их сравнительную безопасность применения *in vivo*, есть и работы, в которых утверждается обратное [11]. Поэтому, как уже отмечалось, актуальным направлением является установление однозначных взаимосвязей между физико-химическими свойствами CeO_2 и вызываемыми ими биологическими эффектами.

Среди специфических свойств наночастиц CeO_2 , благодаря которым они проявляют высокую биологическую активность, следует отметить способность к регенерации. После участия в окислительно-восстановительном процессе наночастицы CeO_2 за небольшой промежуток времени возвращаются к своему исходному состоянию. Это выгодно отличает их от многих антиоксидантов (аскорбиновая кислота, токоферол, метионин), способных участвовать только в одном редокс-цикле, после чего происходит их инактивация.

Таким образом, в литературе встречается обширный спектр данных по окислительно-восстановительной активности наночастиц оксида церия, однако они носят фрагментарный, зачастую противоречивый характер. Мало внимания

уделяется систематизации данных о проявляемой мультиферментативной активности, поэтому данная тема требует более тщательного изучения. Цель настоящего исследования – изучение мультиферментативной активности наночастиц оксида церия, покрытых стабилизирующей мальтодекстриновой оболочкой.

2. Материалы и методы

В данной работе исследованы наночастицы оксида церия CeO_2 в мальтодекстриновой оболочке, которые были получены методом осаждения согласно методике, описанной в работе [12]. Мультиферментативную активность наночастиц оксида церия оценивали по их способности имитировать поведение ферментов каталазы, пероксидазы и оксидазы. Кроме того, проводилась оценка возможности наночастиц инактивировать гидроксильный радикал. Каталазную миметическую активность наночастиц CeO_2 исследовали путем измерения оптической плотности зольей наночастиц до и после добавления пероксида водорода H_2O_2 [13]. Для определения способности исследуемых наночастиц CeO_2 ингибировать гидроксильные радикалы было использовано свойство красителя метилового фиолетового (МФ) обесцвечиваться под действием $\text{OH}\cdot$ -радикалов [14]. Пероксидазную миметическую активность наночастиц определяли, используя буферный раствор, содержащий 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) и пероксид водорода H_2O_2 [14]. Оксидазную миметическую активность наночастиц оценивали по изменению спектров оптического поглощения раствора ТМБ после добавления наночастиц CeO_2 .

3. Результаты

На рис. 1 (а) представлены спектры оптического поглощения зольей наночастиц CeO_2 до и после добавления пероксида водорода H_2O_2 . Добавление к золю наночастиц пероксида водорода приводит к смещению края поглощения в область больших длин волн. Так как ионы Ce^{4+} поглощают излучение в области меньше 400 нм, увеличение поглощения в данной области можно объяснить образованием на поверхности наночастиц ионов Ce^{4+} в результате взаимодействия ионов Ce^{3+} с H_2O_2 [22]. Дополнительным подтверждением изменения валентного соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ в сторону увеличения доли ионов Ce^{4+} в процессах взаимодействия является изменение окраски золя наночастиц от бледно- до ярко-желтой после введения в него пероксида водорода. Появление желтой окраски золя в данном случае может быть обусловлено поглощением ионами Ce^{4+} излучения в данной области. При этом во время проведения эксперимента изменение окраски золя происходило практически мгновенно после добавления в нее H_2O_2 , что указывает на быструю скорость процессов взаимодействия наночастиц с данной АФК.

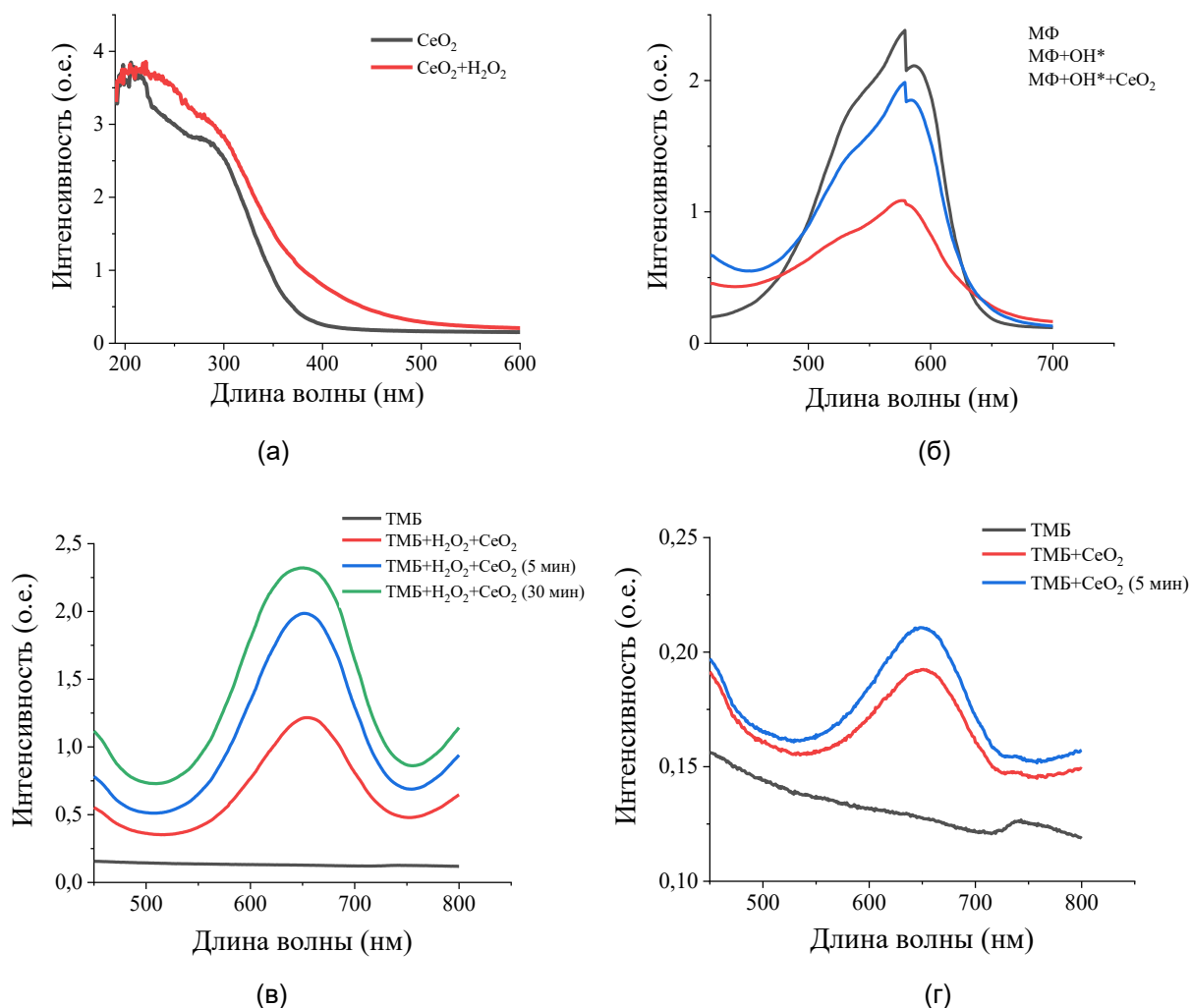


Рис. 1. Мультиферментативная и неферментативная антиоксидантная активность наночастиц оксида церия: (а) каталазная миметическая активность; (б) инактивация гидроксильного радикала; (в) пероксидазная миметическая активность; (г) оксидазная миметическая активность

Способность наночастиц CeO_2 инактивировать действие гидроксильных радикалов была исследована при помощи красителя метилового фиолетового, изменяющего интенсивность своей окраски при реакции с OH^\bullet -радикалами. В качестве источников гидроксильных радикалов были использованы растворы сульфата железа FeSO_4 и пероксида водорода H_2O_2 , которые, взаимодействуя по реакции Фентона, образуют OH^\bullet -радикалы. Генерация гидроксильных радикалов OH^\bullet в растворе приводит к его интенсивному обесцвечиванию. Добавление наночастиц CeO_2 к этому раствору замедляет его обесцвечивание (рис. 1, б). Следовательно, можно сделать вывод, что наночастицы CeO_2 способны ингибировать часть OH^\bullet -радикалов и тем самым защищать краситель от их действия. Взаимодействие наночастиц CeO_2 с высокореактивным OH^\bullet -радикалом происходит за счет переключения между двумя валентными состояниями Ce^{3+} и Ce^{4+} . При этом активность наночастиц обусловлена присутствием на их поверхности именно ионов Ce^{3+} , которые выполняют роль активных центров фермента [23].

На рис. 1 (в) представлены спектры оптического поглощения раствора, содержащего 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМБ) до и после добавления золь наночастиц CeO_2 и пероксида водорода H_2O_2 . Наблюдается увеличение оптической плотности раствора в области 652 нм, что связано с появлением окрашенного комплекса в результате окисления ТМБ. Добавление пероксида водорода и наночастиц CeO_2 к раствору ТМБ приводит к его интенсивному окислению и

появлению окрашенного комплекса, имеющего максимум поглощения при 652 нм (рис. 1, в). Таким образом, можно сделать вывод о способности наночастиц CeO_2 имитировать поведение фермента пероксидазы. Предполагается, что пероксидазная активность наночастиц CeO_2 связана с образованием на их поверхности адсорбированных форм кислорода вследствие взаимодействия с пероксидом водорода. Отмечается, что формирование подобных пероксо-или гидропероксоформ обуславливает окисление ТМБ [17].

Оксидазную миметическую активность наночастиц оценивали по изменению спектров оптического поглощения раствора ТМБ после добавления наночастиц CeO_2 (рис. 1, г). Добавление наночастиц CeO_2 к раствору ТМБ приводит к его окислению. Вероятный механизм оксидазной активности наночастиц CeO_2 связан с окислением ионов Ce^{3+} , переносом электрона на молекулярный кислород и образованием супероксид аниона, который является сильным окислителем [17]. Согласно экспериментальным данным, изменение оптической плотности раствора незначительное, поэтому можно сделать вывод о низкой оксидазной миметической активности наночастиц CeO_2 .

На основании проведенных исследований можно заключить, что наночастицы CeO_2 способны выполнять функции ферментов каталазы, пероксидазы и оксидазы. Кроме того, было продемонстрировано, что наночастицы CeO_2 способны инактивировать гидроксильные радикалы аналогично молекулярным антиоксидантам. Таким образом, проведенные исследования показали принципиальную возможность использования наночастиц оксида церия в медицине, например, в качестве потенциальных антиоксидантов для защиты клеток от активных форм кислорода.

4. Обсуждение

4.1. Нанозимная активность наночастиц оксида церия

Процессы метаболизма в живом организме сопровождаются образованием активных форм кислорода, обладающих высокой реакционной способностью за счет наличия неспаренного электрона. Уровень АФК в организме регулируется антиоксидантной системой, в которую входят как энзиматические, так и неэнзиматические компоненты [2, 6]. АФК, поддерживаемые на необходимом уровне этой защитной системой, выполняют в организме полезные функции: играют роль сигнальных молекул, инструмента обновления клеточных структур, а также средства иммунной защиты [15]. Если антиоксидантная защита организма не справляется, наблюдается повышение АФК, которые оказывают повреждающее действие на белки, инициируют перекисное окисление липидов, вызывают повреждения ДНК – организм подвергается окислительному стрессу, приводящему к множеству заболеваний, гибели клеток, старению.

Ферменты являются неотъемлемой частью антиоксидантной системы защиты организма, поэтому немаловажной задачей фармакологии и биомедицины является разработка искусственных, небелковых аналогов ферментов. Наноматериалы, обладающие ферментоподобной активностью, называются «нанозимы», один из наиболее ярких представителей этого класса – нанокристаллический оксид церия. Его характеристики не уступают природным энзимам, а некоторые даже превосходят их. В работе продемонстрировано, что наночастицы CeO_2 проявляют мультиферментативную активность, выполняя функции ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, пероксидазы, а также оксидазы, то есть обладают как антиоксидантными, так и прооксидантными свойствами (рис. 2).

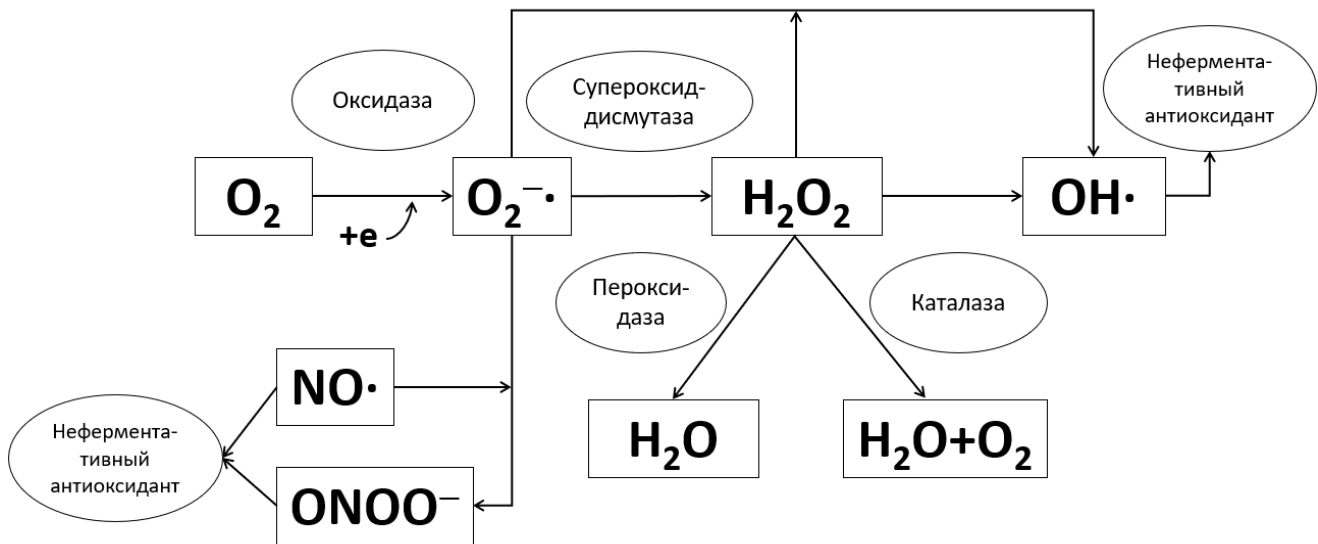


Рис. 2. Мультиферментативная и неферментативная антиоксидантная активность наночастиц оксида церия

Ферментоподобная активность наночастиц оксида церия определяется совокупностью факторов. Во-первых, это водородный показатель среды: оксидазная и пероксидазная активности наночастиц SeO_2 возникают при повышенной кислотности [1, 4], а антиоксидантная активность с понижением pH уменьшается. Во-вторых, определяющим фактором антиоксидантной активности SeO_2 является валентное соотношение Se^{3+}/Se^{4+} на поверхности частиц. Например, согласно работе [16], наночастицы SeO_2 с высоким поверхностным содержанием ионов Se^{3+} (40–60 %) в большей степени проявляют супероксиддисмутазную (СОД) активность, в то время как наночастицы с высоким содержанием ионов Se^{4+} (70–80 %) лучше проявляют каталазную активность. На поверхностные свойства полученных частиц в свою очередь оказывают влияние исходные реагенты и способ синтеза, размер наночастиц, стабилизация, допирование или функционализация.

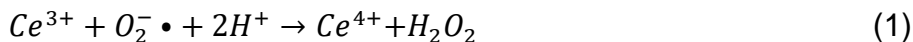
Таким образом, большинство из факторов, влияющих на токсичность, оказывает воздействие на структурные особенности материала и, как следствие, окислительно-восстановительную активность, проявляемую наночастицами. Например, это изменение количества кислородных вакансий на поверхности, изменение соотношения Se^{3+}/Se^{4+} , а также возможность перехода между этими состояниями. Хотя многие исследования свидетельствуют о низкой токсичности наночастиц оксида церия, которая обеспечивает их сравнительную безопасность применения *in vivo*, есть и работы, в которых утверждается обратное [11]. Поэтому, как уже отмечалось, актуальным направлением является установление однозначных взаимосвязей между физико-химическими свойствами SeO_2 и вызываемыми ими биологическими эффектами.

4.2. Имитация фермента супероксиддисмутазы

Одной из самых разрушительных АФК является супероксидный радикал $O_2^{\cdot-}$, так как он приводит к образованию других АФК: гидропероксильного радикала HO_2^{\cdot} , радикала пероксинитрита $ONOO^{\cdot}$, гидроксильного радикала OH^{\cdot} [1, 2]. Инактивация супероксидных радикалов в биологических системах осуществляется ферментом супероксиддисмутазой (СОД), это является одной из причин повышенного интереса к проявлению наночастицами SeO_2 СОД-активности.

СОД-подобная активность была продемонстрирована для наночастиц SeO_2 одной из первых [2]. Важно отметить, что механизмы инактивации похожи в случае

природного фермента и наночастиц CeO_2 . Инактивация супероксидных радикалов приводит к образованию менее токсичных пероксида водорода и кислорода. Инактивация супероксид-анионов протекает в две стадии, причем фермент может регенерировать. Процесс может быть представлен системой реакций:

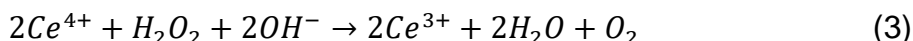


Необходимо отметить, что данных о зависимости супероксиддисмутазной активности наночастиц CeO_2 от pH среды в литературе не так много. Например, согласно работе [16], при изменении pH в диапазоне от 3 до 9 изменений в СОД-подобной активности не наблюдалось.

Основным фактором, определяющим степень проявления энзимоподобной активности, является присутствие ионов Ce^{3+} в поверхностном слое наночастиц. Согласно работе [17], наночастицы CeO_2 являются хорошим аналогом СОД при высоком поверхностном содержании ионов Ce^{3+} : $[\text{Ce}^{3+}] \approx [\text{Ce}(\text{OH})_4]$. В работе [18] показано, что снижение соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ напрямую коррелирует со снижением СОД-подобной активности.

4.3. Имитация фермента каталазы

Другой формой активного кислорода является пероксид водорода H_2O_2 , который нейтрализуется ферментом каталазой. Механизм реакции, в ходе которой наночастицы CeO_2 разлагают пероксид водорода на нетоксичные воду и кислород, представлен следующим уравнением:



Пероксид водорода H_2O_2 необратимо адсорбируется на поверхностных гидратированных ионах Ce^{4+} , образуя пергидроксид церия. Далее это вещество разлагается с образованием кислорода и воды. Необходимо отметить, что способность к регенерации наночастиц сохраняется, и после расходования всего пероксида водорода в системе часть ионов четырехвалентного церия Ce^{4+} возвращается в исходное состояние Ce^{3+} .

В ряде работ [1, 16, 19] отмечается, что каталазная миметическая активность наночастиц CeO_2 , в отличие от супероксиддисмутазной активности, существенно зависит от содержания четырехвалентных ионов церия в частице. Как отмечается в работах [16, 19], переход от супероксиддисмутазной к каталазной активности происходит при значениях процентного содержания ионов Ce^{3+} – от 40 до 30 %. Каталаязная активность наночастиц сильно зависит от pH среды: с уменьшением pH каталазная миметическая активность CeO_2 снижается [1, 9, 20].

4.4. Имитация фермента пероксидазы

В отличие от каталазы, субстратом пероксидазы является не только сам пероксид водорода, но и неорганические или органические молекулы, которые окисляются пероксидом водорода в присутствии этого фермента [1, 2]. Таким образом, пероксидаза является окислительно-восстановительным ферментом. Пероксидаза контролирует уровень пероксида водорода, используя его в качестве акцептора электронов при участии в окислении биологических субстратов. Пероксидазу нельзя в полной мере назвать антиоксидантом, однако, согласно работе [21], антиоксиданты и пероксидаза входят в единую систему антиоксидантной защиты и контролируют уровень друг друга.

Предполагаемая схема пероксидазной миметической активности наночастиц

CeO_2 представлена уравнением (где AH_2 и A – восстановленная и окисленная формы субстрата):



Пероксидазоподобные свойства наночастиц начинают проявляться только при $\text{pH} < 6$, при более высоких значениях pH фермент выполняет функции каталазы. Снижение pH усиливает окислительные свойства Ce^{4+} и повышает скорость реакции окисления субстрата, но снижает способность частиц к регенерации [17]. В работе [1] отмечается, что для стехиометрических наночастиц оксида церия пероксидазные свойства могут наблюдаться и при более высоких значениях pH , так как в таком случае ионы Ce^{3+} в структуре наночастиц отсутствуют.

4.5. Имитация фермента оксидазы

Фермент оксидаза катализирует реакции, в которых субстрат окисляется молекулярным кислородом с образованием воды, пероксида водорода или свободных кислородных радикалов. Оксидаза является окислительным ферментом. Под воздействием этого фермента генерируются активные формы кислорода, что может стать причиной окислительного стресса. Вероятный механизм оксидазной активности наночастиц CeO_2 представлен следующим уравнением:

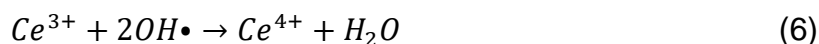


Прооксидантные свойства наночастиц начинают проявляться в кислой среде, при значениях pH не выше 5 [17], поскольку, как было сказано ранее, с понижением pH усиливаются окислительные свойства Ce^{4+} . Способность наночастиц CeO_2 к регенерации падает с понижением pH , однако постепенно, вследствие присутствия растворенного кислорода, ионы Ce^{3+} окисляются до Ce^{4+} .

4.6. Способность нанокристаллического оксида церия к инактивации гидроксильного радикала

Очень агрессивной АФК, разрушающей практически все органические молекулы, является гидроксильный радикал $\text{OH}\cdot$. Специфический фермент, способный инактивировать гидроксильный радикал, в природе отсутствует, гидроксильный радикал в организме разрушается молекулярными антиоксидантами (например, витамином Е, аскорбиновой кислотой).

В присутствии наночастиц оксида церия разрушающая способность гидроксильного радикала резко снижается. Возможный механизм инактивации этого радикала наночастицами CeO_2 представлен уравнением:



В работе [17] отмечается, что способность наночастиц CeO_2 инактивировать гидроксильный радикал возрастает с уменьшением размера частиц, что обусловлено увеличением содержания трехвалентных ионов Ce^{3+} в поверхностном слое наночастиц.

4.7. Перспективы биомедицинского применения наночастиц оксида церия

В основе биологического применения нанокристаллического оксида церия лежат два фактора – высокая кислородная нестехиометрия и в то же время низкая токсичность. Относительно небольшая энергия образования кислородных вакансий позволяет данным наночастицам вступать в биохимические окислительно-

восстановительные процессы в клетке, а низкая токсичность обеспечивает сравнительную безопасность применения наночастиц CeO_2 для живых организмов [24]. Помимо этого, отличительной особенностью наночастиц CeO_2 является их способность к саморегенерации в биохимических реакциях, то есть восстановлению исходной степени окисления за сравнительно небольшой промежуток времени. Благодаря этой способности наночастицы могут участвовать в неограниченном числе окислительно-восстановительных циклов, в то время как традиционные антиоксиданты (например, витамины С и Е) данной способностью не обладают и после одного редокс-цикла переходят в окисленное неактивное состояние или разрушаются [6]. Перечисленные особенности обуславливают ферментоподобные, антиоксидантные, радиопротекторные, антибактериальные и некоторые другие свойства наночастиц оксида церия.

Известно, что активные формы кислорода представляют собой высокореакционные молекулы, способные повреждать белки, ДНК и вызывать перекисное окисление липидов. Их образование в организме происходит не только в результате различных патологических процессов и воздействия экзогенных факторов, но также и в ходе его нормальной жизнедеятельности. В норме необходимый уровень активных форм кислорода в организме регулируется его собственными антиоксидантными системами. Однако в случае нарушения их работы или при избыточном поступлении АФК извне уровень АФК в организме может значительно увеличиться, что приводит к развитию состояния, называемого окислительным стрессом (ОС). Окислительный стресс является очень опасным процессом и может приводить к развитию таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, атеросклероз, эпилепсия и др. [25, 26].

Исследования показали, что наночастицы оксида церия, благодаря их способности взаимодействовать с АФК, могут выступать в качестве экзогенных антиоксидантов и выполнять функции естественных ферментов организма, тем самым предотвращая АФК-индуцируемое повреждение клеток [1]. При этом наночастицы CeO_2 обладают рядом преимуществ по сравнению с природными аналогами ферментов. Основными из них являются возможность изменения степени окисления церия в процессе реакции и его способность восстанавливать свое исходное состояние в течение небольшого промежутка времени после нее. Также можно отметить возможность изменения каталитической активности, отличную рециркуляцию и улучшенную стабильность наночастиц. Более того, на поверхности наноматериалов может находиться большее число каталитических центров по сравнению с природными ферментами, которые имеют только один активный центр в молекуле [27].

Кроме ферментативной активности, наночастицы CeO_2 проявляют также радиопротекторные свойства и находят применение в терапии рака для защиты здоровых клеток от лучевого поражения [10]. Радиопротекторные свойства наночастиц оксида церия по отношению к нормальным и опухолевым клеткам человека исследованы на примере клеток рака молочной железы (линия MCF-7) и здоровых клеток [1]. Исследования показали, что обработка наночастицами CeO_2 (3–5 нм) обеспечивала защиту нормальных клеток от радиационной гибели почти на 99 % и при этом практически не оказывала влияния на гибель опухолевых клеток.

Другой вид биологической активности наночастиц оксида церия – антибактериальная активность – основан на двух возможных механизмах действия наночастиц в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий [28]. Первый заключается в повреждении липидного бислоя клетки при прямом контакте наночастицы и мембраны. В результате этого происходит нарушение целостности бактериальной клетки, лизис ее содержимого и гибель микроорганизма. По другому

механизму повреждающее действие оказывают продукты взаимодействия наночастиц с межклеточным пространством – ионы и активные формы кислорода. Наночастицы оксида церия способны воздействовать на бактериальную клетку по обоим механизмам, однако благодаря окислительно-восстановительным свойствам CeO_2 более значительный вклад в бактерицидное действие наночастиц вносят активные формы кислорода.

Помимо перечисленных свойств наночастиц оксида церия стоит также отметить их фотопротекторные свойства, которые обусловлены оптическими свойствами материала. Данные свойства позволяют говорить о возможном использовании нанокристаллического CeO_2 в качестве УФ-фильтра нового поколения [1].

Таким образом, наночастицы оксида церия обладают разнообразной биологической активностью в живых системах, что открывает широкие возможности их использования в различных областях биологии и медицины.

5. Выводы

Благодаря своим физико-химическим свойствам нанокристаллический оксид церия проявляет мультиферментативную миметическую активность. Переход между разной биокаталитической активностью происходит при изменении водородного показателя среды: в нейтральных и щелочных средах наночастицы CeO_2 проявляют антиоксидантные свойства; а в кислых могут стать источниками окислительного стресса вследствие проявления прооксидантных свойств. Другим критическим параметром, влияющим на проявление ферментоподобной активности, является валентное соотношение $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ на поверхности наночастиц. На этот параметр в свою очередь оказывают влияние такие взаимосвязанные факторы, как размер наночастиц, способ синтеза, используемые стабилизаторы и допанты, поэтому для конкретного биомедицинского применения необходима правильная «настройка» этих параметров.

В литературе присутствуют противоречивые данные о токсичности и биологической активности наночастиц CeO_2 . В настоящее время нет строго определенных взаимосвязей между физико-химическими свойствами и биологическим действием наночастиц оксида церия. Более тщательное изучение этой темы, установление строгих закономерностей и связей позволит реализовать широкий спектр биомедицинских применений нанокристаллического оксида церия.

6. Список литературы

1. Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного оксида церия / А. Б. Щербаков, О. С. Иванова, Н. Я. Спивак [и др.] – Томск : Издательский Дом Томского государственного университета, 2016. – 474 с.
2. Yan, X. Nanozymology: An Overview / X. Yan, L. Gao // *Nanozymology*. – 2020. – P. 3–16.
3. Cerium oxide nanoparticles: properties, biosynthesis and biomedical application / K. R. B. Singh, V. Nayak, T. Sarkar, R. P. Singh // *RSC Advances*. – 2020. – Vol. 10, №. 45. – P. 27194–27214.
4. Dhall, A. Cerium oxide nanoparticles: a brief review of their synthesis methods and biomedical applications / A. Dhall, W. Self // *Antioxidants*. – 2018. – Vol. 7, №. 8. – P. 97.
5. Tang, W. X. Nanostructured cerium oxide: preparation, characterization, and application in energy and environmental catalysis / W. X. Tang, P. X. Gao // *Mrs Communications*. – 2016. – Vol. 6, №. 4. – P. 311–329.

6. Наноматериалы на основе оксида церия: свойства и перспективы использования в биологии и медицине / А. Б. Щербаков, Н. М. Жолобак, В. К. Иванов [и др.] // Биотехнология. – 2011. – Т. 4, № 1. – С. 9–28.
7. Pro-Oxidant Therapeutic Activities of Cerium Oxide Nanoparticles in Colorectal Carcinoma Cells / A. Datta, S. Mishra, K. Manna [et al.] // ACS omega. – 2020. – Vol. 5, №. 17. – P. 9714–9723.
8. Brain Distribution and Toxicological Evaluation of a Systemically Delivered Engineered Nanoscale Ceria / S.S. Hardas, D.A. Butterfield, R. Sultana [et al.] // Toxicological Sciences. – 2010. – Vol. 116, №. 2. – P. 562–576.
9. Quantum Origin of the Oxygen Storage Capability of Ceria / N.V. Skorodumova, S.I. Simak, B.I. Lundqvist [et al.] // Physical Review Letters. – 2002. – Vol. 89, №. 16. – P. 166601.
10. *Иванов В. К.* Структурно-чувствительные свойства и биомедицинские применения нанодисперсного оксида церия // В. К. Иванов, А. Б. Щербаков, А. В. Усатенко // Успехи химии. – 2009. – Т. 78, № 9. – С. 924–941.
11. О токсичности и прооксидантном эффекте наночастиц CeO₂ и SiO₂ (на модели *Danio rerio*) / Е. П. Мирошникова, Д. Б. Косян, А. Е. Аринжанов [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Т. 51, № 6. – С. 921–928.
12. Synthesis and study physicochemical properties of nanocrystalline ceria / E. O. Baksheev [et al.] // AIP Conference Proceedings. – AIP Publishing LLC, 2019. – Vol. 2174, №. 1. – P. 020156.
13. Catalytic activity of cerium oxide nanoparticles / I. Bazhukova [et al.] // 11th International Conference on Nanomaterials-Research and Application, NANOCON 2019. Tangerang Ltd. – 2020. – P. 348–352.
14. *Vinothkumar, G.* Size-and defect-controlled anti-oxidant enzyme mimetic and radical scavenging properties of cerium oxide nanoparticles / G. Vinothkumar [et al.] // New Journal of Chemistry. – 2018. – Vol. 42. – №. 23. – P. 18810–18823.
15. *Новиков, В. Е.* Роль активных форм кислорода в физиологии и патологии клетки и их фармакологическая регуляция / В. Е. Новиков, О. С. Левченкова, Е. В. Пожилова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – Т. 12, № 4. – С. 13–21.
16. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine / B. C. Nelson, M. E. Johnson, M. L. Walker [et al.] // Antioxidants. – 2016. – V. 5, №. 2. – P. 15.
17. Cerium dioxide nanoparticles as third-generation enzymes (nanozymes) / A. L. Popov, A. B. Shcherbakov, N. M. Zholobak [et al.] // Nanosystems: physics, chemistry, mathematics. – 2017. – Vol. 8, №. 6. – P. 760–781.
18. The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanocerium / E. G. Heckert, A. S. Karakoti, S. Seal [et al.] // Biomaterials. – 2008. – Vol. 29, №. 18. – P. 2705–2709.
19. Untangling the biological effects of cerium oxide nanoparticles: the role of surface valence states / G. Pulido-Reyes, I. Rodea-Palomares, S. Das [et al.] // Scientific reports. – 2015. – Vol. 5, №. 1. – P. 15613.
20. *Kasyanova, V.V.* Cerium oxide nanoparticles as potential antioxidants / V. V. Kasyanova, I. N. Bazhukova // Actual problems of the development of natural sciences. – 2020. – P. 82–88.
21. *Verkhoturov, V.V.* Mutual influence of peroxidase and low molecular weight antioxidants during germination of wheat seeds / V. V. Verkhoturov // Researched in Russia. – 2001. – Vol. 4. – P. 54–54.

22. *Damatov, D.* (Hydro)peroxide ligands on colloidal cerium oxide nanoparticles / D. Damatov, J. M. Mayer // *Chemical Communications*. – 2016. – Vol. 52, №. 67. – P. 10281–10284.
23. Direct evidence for hydroxyl radical scavenging activity of cerium oxide nanoparticles / Y. Xue, Q. Luan, D. Yang [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2011. – Vol. 115, № 11. – P. 4433–4438.
24. Определение разновалентных форм церия в золях нанокристаллического диоксида церия / А. О. Стоянов, В. П. Антонович, А. Б. Щербаков [и др.] // *Журнал неорганической химии*. – 2014. – № 44. – С. 15–20.
25. *El-Beltagi, S.* Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism / H. S. El-Beltagi, H. I. Mohamed // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. – 2013. – Vol. 41, №. 1. – P. 44–57.
26. *Mittler, R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance / R. Mittler // *Trends in plant science*. – 2002. – Vol. 7, №. 9. – P. 405–410.
27. Ceria Nanoparticles as Enzyme Mimetics / G. Wang, J. Zhang, X. He [et al.] // *Chinese Journal of Chemistry*. – 2017. – Vol. 35, №. 6. – P. 791–800.
28. Antibacterial activity of polymer coated cerium oxide nanoparticles / V. Shah, S. Shah, H. Shah, et al // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, №. 10. – P. e47827.

Сведения об авторах:

Офицерова Наталья Юрьевна, инженер, Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина (УрФУ), Екатеринбург, Россия. Эл. почта: n.ofitserova@mail.ru.

Бажукова Ирина Николаевна, доцент, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (УрФУ), Екатеринбург, Россия.

Мышкина Александра Владимировна, ассистент, Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина (УрФУ), Екатеринбург, Россия.

MULTIFUNCTIONAL NANOZYMES BASED ON CERIUM OXIDE NANOPARTICLES

N. Yu. Ofitserova, I. N. Bazhukova, A. V. Myshkina

Ural Federal University, Ekaterinburg, Russia

Studies of cerium oxide nanoparticles show that it has a multi-enzymatic activity. Both antioxidant and prooxidant properties of nanoparticles has been revealed, respectively, under different conditions, nanoparticles can both protect the body from oxidative stress caused by reactive oxygen species (ROS) and cause it. There are overview of the physical and chemical properties determining the high biological activity of nanoparticles, consideration of the enzyme-like activity and factors that influence it in the present paper. The results of a study in the multienzymatic activity of maltodextrin-coated cerium oxide nanoparticles are presented.

Key words: cerium oxide nanoparticles, nanozymes, reactive oxygen species, oxidative stress, antioxidant, prooxidant, enzyme-like activity.

References

1. *Shcherbakov, A.B.* Synthesis and biomedical applications of nanosized cerium dioxide / A. B. Shcherbakov, O. S. Ivanova, N. Ya. Spivak, V. V. Kozik, V. K. Ivanov // Publishing House of Tomsk State University. – 2016. 474 p.
2. *Yan, X.* Nanozymology: An Overview / X. Yan, L. Gao // Nanozymology. – 2020. – P. 3–16.
3. Cerium oxide nanoparticles: properties, biosynthesis and biomedical application / K. R. B. Singh, V. Nayak, T. Sarkar, R. P. Singh // RSC Advances. – 2020. – Vol. 10, №. 45. – P. 27194–27214.
4. *Dhall, A.* Cerium oxide nanoparticles: a brief review of their synthesis methods and biomedical applications / A. Dhall, W. Self // Antioxidants. – 2018. – Vol. 7, №. 8. – P. 97.
5. *Tang, W. X.* Nanostructured cerium oxide: preparation, characterization, and application in energy and environmental catalysis / W. X. Tang, P. X. Gao // Mrs Communications. – 2016. – Vol. 6, №. 4. – P. 311–329.
6. *Shcherbakov, A.B.* Nanomaterials based on cerium oxide: properties and prospects for use in biology and medicine / A.B. Shcherbakov, N.M. Zholobak, V.K. Ivanov et al // Biotechnologia acta. – 2011. – Vol. 4. – №. 1. – P. 009-028.
7. Pro-Oxidant Therapeutic Activities of Cerium Oxide Nanoparticles in Colorectal Carcinoma Cells / A. Datta, S. Mishra, K. Manna [et al.] // ACS omega. – 2020. – Vol. 5, №. 17. – P. 9714–9723.
8. Brain Distribution and Toxicological Evaluation of a Systemically Delivered Engineered Nanoscale Ceria / S.S. Hardas, D.A. Butterfield, R. Sultana [et al.] // Toxicological Sciences. – 2010. – Vol. 116, №. 2. – P. 562–576.

9. Quantum Origin of the Oxygen Storage Capability of Ceria / N.V. Skorodumova, S.I. Simak, B. I. Lundqvist [et al.] // *Physical Review Letters*. – 2002. – Vol. 89, № 16. – P. 166601.
10. *Ivanov, V.K.* Structure-sensitive properties and biomedical applications of nanodispersed cerium oxide / V. K. Ivanov, A. B. Shcherbakov, A.V. Usatenko // *Uspekhi khimii*. – 2009. – Vol. 78. – № 9. – P. 924–941.
11. On the toxicity and pro-oxidant effect of CeO₂ and SiO₂ nanoparticles (on the Danio rerio model) / E.P. Miroshnikova, D.B. Kosyan, A.E. Arinzhanov [et al.] // *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*. – 2016. – Vol. 51. – № 6. – P. 921–928.
12. Synthesis and study physicochemical properties of nanocrystalline ceria / E. O. Baksheev [et al.] // *AIP Conference Proceedings*. – AIP Publishing LLC, 2019. – Vol. 2174, № 1. – P. 020156.
13. Catalytic activity of cerium oxide nanoparticles / I. Bazhukova [et al.] // *11th International Conference on Nanomaterials-Research and Application, NANOCON 2019*. Tanger Ltd. – 2020. – P. 348–352.
14. Size-and defect-controlled anti-oxidant enzyme mimetic and radical scavenging properties of cerium oxide nanoparticles / G. Vinothkumar [et al.] // *New Journal of Chemistry*. – 2018. – Vol. 42. – № 23. – P. 18810–18823.
15. *Novikov, V.E.* The role of reactive oxygen species in cell physiology and pathology and their pharmacological regulation / V.E. Novikov, O.S. Levchenkova, E.V. Pozhilova // *Reviews of Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. – 2014. – Vol. 12. – № 4. – P. 13-21.
16. Antioxidant Cerium Oxide Nanoparticles in Biology and Medicine / B. C. Nelson, M. E. Johnson, M. L. Walker [et al.] // *Antioxidants*. – 2016. – Vol. 5, № 2. – P. 15.
17. Cerium dioxide nanoparticles as third-generation enzymes (nanozymes) / A. L. Popov, A. B. Shcherbakov, N. M. Zholobak [et al.] // *Nanosystems: physics, chemistry, mathematics*. – 2017. – Vol. 8, № 6. – P. 760–781.
18. The role of cerium redox state in the SOD mimetic activity of nanocerium / E. G. Heckert, A. S. Karakoti, S. Seal [et al.] // *Biomaterials*. – 2008. – Vol. 29, № 18. – P. 2705–2709.
19. Untangling the biological effects of cerium oxide nanoparticles: the role of surface valence states / G. Pulido-Reyes, I. Rodea-Palomares, S. Das [et al.] // *Scientific reports*. – 2015. – Vol. 5, № 1. – P. 15613.
20. *Kasyanova, V.V.* Cerium oxide nanoparticles as potential antioxidants / V. V. Kasyanova, I. N. Bazhukova // *Actual problems of the development of natural sciences*. – 2020. – P. 82–88.
21. *Verkhoturov, V.V.* Mutual influence of peroxidase and low molecular weight antioxidants during germination of wheat seeds / V. V. Verkhoturov // *Researched in Russia*. – 2001. – Vol. 4. – P. 54–54.
22. *Damatov, D.* (Hydro)peroxide ligands on colloidal cerium oxide nanoparticles / D. Damatov, J. M. Mayer // *Chemical Communications*. – 2016. – Vol. 52, № 67. – P. 10281–10284.
23. Direct evidence for hydroxyl radical scavenging activity of cerium oxide nanoparticles / Y. Xue, Q. Luan, D. Yang [et al.] // *The Journal of Physical Chemistry C*. – 2011. – Vol. 115, № 11. – P. 4433–4438.
24. Determination of different-valent forms of cerium in sols of nanocrystalline cerium dioxide / A.O. Stoyanov, V.P. Antonovich, A.B. Shcherbakov et al // *Bulletin of the Odessa National University. Chemistry*. – 2012. – Vol. 17. – № 4. – P. 15-20.

25. *El-Beltagi, S.* Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidative defense mechanism / H. S. El-Beltagi, H. I. Mohamed // *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. – 2013. – Vol. 41, № 1. – P. 44–57.
26. *Mittler, R.* Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance / R. Mittler // *Trends in plant science*. – 2002. – Vol. 7, № 9. – P. 405–410.
27. Ceria Nanoparticles as Enzyme Mimetics / G. Wang, J. Zhang, X. He [et al.] // *Chinese Journal of Chemistry*. – 2017. – Vol. 35, № 6. – P. 791–800.
28. Antibacterial activity of polymer coated cerium oxide nanoparticles / V. Shah, S. Shah, H. Shah, [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, № 10. – P. e47827.