

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

Модификация наночастиц оксида церия полимерными материалами

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента (ки) 4 курса 411 группы

направления 04.03.01 «Химия»

код и наименование направления

Института химии

наименование факультета

Ковыршина Анастасия Алексеевна

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель:

старший преподаватель

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

А.А.Бакал

инициалы, фамилия

Зав. кафедрой:

д.х.н., профессор

должность, уч. степень, уч. звание

дата, подпись

И.Ю. Горячева

инициалы, фамилия

Саратов 2023

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы: В последние годы внимание научного сообщества привлекли наночастицы оксида церия, демонстрирующие большой потенциал для применения в биомедицине благодаря своим уникальным биологическим свойствам таким как, антиоксидантная, противовоспалительная и антибактериальная активность. Его превосходная каталитическая активность является результатом быстрой смены степеней окисления между Ce^{4+} и Ce^{3+} на поверхности наночастиц. Атом церия обладает способностью легко и кардинально менять свою электронную конфигурацию, чтобы соответствовать окружающей среде. Проявляет антибактериальную активность, как против грамположительных, так и против грамотрицательных бактерий за счет образования активных форм кислорода (АФК). В здоровых клетках при физиологическом рН он действует как антиоксидант, удаляя АФК, защищает их, в то время как в раковых клетках (в среде с низким рН) он действует как прооксидант, генерируя АФК и убивая их.

Разработка биоматериалов, сочетающих в себе свойства полимеров и уникальные характеристики наночастиц оксида церия (НЧ CeO_2), открывает новые горизонты для применения в биомедицине, включая регенерацию тканей, доставку лекарств и генную терапию. Полимеры действуют как хорошие покрывающие агенты для улучшения коллоидной стабильности и дисперсности НЧ CeO_2 . Более 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 то, что полимеры могут связываться с различными лекарственными и биоактивными веществами, становясь носителями препаратов.

Цель настоящего исследования заключается в оптимизации синтеза НЧ CeO_2 с полимерной оболочкой и характеристика их морфологии.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Разработка подходов к синтезу НЧ CeO_2 с полимерной оболочкой;
2. Изучение морфологии полученных НЧ CeO_2 ;
3. Определение влияния рН на стабильность полученных НЧ CeO_2 ;
4. Определение влияния состав и молекулярной массы полимера на размер НЧ CeO_2 .

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 66 наименования. Работа изложена на 51 листе и включает 5 рисунков и 10 таблиц.

Во введении сформулирована цель работы и обоснована актуальность темы.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором обсуждаются НЧ CeO_2 и их каталитические свойства. Изучено применение НЧ CeO_2 с полимерным покрытием в биомедицине и способы их синтеза.

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

Церий - элемент, принадлежащий к классу металлов-лантаноидов в периодической таблице с атомным номером 58 [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 существовать в двух видах: диоксид церия (CeO_2) и полуторный оксид церия (Ce_2O_3) [2].

При получении НЧ CeO_2 , 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].

Известно, что в зависимости от условий реакции НЧ CeO_2 могут одновременно действовать как катализаторы окисления и восстановления. Эта активность обусловлена быстрым изменением степени окисления между Ce^{3+} и Ce^{4+} на поверхности наночастиц. Атом церия обладает способностью легко и кардинально изменять свою электронную конфигурацию, чтобы лучше соответствовать своему непосредственному окружению [2].

НЧ CeO_2 нашли широкое применение в биомедицине для терапевтических целей так как они проявляют антиоксидантные свойства за счет превращение между двумя степенями окисления церия из-за наличия кислородных вакансий на поверхности оксида церия [4]. Наночастицы могут действовать как имитатор каталазы [5]. Причем, более высокое содержание церия в степени окисления +4, показывало более высокую активность как имитатор каталазы, в то время как препарат, с более высоким содержанием атомов церия в степени окисления +3, показал намного меньшую активность [6]. Оксидазоподобные [7] свойства НЧ CeO_2 связаны с рН, и максимальная

активность наблюдается при кислом рН (рН=4) [8]. НЧ CeO_2 может эффективно опосредовать дефосфорилирование фосфопептидов [9], т.е. проявлять фосфатаза подобные свойства. Использование НЧ CeO_2 для опосредования дефосфорилирования фосфопептидов имеет ряд преимуществ: во-первых, это безопасно и просто, и после обработки его можно удалить центрифугированием; во-вторых, его каталитическая активность высока; в-третьих, температура мало влияет на дефосфорилирование. Благодаря совокупности этих свойств НЧ CeO_2 проявляют антибактериальную [10] и противоопухолевую активность [11].

Разработка полимерных композитов на основе CeO_2 представляется весьма полезной для улучшения свойств, как оксида церия, так и полимеров. НЧ CeO_2 широко используются в качестве полимерных наполнителей, т.е. для создания новых функциональных материалов для биомедицинских приложений, за счет своей антибактериальной [12] и противовирусной [13] активности. НЧ CeO_2 , включенные в биополимер триметилхитозаном (ТМС), обладающий антимикробными, антиоксидантными и биосорбционными свойствами, значительно повышают эффективность последнего за счет усиления взаимодействия со стенкой бактериальной клетки и выполнения функции поглотителя свободных радикалов [14]. Противовирусное действие зольей НЧ CeO_2 с полимерным покрытием зависит от способа получения и выбранного стабилизатора. Показано, что золи, где в качестве прекурсора для получения НЧ CeO_2 использовали соли Ce^{4+} , при профилактической схеме внесения ко всем исследованным культурам клеток, обладают способностью формировать состояние противовирусной резистентности [13].

Методика синтеза НЧ CeO_2 /полимер

НЧ CeO_2 с полимерной оболочкой были получены методом влажного химического осаждения. Для получения наночастиц использовали 2 мл полимера концентрацией 10 мг/мл, гексагидрат нитрата церия (III), 27% гидроксид аммония и этанол. Раствор 1М $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ объемом 1 мл смешивали с 2 мл полимера. При непрерывном перемешивании смесь

добавляли к 6 мл раствора гидроксида аммония (27%). Через 10 минут добавили 4,5 мл этанола и оставили перемешивание в течение 24 часов при комнатной температуре. Затем наночастицы очищали от избытка аммиака осаждением в центрифуге три раза при 4000 оборотах в течение 5 минут. Образцы хранили в воде при комнатной температуре

Выбор концентрации гексагидрата нитрата церия (III)

Нитрат церия используют в синтезе в качестве прекурсора для формирования НЧ CeO_2 , поэтому важно изучить как изменение концентрации нитрата церия повлияет на структуру и размер получаемых НЧ. Было проведено три синтеза, в которых брали концентрации $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 1М; 0,75М; 0,5М. В качестве полимера была использована полиакриловая кислота (ПАК) с молекулярной массой 20 кДа. Размер, концентрация и ζ -потенциал полученных частиц был исследован методом динамического рассеяние света.

Наночастицы обладают ζ -потенциалом в районе – 30 мВ, что позволяет им сохранять коллоидную стабильность в воде. Анализ методом динамического рассеяние света показал, что во всех трех образцах присутствует смесь из частиц разного размера с достаточно большим разбросом частиц по размеру.

Было показано, что частицы, обладающие гидродинамическим диаметром до 100 нм, образовались при синтезе с 1М нитратом церия, т.е. данная концентрация нитрата церия является наиболее оптимальным для синтеза.

Изучение размера и морфологии наночастиц CeO_2 /ПАК

Изучение влияния среды на осаждение наночастиц CeO_2 /полимер

Так как среда раствора может повлиять на возможную агрегацию НЧ в процессе очистки и дальнейшем хранении, то было изучено влияние среды на скорость осаждения НЧ CeO_2 . Для этого готовые частицы были помещены в среды с разным значением pH: вода (pH 5,5), фосфатно-солевой буфер (ФСБ) (pH 7,3-7,5), солевой буфер Трис-HCl (pH 7,4), карбонатно-бикарбонатный буфер (pH 8,0), этанол. Был измерен ζ -потенциал наночастиц в разных средах. Изменение среды коллоидного раствора приводило к смещению ζ -потенциала и

варьировалось в диапазоне от ~ -5 до -36 мВ в зависимости от буфера. Наименьшим значением ζ -потенциала обладали частицы в этаноле.

Для дальнейших исследований были выбраны ФСБ и вода так как ζ -потенциала приближался к -30 мВ, что достаточно для поддержания коллоидной стабильности образца. Коллоидная стабильность частиц в ФСБ позволит исследовать их влияние на клетки без предварительной агрегации, так как рН ФСБ близок к физиологическому рН.

Таким образом, для дальнейшей очистки и хранения НЧ CeO_2 использовали воду и буфер ФСБ. Для этого желтый осадок наночастиц CeO_2 /ПАК разделили на две части. Первую очищали в буфере ФСБ, а вторую в воде. Размер и концентрация полученных частиц был исследован с помощью динамического рассеяние света. Образцы, которые были очищены в буфере ФСБ, оказались меньше по размеру, чем образцы, очищенные в воде. В них присутствуют частицы с гидродинамическим диаметром ~ 100 с достаточно высокой концентрацией, Это может указывать на то, что способ очистки и хранения в буфере ФСБ является наиболее оптимальным.

Для уточнения морфологии и размера, полученных наночастиц оксида церия, был использован метод СЭМ (рисунок 1).

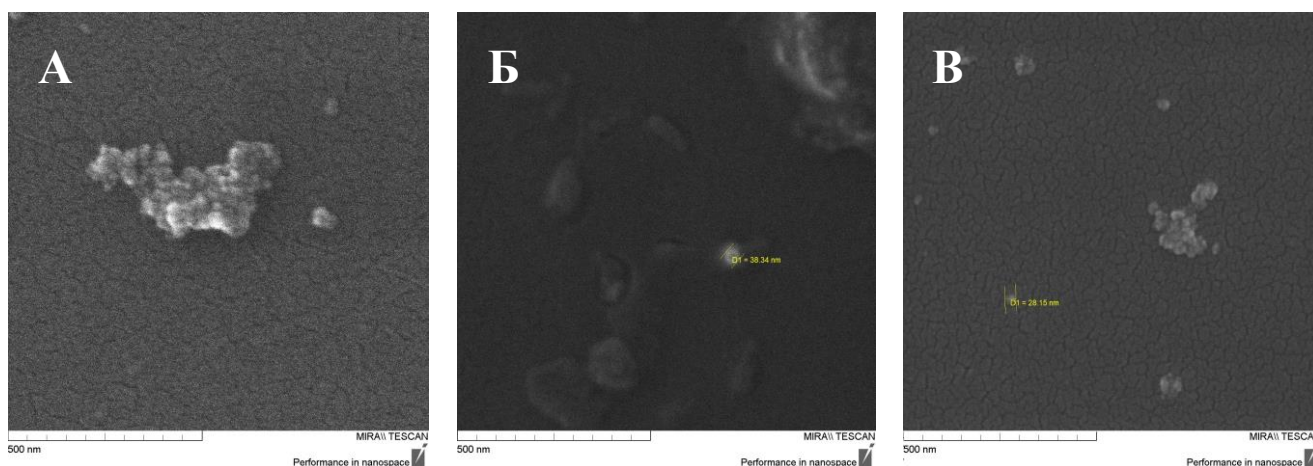


Рисунок 1 – Изображения со сканирующего электронного микроскопа НЧ CeO_2 /ПАК: (А) в надосадочной жидкости, хранящиеся в воде; (Б) в надосадочной жидкости, хранящиеся в ФСБ; (В) в осадке, хранящиеся в воде

На изображениях видно, что присутствуют крупные агломераты, которые образовались при высыхании образца в момент съемки. Агломераты состоят из НЧ размером примерно 40 нм. Причем частицы маленького размера присутствуют не только в надосадочной жидкости, но и в осадке. То есть можно сказать, что по данной методике можно получить НЧ CeO_2 /ПАК достаточно небольшого размера.

Изучение влияния состава и структуры полимера на полученные наночастицы CeO_2

В работе были использованы полимеры с разной структурной и молекулярной массой: полиэтиленгликоль (ПЭГ) ($M=1500$ Да), полиоксазолина ($M=3000$ Да), поли(изобутилен-альт-малеиновый ангидрид) (ПИМА) ($M=6000$ Да), полиакриловая кислота (ПАК) ($M=20000$ Да). Для того чтобы изучить влияние разных полимеров на структуру получаемых наночастиц CeO_2 был проведён синтез со всеми представленными полимерами. Очистку проводили центрифугированием при 4000 об/мин. Очистка и дальнейшее хранение осуществляли в воде и буфере ФСБ, так как в этих средах частицы наиболее стабильны.

Размер, концентрация и ζ -потенциал полученных частиц был исследован методом динамического рассеяния света.

Наночастицы обладают ζ -потенциалом в диапазоне от ~ -20 до -40 мВ, что позволяет им сохранять коллоидную стабильность. Анализ методом динамического рассеяния света показал, что во всех трех образцах присутствуют смесь из частиц разного размера. Причем самые большие по размеру агломераты образовались с ПИМА, гидродинамический диаметр которых составил ~ 1500 нм. В образцах, полученных с ПЭГ и полиоксазолином (очищенных в ФСБ), видно присутствие небольших частиц размером около 100 нм достаточно высокой концентрации с индексом полидисперсности (PI) 0,3 и 0,6, соответственно. Это указывает на большее распределение по размеру по сравнению с частицами, образованными с полиэтиленгликолем.

Для уточнения морфологии и размера, полученных НЧ CeO_2 , был использован метод СЭМ (рисунок 2).

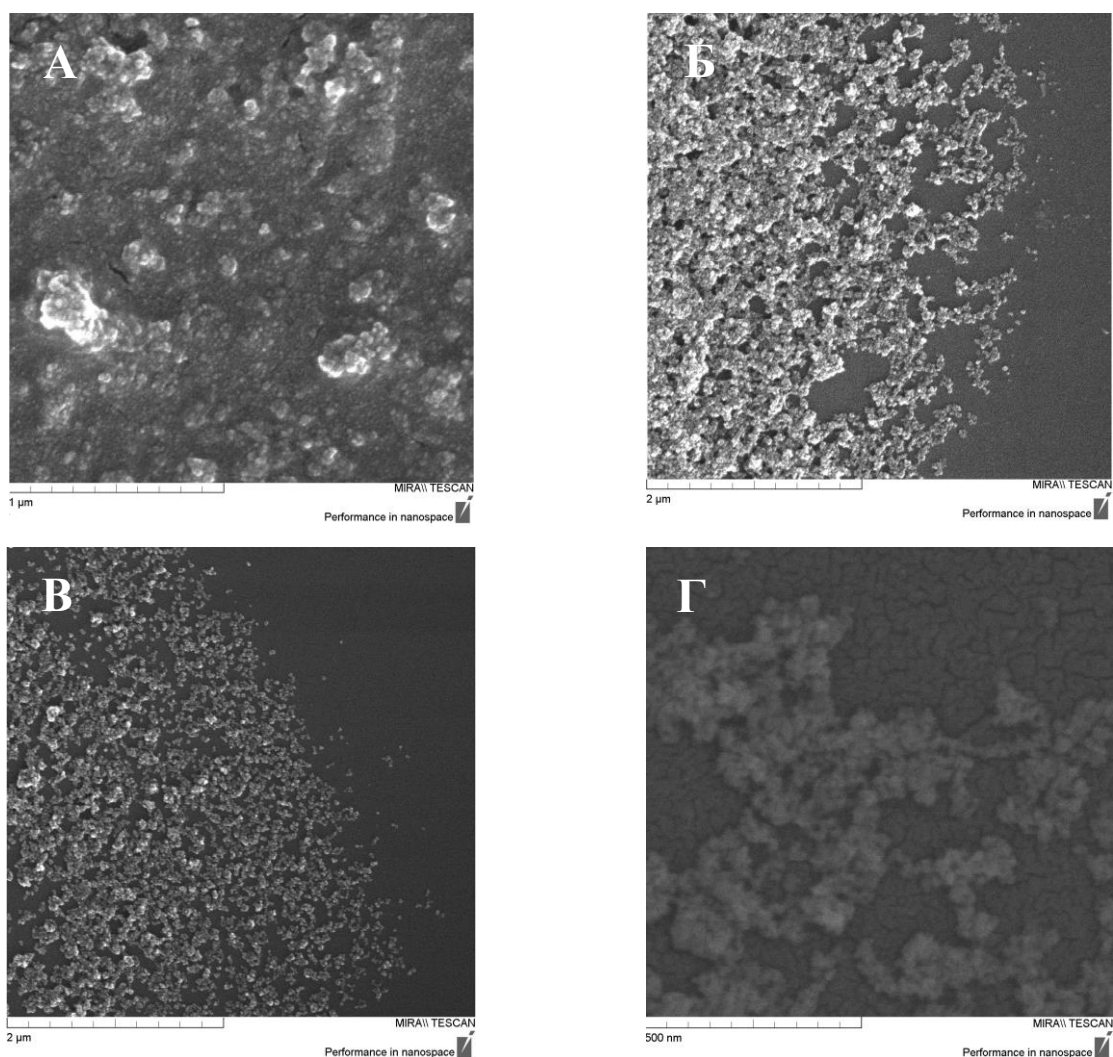


Рисунок 2 – изображения со сканирующего электронного микроскопа: (А) наночастицы CeO_2 /ПИМА; (Б) наночастицы CeO_2 /полиоксазолин; (В) наночастицы CeO_2 /ПЭГ; (Г) наночастицы CeO_2 /ПАК

На изображениях СЭМ показано наличие частиц небольшого размера ~ 30 нм во всех образцах. Причем образцы, синтезированные с полимером ПИМА, не образовали агломератов и находятся отдельно друг от друга. Так же отдельные НЧ можно увидеть в образцах, синтезированных с ПЭГ. Можно сделать вывод, что данные полимеры подходят нам для дальнейших синтезов наночастиц оксида церия с полимерной оболочкой.

Для того чтобы отделить крупные агломераты от частиц небольшого размера надосадочная жидкость образцов, растворенных в воде, была отфильтрована с помощью фильтра с размером пор 0,22 мкм.

По полученным данным можно сказать, что с помощью фильтра удалось разделить крупные частицы от маленьких и получить НЧ с гидродинамическим диаметром около 100 нм с достаточно узким распределением по размеру для полимеров ПЭГ, ПИМА, полиоксазолин. Индекс полидисперности для данных полимеров не превышает значение 0,3. Можно сделать вывод, что фильтрование является хорошим способом для разделения частиц небольшого размера от крупных агломератов.

Таким образом, на данный момент мы пришли к выводу, что для синтеза НЧ CeO_2 с полимерным покрытием лучше использовать 1М раствор гексагидрата нитрата церия (III) и полимеры ПЭГ-1500 и ПИМА-6000, так как образуются частицы достаточно небольшого размера с высокой концентрацией. Проводить очистку и хранение образцов лучше в воде и буфере ФСБ, в этих средах частицы достаточно стабильны и не происходит их агломерация.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Был оптимизирован синтез НЧ CeO_2 с полимерным покрытием, известный из литературных данных. После добавления раствора гексагидрата нитрата церия (III) с полимером к гидроксиду аммония в смесь был добавлен этанол.
2. Определили влияния pH на стабильность полученных НЧ CeO_2 . Медленнее всего частицы оседают в воде и ФСБ. Это может говорить об их стабильности в данных средах. Таким образом, для дальнейшей очистки и хранения НЧ CeO_2 использовали воду и буфер ФСБ.
3. Было изучено влияние гексагидрата нитрата церия (III) на размер НЧ CeO_2 . Можно сказать, что частицы достаточно небольшого размера образовались при синтезе с 1М нитратом церия, т.е. данная концентрация нитрата церия является наиболее оптимальным для синтеза.
4. Изучена морфология и размера, полученных НЧ CeO_2 , был использован метод СЭМ, который показал образование НЧ CeO_2 размером около 30 нм. СЭМ также показал, что образцы, синтезированные с полимерами ПИМА и ПЭГ, не подвергаются агломерации, то есть являются наиболее подходящими для синтеза НЧ CeO_2 с полимерным покрытием.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Multiple Bonding in Lanthanides and Actinides: Direct Comparison of Covalency in Thorium(IV)- and Cerium(IV)-Imido Complexes / T. Cheisson [et al.] // *J. Am. Chem. Soc.* – 2019. – Vol. 141, № 23. – P. 9185–9190.
2. Quantum Origin of the Oxygen Storage Capability of Ceria / N.V. Skorodumova [et al.] // *Phys. Rev. Lett.* – 2002. – Vol. 89, № 16. – P. 166601.
3. Xu, C. Cerium oxide nanoparticle: a remarkably versatile rare earth nanomaterial for biological applications / C. Xu, X. Qu // *NPG Asia Mater.* – 2014. – Vol. 6, № 3. – P. e90–e90.
4. Superoxide dismutase mimetic properties exhibited by vacancy engineered ceria nanoparticles / C. Korsvik [et al.] // *Chem. Commun.* – 2007. № 10. – P. 1056.
5. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity/ T. Pirmohamed [et al.] // *Chem. Commun.* – 2010. – Vol. 46, № 16. – P. 2736.
6. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity/ T. Pirmohamed [et al.] // *Chem. Commun.* – 2010. – Vol. 46, № 16. – P. 2736.
7. Oxidase-Like Activity of Polymer-Coated Cerium Oxide Nanoparticles/ A. Asati [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition.* – 2009. – Vol. 48, № 13. – P. 2308–2312.
8. Oxidase-Like Activity of Polymer-Coated Cerium Oxide Nanoparticles/ A. Asati [et al.] // *Angewandte Chemie International Edition.* – 2009. – Vol. 48, № 13. – P. 2308–2312.
9. An efficient method for dephosphorylation of phosphopeptides by cerium oxide/ F. Tan [et al.] // *J. Mass Spectrom.* – 2008. – Vol. 43, № 5. – P. 628–632.
10. Cytotoxicity of CeO₂ Nanoparticles for *Escherichia coli*. Physico-Chemical Insight of the Cytotoxicity Mechanism/ A. Thill [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2006. – Vol. 40, № 19. – P. 6151–6156.

11. Rajeshkumar S. Synthesis and biomedical applications of Cerium oxide nanoparticles – A Review/ S. Rajeshkumar, P. Naik// Biotechnology Reports. – 2018. – Vol. 17. – P. 1–5.
12. The healing effect of chitosan supported nano-CeO₂ on experimental excisional wound infected with pseudomonas aeruginosa in rat/ A. Shabrandi [et al.] // IJVS. – 2017. – Vol. 12, № 2.
13. Antiviral effect of cerium dioxide nanoparticles stabilized by low-molecular polyacrylic acid/ N.M. Zholobak [et al.] // Mikrobiol. Z. – 1993, – Vol. 72, – P. 42–47.
14. Mohammad F. Enhanced biological activity and biosorption performance of trimethyl chitosan-loaded cerium oxide particles/ F. Mohammad, T. Arfin, H.A. Al-Lohedan // Journal of Industrial and Engineering Chemistry. – 2017. – Vol. 45. – P. 33–43.