

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии
наименование кафедры

**Получение частиц оксида церия, допированного гадолинием, и их
функционализация биологически активными веществами**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студента (ки) 2 курса 251 группы

направления 04.04.01 «Химия»

код и наименование направления

Института химии

наименование факультета

Ковыршина Анастасия Алексеевна

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель:

Доцент кафедры общей и
неорганической химии, к.х.н.

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

Д.Д. Дрозд

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

д.х.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

И.Ю. Горячева

инициалы, фамилия

Саратов 2025

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы: В последние годы наночастицы оксида церия (НЧ CeO_2) привлекает большое внимание как потенциальный агент для решения биомедицинских задач благодаря своим каталитическим свойствам, имитирующим ферменты. Способность НЧ CeO_2 действовать в качестве антиоксиданта обусловлена их быстрым изменением степени окисления между Ce^{4+} и Ce^{3+} путем изменения их электронной конфигурации и образования кислородных вакансий или дефектов, в структуре кристаллической решетки. В здоровых клетках при физиологическом pH он действует как антиоксидант, удаляя АФК, защищает их, в то время как в раковых клетках (в среде с низким pH) он действует как прооксидант, генерируя АФК и убивая их.

НЧ CeO_2 являются одними из наиболее перспективных тераностических агентов. На сегодняшний день одной из серьезных проблем, связанных с использованием контрастных веществ для МРТ, содержащих Gd, является подвижность комплексов гадолиния и взаимодействие свободных ионов Gd^{3+} с тканями организма, что может вызвать системный нефрогенный фиброз после многократного использования. Таким образом, существует острая необходимость в новом поколении контрастных веществ МРТ, которые безопасны и обеспечивают достаточный сигнал при МРТ-визуализации. Для достижения этой цели производятся наночастицы, содержащие Gd, которые стабилизируются биосовместимыми лигандами и конъюгируются с целевыми биомолекулами. Наноматериалы на основе диоксида церия были определены как перспективные материалы для тераностики онкологических заболеваний. Введение ионов гадолиния в CeO_2 обеспечивает ему как повышенную окислительно-восстановительную активность, так и магнитные свойства и пригодность для МРТ-визуализации. В матрице оксидов ионы Gd^{3+} могут обеспечивать более высокие значения констант продольной релаксации, чем Gd^{3+} в хелатных комплексах.

Для медицинских целей НЧ должны быть стабилизированы с помощью надлежащих покрытий, чтобы избежать агрегации/накопления в клеточной среде человека и повысить их биосовместимость, сохраняя при этом их антиоксидантные свойства. Многие полимеры оказались пригодными для гидрофильного покрытия НЧ CeO_2 для биомедицинских применений благодаря своей превосходной коллоидной стабильности и биосовместимости. Полимеры действуют как хорошие покрывающие агенты для улучшения коллоидной стабильности и дисперсности НЧ CeO_2 . Тонкий слой полимеров сохраняет каталитическую активность оксида церия, не блокируя путь переноса электронного заряда на поверхности наночастиц. Актуальность разработки НЧ CeO_2 с полимерной оболочкой заключается в том, что полимерная оболочка НЧ способствует связыванию с различными лекарственными и биоактивными веществами, добавляя НЧ CeO_2 функционал носителя препаратов. Например, НЧ могут быть дополнительно функционализированы для активного воздействия на опухоли или их микроокружение. Такая структура может обеспечить медленное высвобождение препарата, а затем терапевтическое действие самой НЧ CeO_2 .

Поэтому **цель настоящего исследования** заключается в получении и характеристизации НЧ CeO_2/Gd , стабилизированных полимером и их функционализация биологически активными веществами.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи**:

1. Получить НЧ CeO_2/Gd , стабилизированные полимером, подбор оптимальных условий для получения НЧ с малым размером и высокой коллоидной стабильностью;
2. Варьирование концентрации церия/гадолиния;
3. Изучить физико-химических свойства (морфологии и оптических свойств) полученных НЧ;

4. Оценить возможность функционализации полученных НЧ CeO_2/Gd /полимер биологически активными веществами (рибофлавин, пирролохинолинхинон, куркумин);

5. Оценить эффективность загрузки БАВ.

Структура и объем работы: Работа состоит из раздела обозначений и сокращений, введения, трёх глав («Обзор литературы», «Экспериментальная часть», «Результаты и обсуждения»), заключения, списка использованных источников, состоящего из 75 наименования. Работа изложена на 55 листах и включает 14 рисунков и 9 таблиц.

Во введении сформулирована цель работы и обоснована актуальность темы.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором обсуждаются НЧ CeO_2 , их каталитические свойства и возможность применения в МРТ-визуализации. Изучено применение НЧ CeO_2 с полимерным покрытием в биомедицине, а также рассмотрены свойства биологически активных веществ, которые были использованы в работе.

Вторая глава содержит информацию о методах синтеза и средствах, использованных в ходе исследования.

Третья глава посвящена описанию полученных результатов и их обсуждению.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Элемент церий ^{58}Ce является вторым и наиболее химически активным элементом в ряду лантаноидов [1]. В то время как лантаноиды обычно проявляют степень окисления +3, церий может существовать в двух степенях окисления: Ce^{3+} (трехвалентный) и Ce^{4+} (четыревалентный), поскольку он имеет две частично заполненные электронные оболочки 4f и 5d. Поэтому оксид церия может иметь две разные формы: диоксид церия (CeO_2) и полуторный оксид церия (Ce_2O_3) [2].

При получении наночастиц оксида церия, он приобретает кристаллическую структуру флюорита, в которой каждый атом церия окружен восемью анионами кислорода, а каждый атом кислорода занимает тетраэдрическое положение. Однако, обычно наблюдается значительная концентрация внутренних дефектов, а некоторое количество церия находится в валентном состоянии Ce^{3+} , отсутствие положительного заряда которого компенсируется кислородными вакансиями [3].

Одна из важнейших характеристик НЧ CeO_2 – его редоксактивность за счет способности проявлять трех- или четырехвалентность в зависимости от pH и окружающей среды, что делает его уникальным и реакционноспособным. Многими исследователями отмечена эта уникальная способность НЧ CeO_2 «переключаться» между двумя степенями окисления оксидов (+3 и +4) в зависимости от окружающей среды, что и обуславливает его антиоксидантные свойства [4,5]. Также особенностью церия является возможность возвращать исходную валентность путем добавления или удаления атомов кислорода с минимальными структурными реорганизациями, что позволяет использовать наночастицу многократно в окислительно-восстановительных реакциях [6].

Существует острая потребность в новом поколении более безопасных усилителей контрастности при МРТ. НЧ CeO_2 являются одними из наиболее перспективных тераностических агентов. Введение трехвалентных редкоземельных элементов приводит к образованию кислородных вакансий в

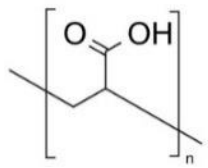
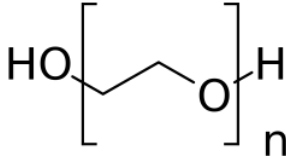
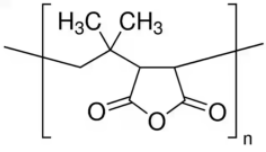
кристаллической структуре CeO_2 , что, в свою очередь, обеспечивает более высокую подвижность ионов кислорода и окислительно-восстановительную активность [7,8]. Более того, при таком легировании церий приобретает дополнительные функциональные возможности, присущие редкоземельным элементам. В частности, введение ионов гадолиния в CeO_2 обеспечивает ему как повышенную окислительно-восстановительную активность, так и магнитные свойства и пригодность для МРТ-визуализации [9].

Для предотвращения агломерации НЧ CeO_2 , которая приводит к потере активности, а значит, и полезных биологических свойств, а также для улучшения стабильности НЧ CeO_2 предпринимаются различные методы покрытия поверхности наночастиц. В качестве оболочек для покрытия НЧ CeO_2 могут использоваться разные типы полимеров. Разработка полимерных композитов на основе CeO_2 представляется весьма полезной для улучшения свойств как оксида церия, так и полимеров. В настоящее время полимеры активно используются в качестве носителей для различных биологически активных веществ и лекарственных препаратов.

Характеристика НЧ CeO_2/Gd /полимер

Был использован синтез для НЧ CeO_2 , стабилизированных полимером, который был модифицирован добавлением гексагидрата нитрата гадолиния (III). Синтез длился 24 часа. Для синтеза были выбраны полиакриловая кислота (ПАК), полиэтиленгликоль (ПЭГ), поли(изобутилен-альт –малеиновый ангидрид) (ПИМА). Структурные формулы используемых полимеров приведены в таблице 1.

Таблица 1. Формулы полимеров, которые использовались для модификации НЧ CeO_2/Gd

Формула			
Полимер	ПАК, 20000Да	ПЭГ, 1500Да	ПИМА, 6000 Да

Размер и заряд очищенных НЧ CeO_2/Gd /полимер были охарактеризованы методом динамического рассеяния света (ДРС). Полученные значения сравнивали с НЧ CeO_2 / полимер, синтезированным по этой же методике только без добавления гексагидрат нитрата гадолиния (III). Анализ методом ДРС показал (табл. 2), что допированные гадолинием НЧ CeO_2 имеют больший размер, чем стандартные образцы НЧ CeO_2 полученные по той же методике.

Таблица 2. Гидродинамический диаметр, концентрация для НЧ CeO_2 /полимер и НЧ CeO_2/Gd /полимер. Соотношение $\text{Ce}:\text{Gd} = 1:1$

Полимер	CeO_2/полимер		CeO_2/Gd/полимер	
	ГД*, нм	Конц.	ГД, нм	Конц.
ПИМА	195	5,54E+08	> 1 мкм	2,73E+04
ПЭГ	44	3,01E+11	617	2,16E+07
ПАК	147	3,69E+09	415	4,10E+08

ГД* - гидродинамический диаметр

Так как нитрат церия используют в синтезе в качестве прекурсора для формирования НЧ CeO_2 , а нитрат гадолиния в качестве допирующего агента, то важно изучить как соотношение концентрации нитрата церия к нитрату гадолиния повлияет на структуру, размер и ζ -потенциал получаемых НЧ. Для получения НЧ CeO_2/Gd /полимер были проварьированы соотношение Ce и Gd (2:1; 3:1; 4:1; 5:1) и проанализированы с помощью метода ДРС. Результаты ДРС показали, что образцы, полученные при соотношениях Ce и Gd 1:1

образовались самые большие по размеру частицы с гидродинамическим диаметром около 500 нм, а также агрегаты > 1 мкм для образца с ПИМА. Это может быть связано с большой концентрацией допанта, часть которого локализуется на поверхности формирующихся кристаллитов. Это соотношение характеризуется положительным значением ζ -потенциала для образцов с ПАК и ПЭГ 22мВ. При увеличении концентрации церия (соотношение Се и Gd 2:1; 3:1; 4:1) гидродинамический диаметр образца с ПИМА находится в диапазоне 200-350 нм, а ζ -потенциала практически не изменяется и составляет примерно -40 мВ, что говорит о коллоидной стабильности данных образцов. Для образцов с ПАК и ПЭГ наблюдается изменение ζ -потенциала от положительного значений к отрицательному.

При соотношении Се и Gd 5:1 гидродинамический диаметр образцов составил не более 150 нм с индексом полидисперсности 0,2, ζ -потенциалом от -35 до -45 мВ. Результаты демонстрируют, что данные НЧ CeO_2/Gd /полимер имеют узкое распределение по размерам и высокую коллоидную стабильность.

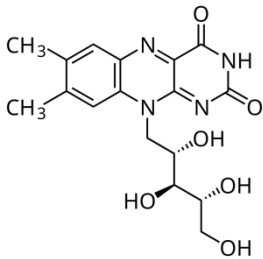
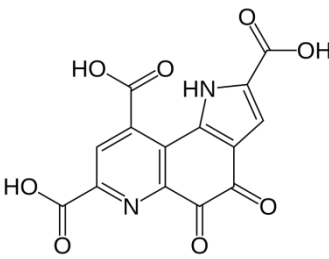
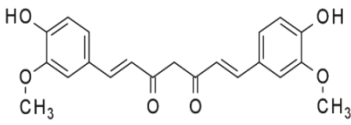
Были зарегистрированы спектры поглощения НЧ CeO_2 , допированные Gd. Спектр оптического поглощения золя наночастиц CeO_2 характеризуется интенсивной полосой поглощения в диапазоне 220–400 нм с максимумом при $\lambda = 300$ нм. При соотношении концентрация 1:1 видно уширение полосы поглощения, что может быть связано с присутствием гадолиния. Спектр при соотношении Се и Gd 5:1 имеют идентичные форму и положения максимума, что и контрольный образец НЧ CeO_2 /полимер. Предположительно отсутствие уширения полосы поглощения в области 400 нм, указывающее на наличие допирования, связано с низкой концентрацией гадолиния при данном соотношении.

Для уточнения морфологии и размера, полученных наночастиц оксида церия, был использован метод сканирующей электронной микроскопии, который показал средний размер НЧ CeO_2/Gd /полимер около 45 нм, образующих агломераты

Функционализация НЧ CeO_2/Gd /полимер биологически активными веществами (БАВ)

Разработка наночастиц церия, объединенных с БАВ позволяет улучшить свойства отдельных компонентов и обеспечить более эффективное и целенаправленное терапевтическое действие. Предполагается, что модификация НЧ CeO_2 с БАВ может обеспечить синергетический эффект за счет объединения обоих компонентов в одном материале и, следовательно, может рассматриваться как инновационный подход к борьбе с окислительным стрессом. В качестве БАВ были выбраны рибофлавин, пирролохинолиниquinон (ПХХ) и куркумин, структурные формулы которых представлены в таблице 4.

Таблица 4. Структурные формулы рибофлавина, ПХХ и куркумина

Формула			
БАВ	Рибофлавин	ПХХ	Куркумин

Для оценки инкапсуляции БАВ в НЧ были зарегистрированы спектры поглощения после разделения на концентрационной колонке. Оценивали изменение формы спектра, положение пика и интенсивность характерных пиков НЧ и БАВ. Для рибофлавина характерные пики поглощения находятся в УФ-области (222, 266, 373 нм) и в видимом диапазоне (445 нм). Спектр поглощения фильтрата после инкапсулирования не изменяется и соответствует чистому рибофлаvinу, что может говорить о том, что в фильтрате не содержится НЧ CeO_2 и они полностью были отделены с помощью концентрационной колоноки. На спектрах поглощения НЧ CeO_2 и НЧ CeO_2/Gd с полимерной оболочкой после инкапсулирования пики при 373 и 445 нм становятся слабо

выраженными, а также появляются пики при 222 и 266 нм, что может говорить об успешной функционализации НЧ. Но меняется форма пиков по сравнению с исходным рибофлавином. Это может быть связано с тем, что CeO_2 /полимер и CeO_2/Gd /полимер образуют дисперсию крупных частиц, за счет большого размера молекул полимеров, которые рассеивают проходящее через них излучение, из-за чего форма полученного спектра может быть искажена.

Для ПХХ характерный пик поглощения находится в УФ-области 250 нм. Также как и для рибофлавина можно заметить, что в спектре НЧ CeO_2 и НЧ CeO_2/Gd с полимерной оболочкой после инкапсулирования появляется пик в районе 250 нм, что может говорить о загрузке ПХХ. Пик НЧ меняет свою форму по сравнению с НЧ до инкапсулирования, что может быть с рассеиванием проходящее через НЧ излучение. Спектр поглощения фильтрата не меняет свою форму по сравнению с чистым ПХХ, только становится менее интенсивным, что говорит о разделении свободного ПХХ от НЧ.

Аналогичные результаты были получены и для куркумина. Спектр поглощения куркумина в этаноле представляет собой широкую полосу с максимальным пиком поглощения на длине волны ~ 430 нм, которая может быть отнесена к низкоэнергетическому $\pi-\pi^*$ возбуждению куркумина. У НЧ CeO_2 и НЧ CeO_2/Gd после функционализации не появляется явного пика в районе 430 нм, но сами спектры поглощения меняют свою форму по сравнению с НЧ до функционализации, что может также указывать на загрузку БАВ в НЧ. Спектры фильтрата имеют идентичную форму и положение, что и исходный спектр куркумина, что говорит о том, что в фильтрате не осталось самих НЧ.

Для количественного определения загрузившихся в НЧ БАВ были построены градуировочные зависимости для каждого из веществ. Концентрацию в НЧ можно рассчитать двумя путями: по оптической плотности самих НЧ и по остаточной концентрации в фильтрате. Так как в спектрах НЧ есть эффект рассеивания, который вносит погрешность, то был выбран способ расчёта по фильтрату (табл. 3).

Таблица 3. Рассчитанные по градуировочному графику концентрации загрузившихся в наночастицы БАВ

	Рибофлавин		ПХХ		Куркумин	
	С, М	С, %	С, М	С, %	С, М	С, %
CeO ₂ /ПИМА	6,58E-04	30	2,13E-03	85	6,55E-04	39
CeO ₂ /Gd/ПИМА	6,55E-04	30	1,95E-03	17	6,65E-04	27
CeO ₂ /ПАК	3,37E-04	17	1,24E-03	48	3,10E-04	16
CeO ₂ /Gd/ПАК	5,83E-04	29	2,05E-03	83	6,96E-04	34
CeO ₂ /ПЭГ	6,92E-04	36	1,48E-03	64	3,05E-04	17
CeO ₂ /Gd/ПЭГ	4,67E-04	27	2,23E-03	90	1,08E-03	48

Из полученных результатов можно сказать, что наилучшая загрузка в НЧ произошла с ПХХ около 80%. Можно заметить, что функционализация НЧ CeO₂/Gd с полимерами ПАК и ПЭГ происходит в 1,5-2 раза больше, чем для НЧ CeO₂ с теми же полимерами. Для НЧ с ПИМА такой закономерности не наблюдается, количество загрузившихся БАВ в НЧ CeO₂/ПИМА и НЧ CeO₂/Gd/ПИМА примерно одинаковое. Это может указывать на том, что данный полимер связывается с БАВ вне зависимости от состава наночастиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Был оптимизирован синтез НЧ CeO_2/Gd с полимерным покрытием. Добавление раствора гексагидрата нитрата церия (III) в раствор гексагидрата нитрата гадолиния (III) в различных соотношениях показало возможность получения НЧ допированных гадолинием.
2. Изучение морфологии и размера, полученных НЧ CeO_2/Gd , с использованием метода ДРС, показало гидродинамический радиус НЧ около 140 нм. Метод СЭМ показал образование НЧ размером около 50 нм. Метод ПЭМ также показал, что образцы, синтезированные с соотношением $\text{Ce}:\text{Gd} = 5:1$, являются более структурированными, то есть такое соотношение являются наиболее подходящими для синтеза CeO_2/Gd с полимерным покрытием, так как частицы имеют узкое распределение по размеру ($5,0 \pm 0,3$ нм) и высокую коллоидную стабильность (-45 мВ).
3. Была оценена возможность функционализации полученных НЧ CeO_2/Gd /полимер биологически активными веществами. По градуировочному графику было рассчитано, что почти 80% пирролохинолинхинона связывается с наночастицами, это говорит, что CeO_2/Gd /полимер хорошо подходит для функционализации наночастиц данным БАВ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Cheisson T. et al. Multiple Bonding in Lanthanides and Actinides: Direct Comparison of Covalency in Thorium(IV)- and Cerium(IV)-Imido Complexes // J. Am. Chem. Soc. 2019. Vol. 141, № 23. P. 9185–9190.
2. Skorodumova N.V. et al. Quantum Origin of the Oxygen Storage Capability of Ceria // Phys. Rev. Lett. 2002. Vol. 89, № 16. P. 166601.
3. Xu C., Qu X. Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications // NPG Asia Mater. 2014. Vol. 6, № 3. P. e90–e90.
4. Dhall A., Self W. Cerium Oxide Nanoparticles: A Brief Review of Their Synthesis Methods and Biomedical Applications // Antioxidants. 2018. Vol. 7, № 8. P. 97.
5. Younis A., Chu D., Li S. Cerium Oxide Nanostructures and their Applications // Functionalized Nanomaterials / ed. Farrukh M.A. InTech, 2016.
6. Bhattacharya D. et al. Accelerated and scarless wound repair by a multicomponent hydrogel through simultaneous activation of multiple pathways // Drug Deliv. and Transl. Res. 2019. Vol. 9, № 6. P. 1143–1158.
7. Schmitt R. et al. A review of defect structure and chemistry in ceria and its solid solutions // Chem. Soc. Rev. 2020. Vol. 49, № 2. P. 554–592.
8. Coduri M. et al. Rare Earth Doped Ceria: The Complex Connection Between Structure and Properties // Front. Chem. 2018. Vol. 6. P. 526.
9. Eriksson P. et al. Cerium oxide nanoparticles with antioxidant capabilities and gadolinium integration for MRI contrast enhancement // Sci Rep. 2018. Vol. 8, № 1. P. 6999.