

Структурно-чувствительные свойства и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия

В.К.Иванов, А.Б.Щербаков, А.В.Усатенко

*Институт общей и неорганической химии им. Н.С.Курнакова Российской академии наук
119991 Москва, Ленинский просп., 31, факс (495) 954–1279*

Национальный университет пищевых технологий Украины

01601 Киев, ул. Владимирская, 68, Украина, факс +38(044)220–0102

Научно-исследовательский институт нанотехнологической индустрии

Университета «Украина»

04071 Киев, ул. Хорива, 1г, Украина, факс +38(044)428–8156

Обобщены результаты современных исследований физико-химических свойств и биологической активности нанокристаллического диоксида церия. Рассмотрены основные способы его получения и проанализированы перспективы применения в биологических исследованиях и медицине.

Библиография — 119 ссылок.

Оглавление

I. Введение	924
II. Структура и свойства нанокристаллического диоксида церия	925
III. Особенности воздействия нанодисперсного диоксида церия на биологические системы	931
IV. Основные методы получения нанодисперсного диоксида церия и нанофармацевтических препаратов на его основе	937

I. Введение

Применение соединений церия в составе лекарственных препаратов имеет долгую историю — первые публикации в этой области появились в 50-х гг. XIX в. В подавляющем большинстве случаев в качестве активного компонента выступают водорастворимые соли церия(III) (нитрат, хлорид, сульфат и ацетат), а также некоторые нерастворимые соединения (например, стеарат и оксалат церия), в том числе в форме коллоидных растворов.¹

Механизм воздействия соединений церия(III) на организм не вполне ясен. Отмечается,¹ что биологическая актив-

ность солей церия в отдельных случаях может быть обусловлена близостью ионных радиусов Ce^{3+} и Ca^{2+} , в связи с чем ионы церия способны частично замещать ионы кальция в целом ряде биомолекул. Таким образом можно, в частности, объяснить антикоагулирующее действие соединений церия и других лантанидов. Помимо этого хорошо известно применение солей церия(III) в качестве противорвотных, бактериостатических и бактерицидных, иммуномодулирующих и противоопухолевых препаратов.^{1,2} Так, одним из эффективных местных средств для лечения инфекций ожоговых ран и инфекционных осложнений ожоговой болезни является 1%-ный раствор сульфадиазина серебра и нитрата церия (препарат фламмацерин). Кроме оказания прямого антисептического действия, соли церия(III) помогают предотвращать послеожоговый сепсис и системный воспалительный отклик, фиксируя ожоговые токсины.

Сегодня заново исследуется незаслуженно забытый противоопухолевый потенциал препаратов церия; в частности, в работе² показана способность хлорида церия ингибировать пролиферацию клеток злокачественной опухоли желудка (линия РАМС82) и лейкемии (линия К562). Тем не менее механизмы, лежащие в основе активности соединений Ce^{3+} , еще требуют своего объяснения.¹

Возрастает роль соединений церия в сельском хозяйстве, в первую очередь в растениеводстве и животноводстве. Например, исследовано³ влияние предварительной обработки нитратом церия на прорастание семян риса: значи-

В.К.Иванов. Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник ИОНХ РАН. Телефон: (495)633–8534, e-mail: van@igic.ras.ru

А.Б.Щербаков. Кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Проблемной научно-исследовательской лаборатории НУПТ Украины. Телефон: +38(044)289–7213, e-mail: carotene@mail.ru

А.В.Усатенко. Кандидат медицинских наук, директор НИИ нанотехнологической индустрии Университета «Украина». Телефон: +38(050)596–3021, e-mail: nantek@rambler.ru
Область научных интересов авторов: неорганическая химия, неорганическое материаловедение, нанобиотехнологии.

Дата поступления 2 апреля 2009 г.

тельный положительный эффект авторы связывают с возрастанием интенсивности дыхания семян, активности супероксиддисмутазы (SOD, СОД), каталазы и пероксидазы, а также со снижением содержания супероксид-иона и малонового диальдегида. В начале 90-х гг. XX в. исследования комплексных соединений редкоземельных элементов (РЗЭ) с точки зрения их применения в биологии и сельском хозяйстве проводились в Тверском государственном университете; большой опыт использования РЗЭ для животноводства накоплен в Китае. Тогда же, в конце 90-х гг., проблемой использования РЗЭ в качестве кормовых добавок занялись исследователи из Мюнхенского университета им. Людвига и Максимилиана. Животные, которые получали типичную диету с добавлением солей РЗЭ, демонстрировали значительное увеличение ежедневного привеса (до 19%), а эффективность усваивания корма возрастала на 11%.^{4,5} Редкоземельные элементы, по-видимому, нетоксичны для животных, поскольку данная подкормка не оказывала влияния на тироксин сыворотки крови, аспартат-аминотрансферазу, аланин-аминотрансферазу, щелочную фосфатазу, общий холестерин и белок, альбумин, глюкозу, содержание Са, Р, Na, К и Cl. Накопление церия и лантана в мышцах, печени и почках через 3 недели «РЗЭ-диеты» было незначительным. Подтверждена также возможность использования РЗЭ в качестве безопасных и недорогих альтернативных кормовых добавок в свиноводстве.^{6,7} В связи с ужесточением требований ВОЗ по применению антибиотиков в подкормке домашних животных использование соединений церия (и некоторых других РЗЭ) представляется очень перспективным. В 2003 г. в Швейцарии зарегистрирован препарат лантана-церия (торговое название Lancer[®]), рекомендованные дозы которого составляют от 150 до 300 мг РЗЭ на 1 кг корма.

Сведения о биологической активности диоксида церия значительно более фрагментарны; до недавнего времени данному соединению практически не уделяли внимания, поскольку диоксид церия нерастворим в воде и биологических жидкостях. В связи с этим особый интерес представляют появившиеся в последние 5 лет сообщения о перспективах биомедицинских приложений диоксида церия в нанокристаллическом состоянии.

Необходимо отметить, что приводимые в литературе сведения о структуре и свойствах нанодисперсного CeO_{2-x} зачастую противоречивы; более того, многие свойства нанокристаллического диоксида церия до настоящего времени практически не изучены. В настоящем обзоре рассмотрены основные размерные эффекты, присущие CeO_{2-x} , проанализированы наиболее важные методы исследования нанокристаллического диоксида церия, обобщены имеющиеся сведения о его биологической активности и описаны наиболее эффективные способы его получения.

II. Структура и свойства нанокристаллического диоксида церия

С уменьшением размеров частиц параметры элементарных ячеек многих веществ (например, золота⁸) уменьшаются вследствие увеличения поверхностного натяжения. Тем не менее недавно было показано, что для некоторых оксидных соединений (включая CeO_{2-x}) ситуация противоположная: параметр элементарной ячейки с уменьшением размеров частиц увеличивается. Соответствующие данные были впервые получены при исследовании практически монодисперсных частиц диоксида церия с размерами 6.7, 3.8 и 2.1 нм, которые выделяли из сильноокислых золь, стабилизирован-

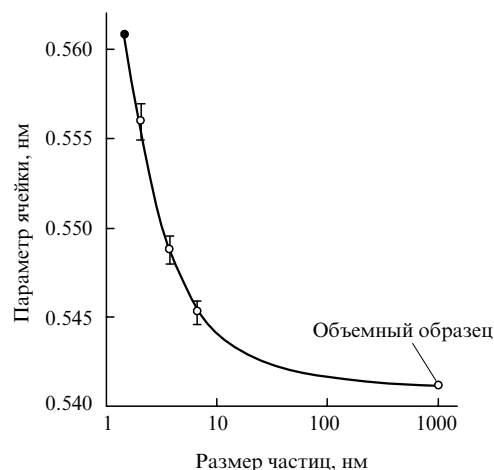


Рис. 1. Зависимость параметра элементарной ячейки от размера частиц CeO_{2-x} для нанокристаллических и крупнокристаллических образцов.⁹

Черный кружок отвечает модельному случаю с содержанием Ce^{3+} 100%.

ных анионными ПАВ.^{9,10} Измерения размеров частиц и определение параметров решетки проводили методами просвечивающей электронной микроскопии и электронной дифракции. На рис. 1 приведена полученная в исследовании⁹ зависимость параметра элементарной ячейки от размера частиц CeO_{2-x} . По мнению авторов, наблюдаемый характер изменения размера ячейки обусловлен постепенным уменьшением эффективной степени окисления церия вследствие удаления части атомов кислорода, находящихся на поверхности частиц, из соответствующих кристаллографических позиций с образованием кислородных вакансий. Проведенные авторами работ^{9–11} расчеты показывают, что критический размер частиц, при котором должен наблюдаться полный переход $\text{Ce}^{4+} \rightarrow \text{Ce}^{3+}$, составляет 1.9 нм (табл. 1). Предлагаемая модель частичного восстановления церия включает протонирование поверхностных атомов кислорода с последующим удалением воды и образованием кислородных вакансий.

Результаты компьютерного моделирования¹² свидетельствуют о том, что для веществ с преимущественно ионным типом связи (в том числе для оксидов) изменения параметра элементарной ячейки при переходе в наносостояние обусловлены изменениями формальной степени окисления атомов. При этом уменьшение формальной степени окисления неизбежно приводит к увеличению параметра ячейки вследствие уменьшения электростатических сил, тогда как увеличение формальной степени окисления в зависимости от структуры соединений может приводить как к уменьшению, так и к увеличению параметра ячейки.

Таблица 1. Размеры и состав наночастиц CeO_{2-x} .⁹

Размер частиц, нм	Доля атомов церия в приповерхностном слое, % (расчет)	Доля Ce^{3+} , % (эксперимент)	Номинальный состав частиц
7.0	27	21	$\text{CeO}_{1.894}$
4.6	43	38	$\text{CeO}_{1.810}$
2.6	75	74	$\text{CeO}_{1.630}$
1.9	100		

В работах^{13–15} получены дополнительные экспериментальные подтверждения эффекта увеличения параметра ячейки диоксида церия при уменьшении размеров частиц. В частности, проведен¹³ анализ наночастиц CeO_{2-x} (3–20 нм), полученных газовой фазой методом. Установлено, что значения параметра ячейки в зависимости от размера частиц варьируют в пределах 0.541–0.561 нм; таким образом, диапазон изменения параметра ячейки несколько превосходит указанный в статьях^{9–12}. По мнению авторов работы¹³, подобное расхождение обусловлено более неравновесными условиями получения наночастиц CeO_{2-x} . Методом спектроскопии энергетических потерь электронов было установлено, что кислородная нестехиометрия наночастиц увеличивается от центра к поверхности. Таким образом, наночастицы диоксида церия в действительности представляют собой наноструктуры типа «ядро в оболочке»; при этом в относительно крупных частицах ядро по составу близко к стехиометрическому диоксиду церия, а поверхность — к Ce_2O_3 . Проведенные¹³ измерения показали, что толщина поверхностного слоя различна для частиц CeO_{2-x} разного размера (рис. 2) и с уменьшением размера частиц доля Ce_2O_3 резко возрастает. Эффективная степень окисления церия равна +3 уже для частиц диаметром 3 нм (1.9 нм по другим оценкам⁹).

По данным исследования¹⁴, для частиц CeO_{2-x} размером 6.1–80 нм, полученных гомогенным осаждением из нитрата церия(III) в присутствии гексаметилентетрамина, значение параметра элементарной ячейки изменяется от 0.543 до 0.541 нм (рис. 3). Отметим, что как сами величины, так и диапазон их изменений существенно меньше указанных в работах^{9,13}. Сходные данные (диапазон значений параметра ячейки 0.550–0.541 нм для частиц размером 5–30 нм) были получены авторами настоящего обзора на основании уточнения структурных параметров по методу Ритвелда при исследовании нескольких серий образцов нанокристаллического диоксида церия, приготовленных методами быстрого и гомогенного осаждения.

Результаты измерений параметра ячейки для сильноагрегированных частиц CeO_{2-x} , синтезированных методами «мягкой химии» в присутствии пероксида водорода, демонстрируют ту же тенденцию, однако диапазон значений составляет 0.542–0.560 нм,¹⁵ что хорошо коррелирует с данными работы¹³. По мнению авторов работы¹⁵, увеличе-

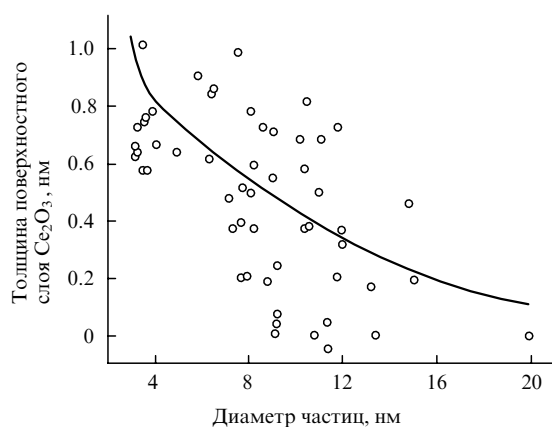


Рис. 2. Толщина поверхностного слоя Ce_2O_3 для частиц CeO_{2-x} различного размера (в предположении о том, что ионы Ce^{3+} локализованы только вблизи поверхности).¹³

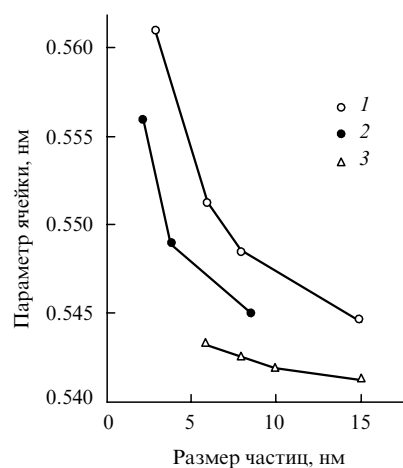


Рис. 3. Зависимости параметра элементарной ячейки от размера частиц CeO_{2-x} по данным работы¹³ (1), работ^{9,16} (2), работы¹⁴ (3).¹⁷

ние параметра ячейки обусловлено частичным восстановлением ионов Ce^{4+} на поверхности частиц под действием пероксида водорода. Получены¹⁵ следующие данные о концентрации Ce^{3+} в наночастицах CeO_{2-x} различного размера:

Размер частиц, нм	3	6	30
Содержание Ce^{3+} , %	44	29	17

На рис. 3 представлены результаты, полученные в разных исследованиях зависимости параметра кристаллической решетки CeO_{2-x} от размера частиц. Рисунок наглядно иллюстрирует указанное выше несоответствие между опубликованными данными. По мнению авторов работ^{16,17}, причина таких различий может быть связана с разной формой наночастиц CeO_{2-x} : зависимости с большим наклоном наблюдаются для частиц сферической или эллипсоидной формы,^{9,13} тогда как более пологая зависимость характерна для частиц с октаэдрической гранкой (см.¹⁴). Учитывая, что кислородная нестехиометрия диоксида церия коррелирует с его каталитической активностью, авторы утверждают, что для каталитических приложений желательно использовать нанопорошки CeO_{2-x} , состоящие из частиц, не имеющих ярко выраженной гранки.

Однако накопленный к настоящему времени объем экспериментальных данных относительно невелик, поэтому действительные причины различий в значениях параметра решетки для наночастиц CeO_{2-x} , синтезированных различными методами, пока неизвестны. В частности, можно предположить, что кислородная нестехиометрия поверхностных слоев наночастиц CeO_{2-x} может в существенной степени зависеть от природы молекул и ионов, адсорбированных на их поверхности. Кроме того, дополнительное увеличение кислородной нестехиометрии может возникать вследствие синтеза наночастиц диоксида церия в сильно неравновесных условиях. К подобному результату, например, может привести высокотемпературный синтез CeO_{2-x} в атмосфере с малым парциальным содержанием кислорода с последующей быстрой закалкой.¹⁸

Выдвинутая⁹ гипотеза о зависимости кислородной нестехиометрии от размера частиц нанокристаллического диоксида церия находит подтверждение при анализе данных спектроскопии комбинационного рассеяния. В работах^{19,20}

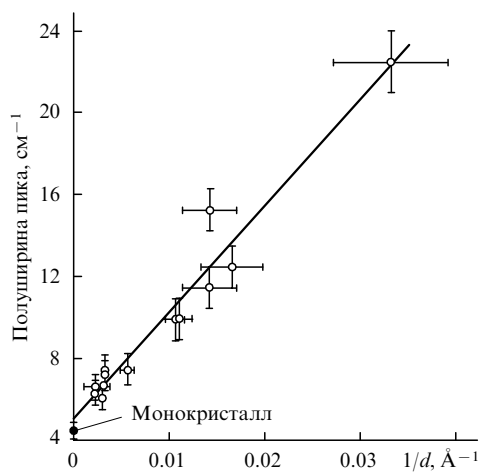


Рис. 4. Зависимость полуширины пика при 464 cm^{-1} в спектрах КР от обратного размера частиц.²⁰

впервые было продемонстрировано, что с уменьшением размеров частиц CeO_{2-x} наблюдаются систематические изменения в спектрах КР; в частности, изменяются положение и ширина пика, соответствующего трижды вырожденной активной моде F_{2g} (464 cm^{-1}). Экспериментальная зависимость полуширины указанной линии от обратного размера частиц показана на рис. 4.

Отмечено,^{21,22} что мода при 464 cm^{-1} , соответствующая симметричным колебаниям фрагмента CeO_8 , должна быть исключительно чувствительна к любым нарушениям симметрии кислородной подрешетки, в том числе к изменениям кислородной стехиометрии диоксида церия, которые вызваны термической обработкой и(или) обусловлены размерными эффектами. Данный вывод находит косвенное подтверждение при анализе спектров КР образцов диоксида церия, допированных РЗЭ: наблюдаемые сдвиги в положении линий зависят прежде всего от концентрации кислородных вакансий, которая, в свою очередь, определяется содержанием добавки.²³

Анализ спектров КР тонкопленочных образцов диоксида церия с разным размером частиц (4–300 нм) показал,^{21,22} что основными эффектами, сопровождающими уменьшение размеров кристаллитов, являются уширение пика при 464 cm^{-1} и одновременное увеличение его асимметрии (рис. 5), которое вызвано уменьшением времени жизни фононов, характерным для нанокристаллических материалов.²⁰ Была подтверждена линейная зависимость полуширины пика от обратного размера частиц. Следует отметить, что аналогичные зависимости были получены ранее и для других нанокристаллических материалов (Si, Ge, GaAs и др.).

Для описания структуры нанокристаллического диоксида церия предложено^{21,22} использовать пространственно-корреляционную модель. Вводимый параметр корреляционной длины соответствует среднему размеру области, в которой сохраняется пространственная однородность материала. При концентрации кислородных вакансий 10^{21} cm^{-3} практически в каждой элементарной ячейке диоксида церия присутствуют дефекты и корреляционная длина соответствует расстоянию кислород–кислород в ячейке ($2.71 \text{ \AA}$). Для монокристаллов с очень малой степенью нестехиометрии корреляционная длина стремится к бесконечности. Установлено,

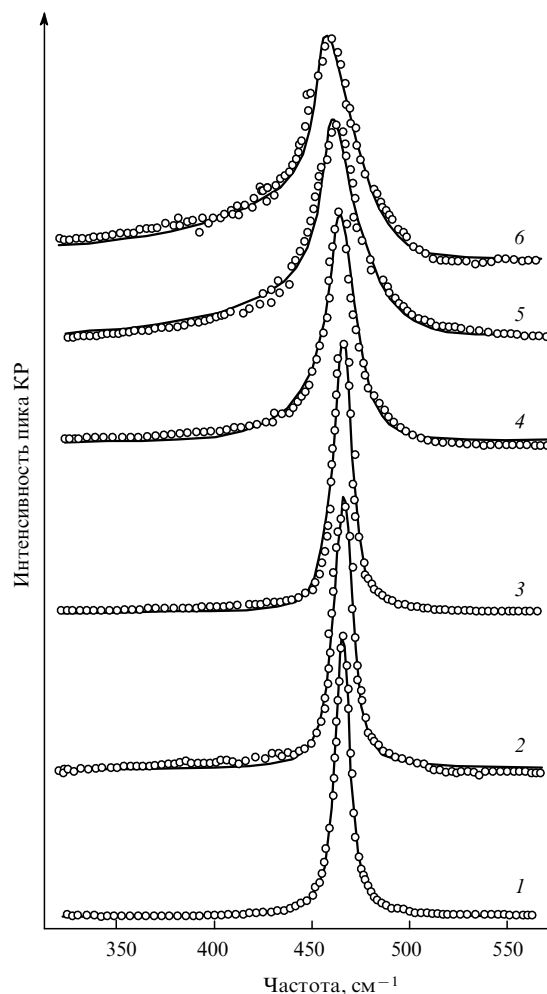


Рис. 5. Спектры КР монокристаллического (1) и нанокристаллических (2–6) образцов CeO_{2-x} .²² Размер частиц, нм: 150 (2), 64 (3), 20 (4), 9 (5), 4 (6). Сплошные линии — моделирование, точки — эксперимент.

что данная модель позволяет удовлетворительно описать форму пиков в спектрах КР CeO_{2-x} ; при этом рассчитанные на основании корреляционных длин концентрации кислородных вакансий ($10^{17}–10^{20} \text{ cm}^{-3}$) в наночастицах разного размера хорошо совпадают с аналогичными величинами, полученными методами кулонометрического титрования и измерения электропроводности.

Показано,²⁴ что сдвиг пиков КР в область меньших энергий определяется увеличением параметра кристаллической ячейки диоксида церия при уменьшении размеров частиц. В свою очередь, увеличение ширины пика обусловлено наличием неомогенных напряжений решетки. Отжиг наночастиц CeO_{2-x} при высоких температурах приводит к необратимым изменениям в положении пика КР (рис. 6), что, по мнению авторов работы²⁴, вызвано релаксацией напряжений и(или) окислением нестехиометрического диоксида церия.

Проведено²⁵ детальное сопоставление данных порошковой дифракции, спектроскопии КР и низкотемпературной адсорбции азота для серии образцов CeO_{2-x} , синтезированных золь–гель-методом. Показано, что коэффициенты в уравнении, описывающем зависимость ширины (Γ, cm^{-1})

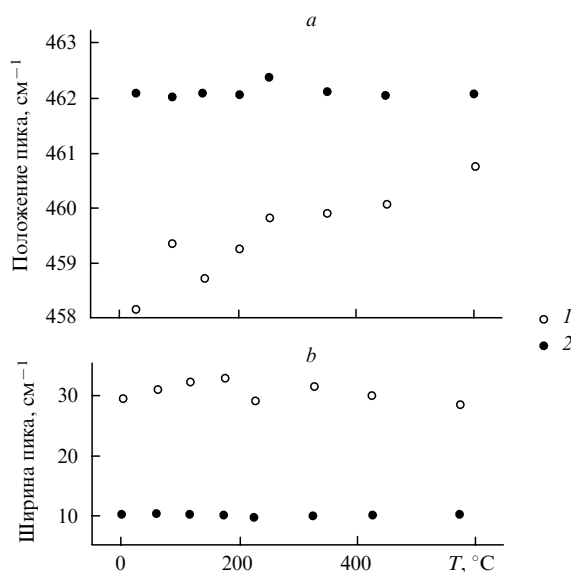


Рис. 6. Изменения положения (а) и ширины (б) пика КР после высокотемпературного отжига для нанокристаллических образцов CeO_{2-x} с размером частиц 6.1 (1) и 25 нм (2).²⁴

пика КР от обратного размера кристаллитов ($1/d$), зависят от химической предыстории материала (d в нм):

$$\Gamma = 5 + \frac{51.8}{d} \text{ (см.}^{20}\text{)},$$

$$\Gamma = 10 + \frac{124.7}{d} \text{ (см.}^{21}\text{)},$$

$$\Gamma = 5.48 + \frac{98.4}{d} \text{ (см.}^{19}\text{)}.$$

Согласно данным рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС),^{26–28} помимо ионов Ce^{4+} (электронная конфигурация $4f^0$), диоксид церия действительно может содержать ионы церия в промежуточной, более низкой, степени окисления ($4f^n$, $n \approx 0.5$). Вместе с тем экспериментально установлено,^{29,30} что частичное восстановление церия может происходить непосредственно в рабочей камере спектрометра в ходе измерений при облучении образцов CeO_{2-x} рентгеновским излучением в глубоком вакууме (табл. 2), что необходимо учитывать при интерпретации результатов РФЭС. Авторы работ^{29,30} полагают, что указанный эффект может быть обусловлен локальным разогревом образцов в процессе измерений. Сведения о возможности частичного восстановления диоксида церия при регистрации спектров РФЭС подтверждаются данными работы³¹. По мнению авторов, восстановление может происходить только в том случае, если поверхность анализируемых образцов гидроксидирована. Следует отметить, что указанная гипотеза была оспорена в исследовании³², авторы которого считают, что измерения в работе³¹ были проведены некорректно.

Отмечено,³³ что значимого восстановления диоксида церия в глубоком вакууме при кратковременной (10 мин) съемке спектров РФЭС не наблюдается вплоть до 600°C , тогда как в атмосфере водорода (10^{-2} Па) восстановление образцов начинается при температурах выше 300°C . Установлено,³⁴ что при повышении давления водорода до 100 кПа частичное восстановление диоксида церия может происходить даже при комнатной температуре. Восстановление

Таблица 2. Энергии связи для образцов CeO_2 и Ce_2O_3 , подвергавшихся воздействию рентгеновских лучей ($\text{Al K}\alpha$, $h\nu = 1486.6$ эВ) в глубоком вакууме ($5 \cdot 10^{-10}$ мм рт. ст.) в течение различных промежутков времени.²⁹

Образец	Продолжительность облучения, мин	Энергия связи, эВ	
		Ce 3d _{5/2}	Ce 3d _{3/2}
CeO_2	15	882.1	900.6
		888.4	907.1
		898.1	916.5
	45	882.1	900.6
		888.5	907.2
		898.2	916.5
	300	885.2	903.8
		882.1	900.7
		888.6	907.1
		898.2	916.5
Ce_2O_3	15	885.3	903.9
		880.9	899.7
		885.3	903.8

диоксида церия в атмосфере водорода происходит в две стадии, при этом при нагревании образцов вплоть до 650°C восстанавливается только один поверхностный слой ионов церия.³⁵ Исследования³⁶ процессов окисления предварительно частично восстановленного диоксида церия показали, что даже после выдерживания в атмосфере кислорода на поверхности образцов CeO_{2-x} присутствуют ионы Ce^{3+} .

Обнаружено,³⁷ что динамика процессов восстановления диоксида церия в процессе регистрации рентгеновских фотоэлектронных спектров может определяться не только такими факторами, как энергия облучения и состав атмосферы в камере спектрометра, но и дисперсностью анализируемых образцов. В частности, исследуя образцы CeO_{2-x} с размерами частиц 2.2 и 35 нм, авторы работы³⁷ установили, что высокодисперсные образцы подвергаются более глубокому восстановлению, при этом скорость восстановления также существенно возрастает (рис. 7).

Анализ кислородной нестехиометрии наночастиц CeO_{2-x} различного размера методом РФЭС был впервые проведен

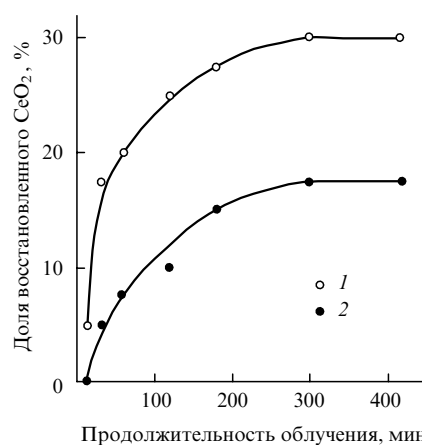


Рис. 7. Восстановление образцов CeO_{2-x} в ходе регистрации рентгеновских фотоэлектронных спектров.³⁷ Образцы синтезированы при 200°C (1) и 750°C (2).

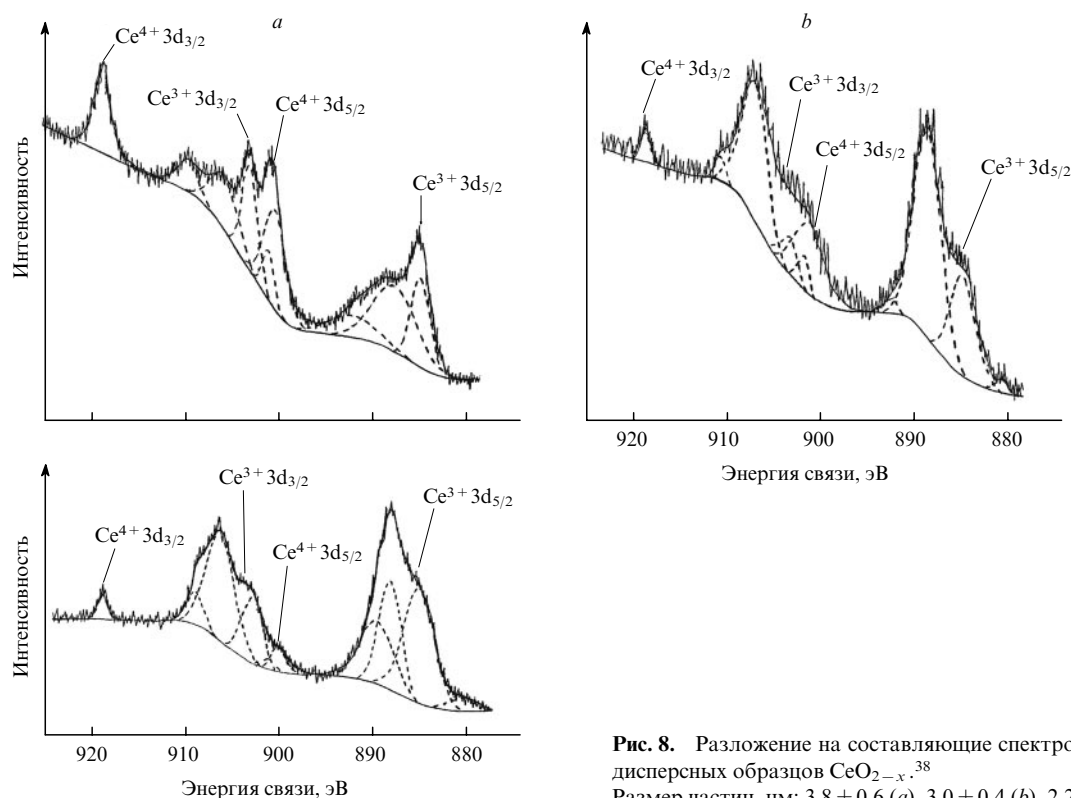


Рис. 8. Разложение на составляющие спектров Ce 3d для монодисперсных образцов CeO_{2-x} .³⁸ Размер частиц, нм: 3.8 ± 0.6 (a), 3.0 ± 0.4 (b), 2.2 ± 0.3 (c).

авторами исследования³⁸. Деконволюция рентгеновских фотоэлектронных спектров (рис. 8) наглядно доказывает увеличение относительного содержания Ce^{3+} в более высокодисперсных образцах. Авторы отмечают, что полученные данные удовлетворительно коррелируют с результатами определения кислородной нестехиометрии наночастиц CeO_{2-x} по данным электронной дифракции.

В дальнейшем было показано,³⁹ что при определении содержания Ce^{3+} в нанокристаллических образцах CeO_{2-x} РФЭС дает существенно завышенные результаты, что связано с восстановлением поверхностного слоя диоксида церия в условиях глубокого вакуума под действием рентгеновского излучения даже при минимальной продолжительности анализа. Чтобы преодолеть это ограничение, авторы работы³⁹ предложили рассматривать наночастицы CeO_{2-x} состоящими из ядра, кислородная нестехиометрия которого в существенной степени определяется размерным фактором, и оболочки, которая в ходе измерений восстанавливается до оксида церия(III). Полученные на основе этой модели результаты приведены в табл. 3.

Следует отметить, что даже в рамках указанного подхода концентрация Ce^{3+} , найденная методом РФЭС, заметно превосходит определенную независимыми методами.

Таблица 3. Характеристики образцов CeO_{2-x} различной дисперсности в рамках модели «ядро + оболочка».³⁹

Размер частиц, нм	Концентрация Ce^{3+} в поверхностном слое, %	Толщина поверхностного слоя, Å	Концентрация Ce^{3+} в объеме частицы, %
6	25.2	2.2	10.6
10	22.3	1.9	5.6
5000	11.6	0.9	0.0054

Помимо этого необходимо учитывать, что содержание Ce^{3+} в анализируемых образцах может зависеть не только от размеров частиц, но и от условий их получения. Так, методом РФЭС установлено,⁴⁰ что образцы нанокристаллического диоксида церия, полученные отжигом при 250°C, имеют меньшую степень нестехиометрии по сравнению с аналогичными образцами, отожженными при 650°C, хотя размер частиц в последних (12 нм) существенно превосходит размер частиц в первых (9 нм). Аналогичные результаты были получены⁴¹ при сравнительном анализе микро- и нанокристаллического образцов CeO_{2-x} из различных источников.

Описанные выше изменения кислородной нестехиометрии при уменьшении размеров наночастиц непосредственно влияют на электронные свойства диоксида церия, который приобретает свойства широкозонного полупроводника. В работе⁴² впервые выполнен сравнительный анализ спектров поглощения коллоидных частиц CeO_{2-x} размером 2.6 и 4.1 нм, полученных синтезом в обратных мицеллах. Установлено, что с уменьшением размеров частиц наблюдается увеличение ширины запрещенной зоны (E_g) от 2.73 до 2.87 эВ для непрямого перехода и от 3.38 до 3.44 эВ для прямого перехода (рис. 9). Сопоставление полученных результатов с близкими величинами, найденными ранее при исследовании тонких пленок CeO_2 , позволило авторам работы⁴² сделать вывод, что изменение ширины запрещенной зоны не связано с квантово-размерными эффектами. Тем не менее данный вывод представляется не вполне корректным, поскольку сопоставление проводилось с нанокристаллическими пленками, а не с объемными образцами.

С помощью УФ-спектроскопии определены⁴³ величины E_g для коллоидных растворов наночастиц диоксида церия со средними размерами 3.2 ± 0.5 , 2.7 ± 0.4 и 2.2 ± 0.3 нм. Показано, что с уменьшением размеров частиц ширина запрещенной зоны для прямого перехода увеличивается от 3.60 до 3.90

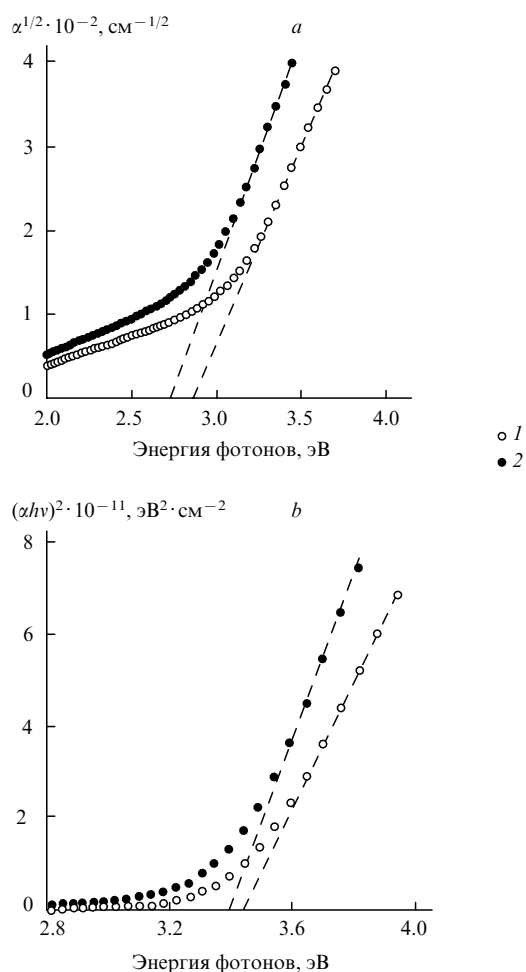


Рис. 9. Определение ширины запрещенной зоны наночастиц диоксида церия различного размера для непрямого (а) и прямого переходов (б).⁴² Размер частиц CeO_{2-x} , нм: 2.6 (1), 4.1 (2).

и 4.12 эВ соответственно. Найденные величины E_g существенно превосходят указанные в работе⁴². Одной из вероятных причин такого расхождения может быть чрезвычайно высокая погрешность определения E_g при линеаризации данных УФ-спектроскопии. По мнению авторов работы⁴³, наблюдаемое изменение E_g обусловлено тем, что с уменьшением размеров частиц CeO_{2-x} происходит увеличение их нестехиометрии. Действительно, при частичном восстановлении Ce^{4+} до Ce^{3+} увеличивается разница в энергиях между O 2p- и Ce 4f-орбиталями, что, соответственно, приводит к гипсохромному сдвигу полосы поглощения CeO_{2-x} .

При изучении тонких пленок нанокристаллического диоксида церия получены⁴⁴ дополнительные подтверждения того, что с уменьшением размеров частиц запрещенная зона как для прямого, так и для непрямого переходов становится шире (рис. 10). Отметим, что эти данные противоположны результатам других исследований (см., например,⁴⁵), согласно которым ширина запрещенной зоны с уменьшением размеров частиц уменьшается. Авторы работы⁴⁵ полагают, что для диоксида церия не характерны квантово-размерные эффекты, а наблюдаемый «красный» сдвиг полосы поглощения обусловлен частичным восстановлением поверхности наночастиц. Таким образом, имеющиеся на сегодняшний

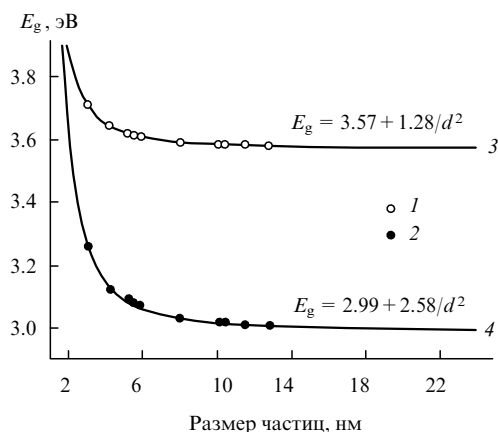


Рис. 10. Зависимости ширины запрещенной зоны от размеров частиц CeO_{2-x} для прямого (1) и непрямого (2) переходов.⁴⁴ Линии 3 и 4 — соответствующие расчеты в рамках квантово-размерной модели.

день экспериментальные данные о влиянии кислородной нестехиометрии на полупроводниковые свойства диоксида церия в целом крайне противоречивы.

Предложено⁴⁶ полуэмпирическое уравнение, количественно описывающее зависимость ширины запрещенной зоны CeO_{2-x} для прямого перехода от размера частиц:

$$E_g = E_{\text{bulk}} + \frac{\hbar^2 \pi^2}{2R^2} \left(\frac{1}{m_e} + \frac{1}{m_h} \right) - \frac{1.8e^2}{\epsilon R},$$

где E_g — измеряемая ширина запрещенной зоны наночастиц CeO_{2-x} , E_{bulk} — ширина запрещенной зоны для крупнокристаллического диоксида церия, $\hbar$ — постоянная Планка, R — радиус наночастиц, m_e и m_h — эффективные массы электрона и дырки соответственно, ϵ — относительная диэлектрическая постоянная диоксида церия, равная 24.5. Показано, что размеры частиц CeO_{2-x} в золях, определенные в соответствии с данным уравнением, хорошо согласуются с результатами непосредственных измерений методом ПЭМ. Авторы отмечают, что данные УФ-спектроскопии могут использоваться для контроля за процессами роста частиц CeO_{2-x} непосредственно в ходе синтеза.

Результаты исследования⁴⁷ подтверждают зависимость ширины запрещенной зоны CeO_{2-x} от размера наночастиц. Следует отметить, что зафиксированные в работе⁴⁷ величины E_g (3.45 и 3.68 эВ для наночастиц диаметром 3.6 и 3.3 нм) заметно превосходят аналогичные значения для близких по размеру частиц CeO_{2-x} , приведенные в работе⁴². Анализ УФ-спектров поглощения⁴⁷ позволяет предположить, что ширина запрещенной зоны наночастиц CeO_{2-x} определяется не только их размером, но и условиями синтеза, которые могут влиять на степень кислородной нестехиометрии конечных продуктов.

Указанное предположение подтверждается⁴⁸ данными для нанокристаллических образцов CeO_{2-x} , синтезированных сольвотермальным методом. Установлено, что ширина запрещенной зоны для наночастиц оказывается в целом существенно меньше ширины запрещенной зоны для объемных образцов CeO_{2-x} ; однако при изменении размеров наночастиц величина E_g остается практически неизменной (табл. 4). Показано, что при синтезе CeO_{2-x} из соединений церия(IV) формируются образцы с более узкой запрещенной

Таблица 4. Ширина запрещенной зоны для наночастиц CeO_{2-x} различного размера, синтезированных сольвотермальным методом из нитрата церия(III) и гексанитратоцерата(IV) аммония.⁴⁸

CeO_{2-x} из $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$			CeO_{2-x} из $(\text{NH}_4)_2[\text{Ce}(\text{NO}_3)_6]$		
размер частиц, нм	E_g , эВ		размер частиц, нм	E_g , эВ	
	прямой переход	непрямой переход		прямой переход	непрямой переход
2.6	3.42	2.73	2.9	3.30	2.34
3.0	3.43	2.76	3.6	3.32	2.48
3.7	3.44	2.74	4.7	3.33	2.49
4.6	3.42	2.70	6.9	3.28	2.31
6.9	3.38	2.56			

зоной по сравнению с образцами, синтезированными из солей церия(III). Иными словами, осаждение из растворов церия(IV) приводит к образцам диоксида церия, состав которых ближе к стехиометрическому. Каких-либо объяснений указанному явлению и отсутствию зависимости E_g от размера частиц авторы работы⁴⁸ не приводят.

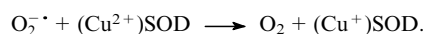
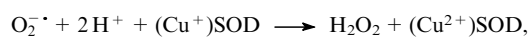
Таким образом, анализ имеющихся публикаций свидетельствует о том, что влияние химической предыстории и размерного эффекта на свойства нанокристаллического диоксида церия (прежде всего на его кислородную нестехиометрию) требует дополнительных комплексных исследований для разрешения отмеченных противоречий. В свою очередь, именно кислородная нестехиометрия нанокристаллического диоксида церия, как будет показано ниже, отвечает за его уникальную биологическую активность.

III. Особенности воздействия нанодисперсного диоксида церия на биологические системы

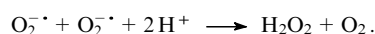
Перспективы использования нанокристаллического диоксида церия для воздействия на биологические системы определяются двумя основными факторами: присущей данному материалу высокой кислородной нестехиометрией и его низкой токсичностью. Первый фактор обуславливает активность нанокристаллического CeO_{2-x} в биохимических окислительно-восстановительных процессах, особенно в инактивировании активных форм кислорода (АФК), в том числе свободных радикалов, в живой клетке. Второй фактор обеспечивает сравнительную безопасность применения наночастиц CeO_{2-x} *in vivo*. К специфическим свойствам CeO_{2-x} следует отнести способность к регенерации, которая выражается в том, что наночастицы диоксида церия, принимавшие участие в окислительно-восстановительном процессе, за сравнительно небольшой промежуток времени способны возвращаться к исходному состоянию (в отношении кислородной нестехиометрии).

Установлено,⁴⁹ что механизм инактивирования свободных радикалов наночастицами диоксида церия аналогичен действию супероксиддисмутазы. Исследования взаимодействия наночастиц диоксида церия с пероксидом водорода методами РФЭС и УФ-спектроскопии показали, что увеличение соотношения $\text{Ce}^{3+}:\text{Ce}^{4+}$ в наночастице напрямую коррелирует с повышением ее способности выполнять функции СОД. Эти результаты убедительно подтверждают, что размеры и состояние поверхности частиц CeO_{2-x} играют ключевую роль в инактивировании супероксидных свободных радикалов и наиболее значимым фактором является

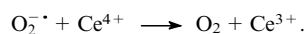
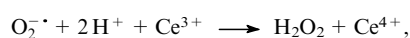
именно присутствие церия(III) в поверхностном слое. Действительно, известно, что инактивирование супероксид-анионов супероксиддисмутазой протекает в две стадии, причем дисмутация радикала приводит к образованию сравнительно малотоксичных пероксида водорода и кислорода; СОД при этом регенерируется. Для медьсодержащей СОД процессы могут быть представлены следующими уравнениями:



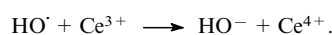
Суммарный процесс можно записать как



Для наночастиц CeO_{2-x} суммарный процесс тот же самый; он включает две стадии, причем в итоге эффективная степень окисления церия в CeO_{2-x} остается неизменной:



Более того, по мнению авторов работы⁵⁰, наночастицы диоксида церия (в отличие от СОД) способны инактивировать также и гидроксил-радикал:



Данный факт нашел свое подтверждение в работе⁵¹, где методом ЭПР установлена способность наночастиц диоксида церия размером 3–5 нм в концентрациях 1 и $1 \cdot 10^{-2}$ ммоль $\cdot$ л⁻¹ инактивировать как супероксид-, так и гидроксил-радикалы. Выяснилось, что антиоксидантная активность наночастиц с уменьшением их концентрации возрастает. По мнению авторов, этот эффект связан с возможной агломерацией частиц CeO_{2-x} при увеличении их концентрации.

Очевидно, механизм инактивирования АФК наночастицами CeO_{2-x} применим и к биологическим системам; следует также ожидать сохранения способности нанокристаллического диоксида церия к авторегенерации.

Известно, что в клетках и в биологических жидкостях спектры люминесценции наночастиц диоксида церия в исходном (частично восстановленном) состоянии имеют максимум при 451 нм.⁵² После взаимодействия с АФК этот максимум смещается к 356 нм, однако через 5–20 мин спектры возвращаются к исходным с максимумом при 451 нм, что свидетельствует о регенерации наночастиц диоксида церия.⁵² На рис. 11 показаны спектры люминесценции наночастиц диоксида церия при внесении их в культуру астроцитов *in vitro* с последующим добавлением раствора H_2O_2 . В данном случае механизм действия наночастиц диоксида церия подобен таковому для каталазы. Однако если активность наночастиц CeO_{2-x} по механизму действия СОД зависит от содержания на их поверхности церия(III), то активность по механизму действия каталазы обусловлена присутствием на поверхности Ce^{4+} :



Процесс регенерации поверхности наночастиц CeO_{2-x} (окисления Ce^{3+}) в водном растворе H_2O_2 протекает, по-видимому, через образование на их поверхности монопероксидтригидроксида церия (реакция (1)) и характеризуется наличием нескольких лимитирующих стадий, скорость про-

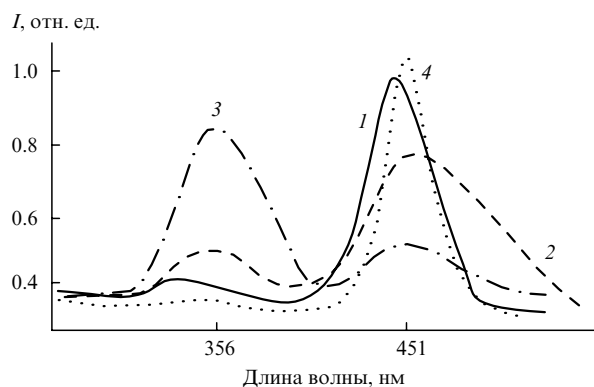
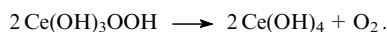
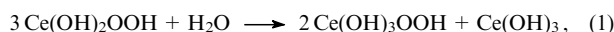
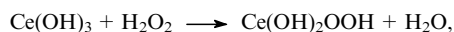


Рис. 11. Спектры люминесценции наночастиц диоксида церия в процессе инактивирования H_2O_2 внутри клетки.⁵² Без добавления H_2O_2 (1), после введения H_2O_2 через 0.2 мс (2), 0.8 мс (3), 25 мин (4).

текания которых зависит от целого ряда факторов (концентрации пероксида водорода, pH раствора и др.):



На основании приведенных данных можно предположить, что наночастицы CeO_{2-x} способны повысить выживаемость клеток, подвергающихся воздействию H_2O_2 . Действительно, на основании экспериментов с культурой ретинальных нейронов, используя флуориметрический анализ с 2,7-дихлорфлуоресцеином, авторы работы⁵³ подтвердили подобное защитное действия наночастиц диоксида церия (рис. 12).

Впервые антиоксидантное действие нанодисперсного CeO_{2-x} *in vitro* было исследовано в работах^{54,55}. Для изучения защитного эффекта CeO_{2-x} при окислительном стрессе к нейронам линии HT22 была добавлена суспензия наночастиц CeO_{2-x} в ростовой среде, после чего клетки обрабатывали глутаминовой кислотой, которая вызывает их гибель по механизму окситоза (апоптоза, вызываемого окислительным стрессом).⁵⁶ Установлено, что присутствие наночастиц

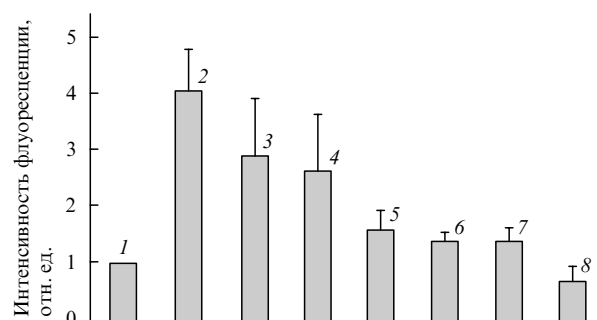


Рис. 12. Ингибирование внутриклеточного накопления АФК после введения $1 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$ посредством предварительной (за 12 ч) обработки ретинальных нейронов наночастицами диоксида церия.⁵³

1 — контрольный опыт, 2 — H_2O_2 без CeO_{2-x} ; H_2O_2 и CeO_{2-x} различной концентрации, $\text{нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$: 1 (3), 3 (4), 5 (5), 10 (6), 20 (7); 8 — CeO_{2-x} без H_2O_2 .

диоксида церия в значительной степени предотвращает гибель клеток. При этом, по данным авторов работы⁵⁴, количество выживших клеток зависит от содержания CeO_{2-x} , но не зависит от размера наночастиц. Следует отметить, что последующие исследования показали повышенную активность частиц CeO_{2-x} диаметром $\leq 20 \text{ нм}$. Дополнительные эксперименты подтвердили механизм нейропротекторного действия CeO_{2-x} , связанный с кислородной нестехиометрией данного соединения.⁵⁴

Исследована⁵⁷ активность наночастиц диоксида церия против окислительного стресса в клетках млекопитающих. Для повышения устойчивости зольей наночастиц CeO_{2-x} (3.7 нм) в качестве стабилизатора использовали лецитин. Стабилизированные частицы вводили в клетки $\beta\text{TSC-tet}$ инсулиномы крыс и определяли концентрацию свободных радикалов, возникающих под воздействием гидрохинона. Полученные результаты свидетельствуют, что в присутствии наночастиц диоксида церия концентрация свободных радикалов снижается. Кроме того, показано, что наночастицы CeO_{2-x} значительно повышают выживаемость клеток в условиях окислительного стресса.

Наночастицы диоксида церия обеспечивают защиту не только от свободных радикалов, искусственно вводимых в биологические культуры, но также и от АФК, образующихся в биологических системах при неблагоприятных условиях (механическом травмировании, воздействии УФ- или ионизирующего излучения и др.). Справедливость данного предположения продемонстрирована в целом ряде работ,^{53, 58–66} причем механизм антиоксидантного действия наночастиц CeO_{2-x} авторы также объясняют присутствием на их поверхности ионов Ce^{3+} и Ce^{4+} .

Так, в исследовании⁶¹ смешанные органотипические культуры клеток мозга травмировали *in vitro* (способ и условия травмирования под действием белка описаны в работе⁶²). На рис. 13 показано действие наночастиц CeO_{2-x} на предварительно травмированные клетки мозга. Как следует из представленных данных, в присутствии CeO_{2-x} жиз-

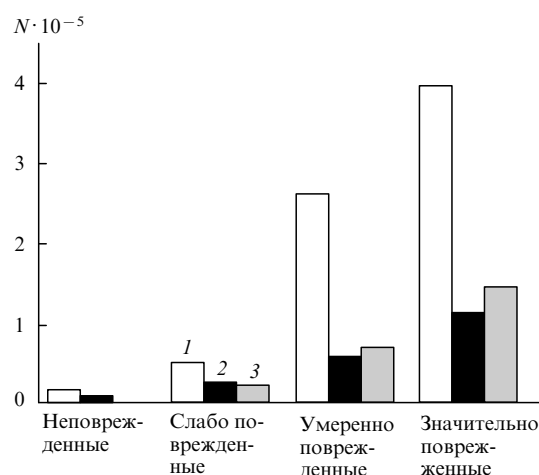


Рис. 13. Гибель нейронов мозга в культурах, обработанных наночастицами диоксида церия ($10 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$), и в контрольных экспериментах.⁶¹

1 — контрольный опыт, 2 — CeO_{2-x} на 10-й день после повреждения *in vitro*, 3 — CeO_{2-x} сразу после повреждения. Здесь и далее N — число погибших клеток на 1 мг травмирующего белка.

неспособность нейронов существенно возрастает. Таким образом, наночастицы диоксида церия могут выполнять не только профилактическую, но и терапевтическую функцию защиты клеток головного мозга от травматического стресса.

Авторы работы⁵⁸ впервые показали *in vivo*, что при внутривенном введении наночастицы CeO_{2-x} (благодаря своим антиоксидантным свойствам) снижают миокардиальный окислительный стресс, эндоплазматический стресс и подавляют воспалительные процессы у мышей, обеспечивая таким образом защиту против прогрессирования сердечной дисфункции.

Продemonстрированы⁵³ защитные свойства нанокристаллического диоксида церия по отношению к нейронам сетчатки глаза при УФ-облучении последних. При проведении исследований *in vitro* и *in vivo* установлено, что предварительное введение CeO_{2-x} в сетчатку глаза крыс в существенной степени предотвращает гибель фоторецепторных клеток при последующем воздействии мощного светового потока; при этом использование суспензии CeO_{2-x} с концентрацией $1 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ обеспечивает практически полную защиту клеток. По данным электроретинографии, функции сетчатки также сохраняются практически полностью. Особый интерес представляют данные по введению CeO_{2-x} в стекловидное тело после облучения; показано, что выживаемость фоторецепторных клеток возрастает и в этом случае. По мнению авторов работы⁵³, способность наночастиц диоксида церия непосредственно связывать АФК открывает перспективы их использования для предотвращения и лечения таких заболеваний, как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и Хантингтона.

Описанные результаты подтверждены в исследовании⁶⁴. Установлено, что наночастицы диоксида церия способны инактивировать свободные радикалы и реакционноспособные молекулы и предотвращать дегенеративные нарушения сетчатки глаз у крыс. Авторы предполагают, что наночастицы диоксида церия могут быть использованы для устранения целого ряда факторов, приводящих к слепоте. Данное направление активно развивается,⁶⁵ причем запатентован как способ получения наночастиц, так и препарат для защиты сетчатки глаза.⁶⁶

Примеры радиопротекторного действия наночастиц диоксида церия приведены на рис. 14. Смешанные органо-типические клетки мозга крысы получали от новорожденных крысят и культивировали по методике, описанной в работе⁶². На 10-й день культивирования *in vitro* культуры обрабатывали раствором ($10 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$) наночастиц CeO_{2-x} . После 14–16 дней *in vitro* культуры подвергали УФ-облучению в течение 5 или 15 мин и оценивали ущерб, нанесенный свободными радикалами. Для исследования защиты от γ -облучения клетки подвергали облучению в течение 1 мин (поглощенная доза составляла 1.5 или 5 Гр). Дополнительно на 68-й день культивирования обработанные CeO_{2-x} клетки подвергали повторному УФ- или γ -облучению, чтобы определить, сохраняется ли защитный эффект со временем. Полученные результаты подтверждают, что наночастицы диоксида церия обладают значительными радиопротекторными свойствами и могут применяться в терапии рака для защиты нормальных (доброкачественных) клеток, а также для защиты организма от лучевого поражения.⁶³

Следует отметить, что на 68-й день культивирования все клетки, обработанные наночастицами CeO_{2-x} и не подвергшиеся облучению, оставались живыми, хотя для смешанной культуры клеток мозга такая продолжительность жизни *in vitro* не характерна. Данный факт в рамках свободно-

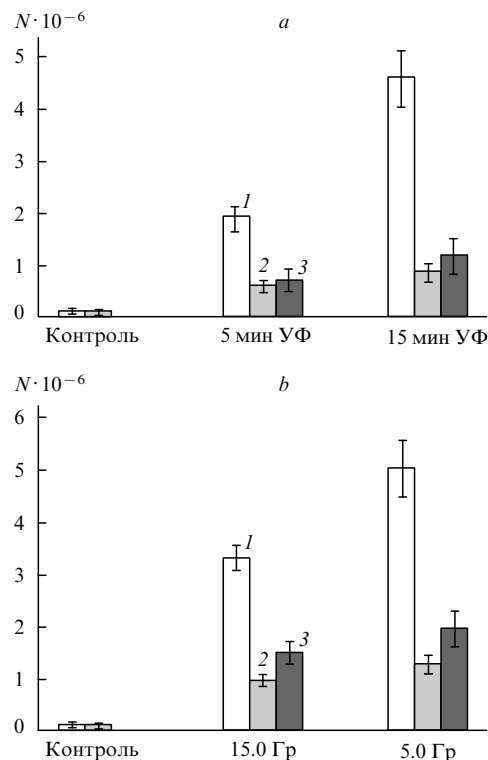


Рис. 14. Влияние предварительной обработки культуры клеток мозга наночастицами диоксида церия ($10 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$) на гибель клеток под действием УФ-излучения (a) и γ -излучения (b).⁶³ 1 — без обработки, 2 — через 16 дней *in vitro*, 3 — через 68 дней *in vitro* (подробнее см. текст).

радикальной теории старения позволяет предположить, что наночастицы диоксида церия способны увеличивать продолжительность жизни здоровых соматических клеток как в культуре, так и в макроорганизмах. Данное предположение подтверждено в ряде работ;^{55, 61, 67, 68} при этом способность наночастиц диоксида церия продлевать жизнь клеток не зависела от способности клеток к делению. Данные работы⁶⁷ свидетельствуют о том, что введение наночастиц CeO_{2-x} значительно повышает жизнеспособность целого ряда клеток головного мозга, включая астроциты, нейроны, микроглиальные клетки и олигодендроциты. Показано, что культуры указанных клеток в присутствии нанодисперсного диоксида церия сохраняют свои морфологические и биохимические характеристики в течение 6–8 месяцев, тогда как продолжительность жизни аналогичных культур в обычных условиях не превышает 26–30 суток. Отмечается, что использование микрокристаллического диоксида церия, а также нанокристаллических порошков оксидов других металлов (включая празеодим, лантан, титан и рутений) не позволяет добиться подобного эффекта.

Проведены эксперименты по определению влияния наночастиц на максимальную продолжительность жизни органо-типических клеток мозга.⁶¹ На 10-й день инкубации *in vitro* смешанные культуры клеток коры головного мозга крысы обрабатывали коллоидным раствором наночастиц диоксида церия; контрольный образец обрабатывали только соответствующим буферным раствором. Введение наночастиц диоксида церия в концентрациях 10 – $1000 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$ многократно увеличивало продолжительность жизни клеток

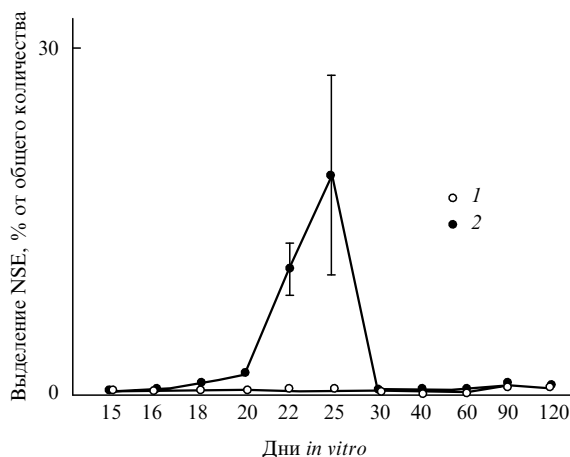


Рис. 15. Выделение нейрон-специфической енолазы в среде культивирования нейронов в присутствии (1) и в отсутствие (2) наночастиц диоксида церия.⁶³

мозга. Установлено, что эффективность воздействия зависит от размера и состава частиц.

В работе⁵⁵ изучено влияние нанодисперсного диоксида церия ($d = 3-5$ нм) на выживаемость нейронов спинного мозга крысы. Оказалось, что введение CeO_{2-x} способствует значительному уменьшению скорости отмирания клеток в колониях вследствие ярко выраженной способности диоксида церия связывать свободные радикалы. После гибели нейрона в системе остается характерный фермент — нейрон-специфическая енолаза (NSE). На рис. 15 представлена динамика выделения NSE в среду (в % от общего количества енолазы в культуре, в том числе в живых нейронах).⁶³ Массовая гибель нейронов и максимальное образование NSE в обычных условиях наблюдается на 20–26-й день, а на 30-й день в системе не остается живых нейронов. При введении наночастиц диоксида церия содержание NSE в среде не повышается (остается на базовом уровне), что указывает на выживание всех нейронов. Помимо этого показано, что при воздействии на колонии нейронов пероксидом водорода благодаря введению наночастиц диоксида церия доля выживших клеток возрастает примерно в три раза. Предполагается, что использование диоксида церия в сочетании с другими антиоксидантами может смягчать последствия травм спинного мозга.

Указанное свойство нанокристаллического диоксида церия может оказаться полезным при культивировании, хранении или транспортировке *in vitro* самых разнообразных культур клеток (включая стволовые).

Введение наночастиц CeO_{2-x} может способствовать увеличению срока жизни не только микро-, но и макроорганизмов; в частности, таким способом удалось добиться увеличения средней и максимальной продолжительности жизни плодовой мушки *Drosophila melanogaster* (рис. 16).^{67, 68} Дрозофилы питались стандартной пищей или стандартной пищей с добавкой наночастиц диоксида церия различной концентрации; наночастицы вводили в пищу методом ультразвуковой гомогенизации. Обращает на себя внимание тот факт, что увеличивалась не только максимальная продолжительность жизни, но и время уменьшения наполовину популяции колонии, которая употребляла с пищей наночастицы (см. штриховые линии на рис. 16). Подкормка наночасти-

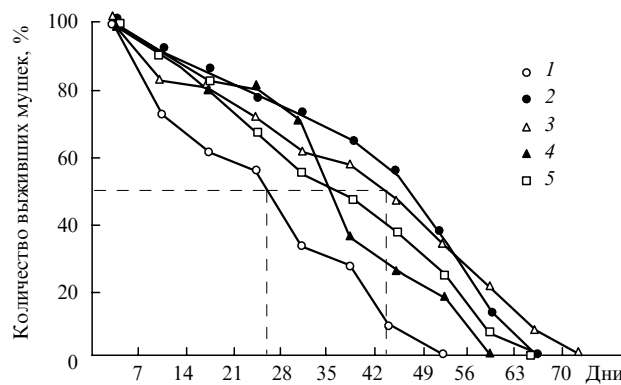


Рис. 16. Влияние наночастиц диоксида церия на продолжительность жизни мужских особей мушки *Drosophila melanogaster*.⁶⁸ Концентрация CeO_{2-x} в пище мушек, нмоль $\cdot$ л⁻¹: 0 (контрольный опыт) (1), 1 (2), 10 (3), 100 (4), 1000 (5).

цами CeO_{2-x} поддерживает также нормальный геотаксис при старении дрозофил.⁶⁸

В работе⁶⁸ дополнительно было показано, что наночастицы CeO_{2-x} обеспечивают защиту *Drosophila melanogaster* от воздействия свободных радикалов. Соответствующие эксперименты выполнены с использованием препарата паракват, который вызывает гибель насекомых вследствие образования свободных радикалов и широко используется в биологии для моделирования окислительного стресса. Нанодисперсный диоксид церия (10 нмоль $\cdot$ л⁻¹) добавляли непосредственно в пищу мушкам в течение 35 дней, после чего колонию на сутки переносили на фильтровальную бумагу, пропитанную препаратом паракват (20 ммоль $\cdot$ л⁻¹) в 5%-ном растворе сахарозы. Отмечено увеличение как средней, так и максимальной продолжительности жизни мушек. Аналогичные результаты были получены *in vitro* с культурами нервных клеток, обработанными наночастицами диоксида церия и препаратом паракват.⁶³

Известно, что введение методами генной инженерии медьсодержащей супероксиддисмутазы в ДНК дрозофилы приводит к статистически значимому увеличению продолжительности жизни последней.⁶⁹ В то же время при любом ином способе введения СОД в организм животных фермент в течение нескольких минут инактивируется в крови и не успевает достичь зоны генерирования супероксидных радикалов в клетках (митохондриях).⁷⁰ Совпадая по основным функциям с СОД, наночастицы диоксида церия несоизмеримо превосходят фермент по устойчивости и могут вводиться в организм различными способами. Напомним, что в экспериментах с дрозофилами диоксид церия добавляли непосредственно в пищу.

Благодаря уникальной способности наночастиц диоксида церия к авторегенерации^{50, 71} они могут участвовать в неограниченном числе циклов восстановление — окисление — восстановление⁵⁵ (в отличие от традиционных антиоксидантов, например витаминов С и Е). В частности, в работе⁶³ сопоставлено защитное действие растворов указанных витаминов и золя наночастиц диоксида церия при УФ-облучении по отношению к культуре клеток мозга. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 17. Авторами исследования⁵⁶ также показано, что разовая доза наночастиц диоксида церия защищает клетки от свободных радикалов в большей степени, чем разовое или многократное использование витамина Е, *N*-ацетилцистеина и мелатонина. Это

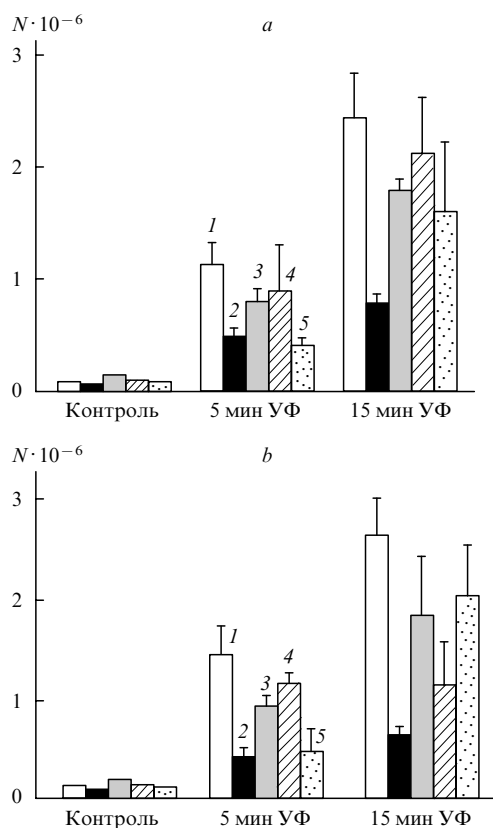


Рис. 17. Влияние предварительной обработки единичной дозой наночастиц диоксида церия на повреждение клетки свободными радикалами (под действием УФ-излучения) по сравнению с единичной дозой (а) и многократными дозами (б) антиоксидантов: витамина Е (VitE), ацетилцистеина (АС) и мелатонина (Mel).⁶³ 1 — без обработки, 2 — с обработкой CeO_{2-x} ($10 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$), 3 — VitE ($100 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$), 4 — АС ($1 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$), 5 — Mel ($1 \text{ мкмоль} \cdot \text{л}^{-1}$)

свойство CeO_{2-x} может найти применение при создании фармацевтических композиций системных пролонгированных антиоксидантов с длительным сроком последствия.

Еще одно важное с практической точки зрения свойство наночастиц диоксида церия состоит в том, что их антиоксидантная активность зависит от pH среды. Показано,⁷² что наночастицы CeO_{2-x} , стабилизированные декстраном, активно разрушают пероксид водорода в нейтральных и щелочных растворах, но практически неактивны в слабощелочной среде. Аналогичные данные по регенерации наночастиц диоксида церия разного размера в широком диапазоне pH при введении пероксида водорода получены авторами настоящего обзора (рис. 18). Показано, что с уменьшением pH степень взаимодействия диоксида церия с H_2O_2 (фиксируемая по изменению интенсивности полосы поглощения CeO_{2-x}) снижается. Параллельно снижается и способность частиц к регенерации. С уменьшением размера частиц чувствительность к изменению pH возрастает: частицы размером $\sim 1 \text{ нм}$ при $\text{pH} < 6$ практически не реагируют с пероксидом водорода, а более крупные частицы реагируют с H_2O_2 во всем исследованном диапазоне pH.

Известно, что в зоне злокачественных опухолей значение pH понижено (< 7); таким образом, зависимость антиоксидантной активности наночастиц CeO_{2-x} от кислотности среды должна проявляться в инактивировании АФК в зоне опухоли. Действительно, авторы работы⁷² на примере разру-

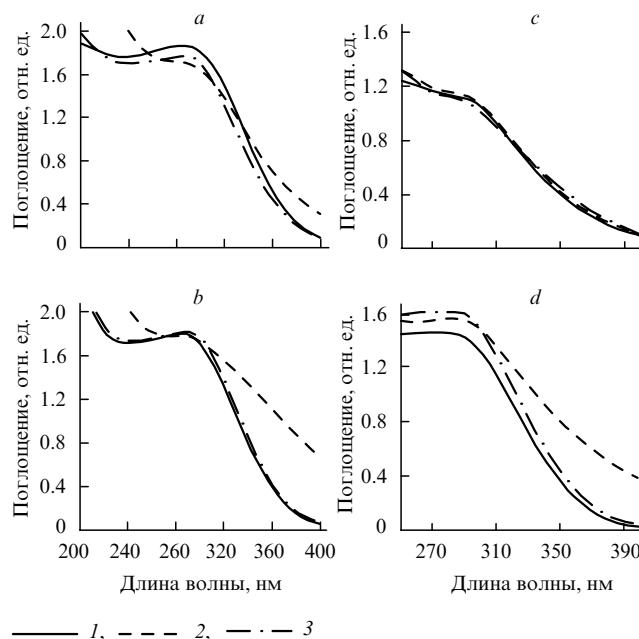


Рис. 18. Регенерация наночастиц CeO_{2-x} , стабилизированных цитратом (а, б) и полиакрилатом (с, д) натрия, в щелочных (pH 9) (б, д) и кислых (pH 4) (а, с) средах после обработки пероксидом водорода. 1 — исходный раствор CeO_{2-x} ($0.5 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$), 2 — после введения H_2O_2 ($1.0 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$), 3 — через 7 сут после введения H_2O_2 .

шения пероксидом водорода кардиомиоцитов, фибробластов и клеток карциномы подтвердили данное предположение (рис. 19): присутствие наночастиц CeO_{2-x} защищает нормальные клетки и в то же время не мешает гибели клеток злокачественных опухолей под действием H_2O_2 . Тем самым обозначено новое направление использования наночастиц диоксида церия в терапии злокачественных опухолей.

Отдельного изучения требует физико-химическое поведение наночастиц диоксида церия в организме. Используя электронную микроскопию, микроспектрофотометрию и масс-спектрометрию с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП), авторы работы⁶³ показали, что наночастицы диоксида церия $< 20 \text{ нм}$ легко проникают в клетки *in vitro* и в клетки живых организмов *in vivo*. Установлено, что дозы, в 100 раз превышающие необходимые для продления продолжительности жизни клеточной культуры, нетоксичны для дрозофил. Однократные инъекции наночастиц ($0.3\text{--}3 \text{ ммоль} \cdot \text{л}^{-1}$) в хвостовую вену мыши не вызывали каких-либо органических повреждений или поведенческих отклонений.⁶³ Обнаружено, что наночастицы диоксида церия накапливаются преимущественно в мозге, сердце и легких с незначительным выведением в течение 6 месяцев. Содержание церия в тканях приблизительно вдвое превосходит фоновое значение, но остается в пределах сотен $\text{мкг} \cdot \text{кг}^{-1}$ (млрд^{-1}).

Измерения концентрации наночастиц диоксида церия методом МС-ИСП в различных органах мышей линии Balb/c через 5 сут после инъекции $5\text{--}10 \text{ мкл}$ раствора CeO_{2-x} (концентрация $300 \text{ нмоль} \cdot \text{л}^{-1}$) в хвостовую вену подтвердили накопление церия в тканях перечисленных органов. Непосредственно в клетках наночастицы CeO_{2-x} локализованы вблизи митохондрий — основного источника АФК.⁵⁹



Рис. 19. Влияние пероксида водорода и наночастиц диоксида церия на выживание кардиомиоцитов (a), фибробластов кожи (b), клеток карциномы легкого (c) и карциномы груди (d).⁷² 1 — контрольный опыт, 2 — наночастицы CeO_{2-x} , 3 — H_2O_2 , 4 — наночастицы CeO_{2-x} и H_2O_2 .

Проанализирована⁷³ растворимость субмикронных частиц CeO_{2-x} в деионизированной воде, в растворе NaCl и в растворе Гэмбла, имитирующем межтканевую жидкость и содержащем хлорид-, фосфат- и карбонат-ионы, а также некоторые соли органических кислот. Методом МС-ИСП установлено, что концентрация ионов церия после выдерживания CeO_{2-x} в течение недели в растворе Гэмбла составляет не более нескольких десятков $\text{мкг} \cdot \text{кг}^{-1}$.

Исследована⁷⁴ динамика накопления наночастиц CeO_{2-x} в фибробластах легких человека. Показано, что наночастицы полностью локализуются в липидных бислоях. Установлено, что содержание наночастиц диоксида церия в клетках со временем увеличивается по линейному закону, при этом скорость накопления CeO_{2-x} растет с увеличением размера наночастиц от 20–50 до 250–500 нм, что обусловлено существенной агрегацией частиц меньшего размера, вызванной адсорбцией белков на их поверхности.

Систематические исследования наночастиц диоксида церия размером 9 и 320 нм, проведенные авторами работы⁷⁵ с использованием стандартных тестов *in vitro* на раздражение кожи, цитотоксичность, мутагенность и др., свидетельствуют, что нанодисперсный CeO_{2-x} не оказывает значимого отрицательного воздействия на живые системы. Для наночастиц диоксида церия диаметром 6–12 нм установлено⁵⁴ отсутствие цитотоксичности по отношению к нервным клеткам линии NT22 и мышинным макрофагам линии RAW164. Этот факт имеет особое значение, например, в связи с тем, что катализаторы на основе CeO_{2-x} уже широко используются в качестве присадок к дизельным топливам и, таким образом, могут попадать в окружающую среду в значительных количествах.⁷⁶

По данным авторов настоящего обзора (полученным совместно с отделом интерферонов и иммуномодуляторов Института микробиологии и вирусологии НАН Украины), наночастицы диоксида церия в концентрации $\leq 100 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ нетоксичны для эпителиальных клеток перевивных тестикул поросят и мышинных фибробластов. Подтверждено (совместно с Институтом гигиены и медицинской экологии им. А.Н.Марзеева АМН Украины) отсутствие токсичности наночастиц CeO_{2-x} по отношению к прокариотическим клеткам микроорганизмов. В то же время в работе⁷⁷ уста-

новлено, что нанодисперсный диоксид церия является цитотоксичным по отношению к клеткам линии A549 злокачественной опухоли человеческого легкого, при этом жизнеспособность клеток в существенной степени уменьшается при увеличении концентрации суспензий CeO_{2-x} . Отметим, что введение диоксида церия в данном случае ведет к снижению уровня антиоксидантов (глутатиона и α -токоферола), что авторы объясняют генерированием свободных радикалов на поверхности частиц CeO_{2-x} . Данный вывод противоречит результатам работ^{53–55,67} и требует проверки. По нашим данным (полученным совместно с Институтом экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины), наночастицы диоксида церия, стабилизированные цитратом натрия, нетоксичны в широком диапазоне концентраций как по отношению к нормальным донорским лимфоцитам, так и по отношению к малигнизированным лимфоцитам.

Изучено⁵⁰ воздействие водной дисперсии наночастиц CeO_{2-x} (7 нм) на грамотрицательные бактерии *Escherichia coli*. Показано, что в нейтральной среде наночастицы CeO_{2-x} заряжены положительно, благодаря чему электростатически притягиваются к внешним мембранам бактерий.⁷⁸ Подсчет колониеобразующих единиц после прямого контакта с наночастицами диоксида церия позволил определить условия, при которых CeO_{2-x} токсичен по отношению к *E. coli*. Обнаружено, что токсичность проявляется в водном растворе, но не в ростовой среде.

Следует отметить, что проведенные нами исследования воздействия нанокристаллического диоксида церия на бактерии *E. coli* генно-инженерного штамма TG1, интенсивность биолюминесценции которого коррелирует с ферментативной активностью бактерий, показали,⁷⁹ что вплоть до максимальной концентрации ($20\,000 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) суспензии CeO_{2-x} в дистиллированной воде не обладают токсичностью по отношению к тест-культуре. Впервые установлено, что интенсивность биолюминесценции бактерий (как в присутствии, так и в отсутствие диоксида церия) с течением времени снижается, однако при внесении CeO_{2-x} в культуры клеток ингибирование биолюминесценции резко замедляется. На рис. 20 приведены нормированные (I/I_0) зависимости интенсивности люминесценции от времени, из которых следует, что при

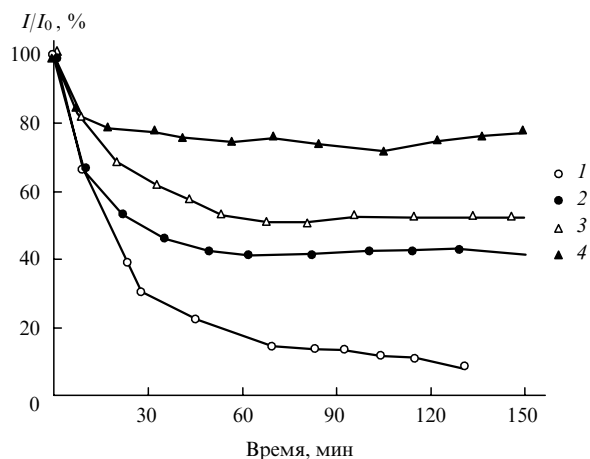


Рис. 20. Относительная интенсивность биолюминесценции бактерий *Escherichia coli* TG1 в присутствии частиц CeO_{2-x} .⁷⁹ Размер частиц, нм: 8 (1), 6 (2), 5 (3), < 5 (4).

уменьшении размера частиц CeO_{2-x} биоактивность порошкообразного диоксида церия существенно возрастает. Наблюдаемое влияние размерного фактора на биоактивность нанопорошков CeO_{2-x} может быть объяснено описанным выше увеличением объемной и поверхностной нестехиометрии наночастиц CeO_{2-x} при уменьшении их размеров, что повышает их реакционную способность по отношению к АФК.

На основании совокупности уникальных свойств нанокристаллического диоксида церия, которые выражаются в способности к регенерации, защите от свободных радикалов *in vitro* и *in vivo*, увеличению продолжительности жизни биологических объектов (клеток и организмов в целом), авторы работ^{63, 71, 80} предложили выделить новое направление в медицине — радикальную наномедицину, а подобные CeO_{2-x} объекты назвали нанофармацевтическими препаратами.⁸¹

Уже в 2008 г. препараты на основе наночастиц диоксида церия были предложены^{82, 83} для лечения диабетических язв; авторы отмечают низкую токсичность CeO_{2-x} по отношению к нейтрофилам и макрофагам; при этом достигается высокая защита клеток от гибели в результате окислительного стресса.

Препараты наночастиц диоксида церия можно применять различными способами.⁶³ Это могут быть инфузия или инъекция внутримышечно, интраперитонеально, подкожно или интратекально. Другие примеры включают наружное применение посредством лосьонов, бальзамов или бандажей на неповрежденную кожу или на открытые раны. Возможно применение через слизистые оболочки (например, интраназально путем ингаляции сухих частиц или тумана, включающего частицы), перорально совместно с приемом пищи, сублингвально, ректально и т.п. Препараты могут быть представлены в любой форме: в виде растворов, гелей, таблеток, капсул, порошков, кремов, лосьонов, бальзамов, ингаляторов и др.

Количество наночастиц диоксида церия, назначаемое в каждом конкретном случае, зависит от обычных факторов, которые принимают во внимание при дозировке фармацевтических препаратов (вес пациента, общее состояние здоровья и метаболическая активность). В общем случае дозировка препарата может составлять от 10 нг до 1 г на разовый

прием или единицу веса тела (кг); при этом количество препарата при инъекции или инфузии должно быть ближе к нижней границе диапазона, в то время как при пероральном введении оно может быть максимальным. Имеющиеся на сегодняшний день результаты позволяют предположить, что оптимальная доза для наночастиц диоксида церия размером ~20 нм должна обеспечивать уровень концентрации в крови или внутриклеточных жидкостях примерно от 10 нмоль · л⁻¹ до 1 мкмоль · л⁻¹ наночастиц (примерно 1.5–150 мкг · л⁻¹ в пересчете на CeO_{2-x}).

IV. Основные методы получения нанодисперсного диоксида церия и нанофармацевтических препаратов на его основе

К числу наиболее распространенных методов получения ультра- и нанодисперсных порошков диоксида церия относятся методы, основанные на осаждении данного соединения в гидратированной форме из растворов солей церия(III) или соединений церия(IV) при добавлении сильных оснований. Поскольку соли церия(IV) либо малорастворимы, либо склонны к гидролизу уже при низких значениях pH, как правило, для синтеза наночастиц диоксида церия из водных растворов используют соли трехвалентного церия. В связи с тем, что произведения растворимости гидроксида церия(III) и диоксида церия крайне малы, осаждение протекает в существенно неравновесных условиях. На ряде примеров авторами настоящего обзора было показано, что подобные условия проведения процесса осаждения зачастую практически исключают возможность направленного варьирования размеров частиц (3–5 нм) образующихся твердофазных продуктов, однако позволяют влиять на характер агрегации наночастиц и, тем самым, на удельную площадь их поверхности.^{84–87} В частности, установлено,⁸⁵ что величины фрактальной размерности поверхности (2.50–2.68) и самой удельной поверхности (110–220 м² · г⁻¹) порошков CeO_{2-x} , синтезируемых из водно-спиртовых растворов $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$, определяются соотношением вода:спирт в исходных растворах.

Удачной альтернативой быстрому осаждению CeO_{2-x} представляется использование реагентов (например, мочевины и гексаметилентетрамина), способных медленно гидролизаться в водных растворах с образованием гидроксид-ионов, что позволяет контролировать степень пересыщения и избежать возникновения локальных градиентов концентраций, неизбежных при обычном смешении растворов соли церия и осадителя. Подобный метод дает возможность получать наночастицы диоксида церия с заданными размерами в пределах от 6 до 50 нм.^{88–93} Согласно нашим данным,^{87, 92} гомогенный гидролиз солей церия(III) в присутствии гексаметилентетрамина можно также использовать для синтеза ультратонких (толщиной < 1 нм) нанопластинок CeO_{2-x} , характеризующихся значительным коэффициентом анизотропии (~50:1). При этом размеры образующихся наночастиц CeO_{2-x} зависят от таких параметров, как температура, продолжительность синтеза, концентрация, молярное соотношение исходных реагентов и др.

Дополнительный контроль размера и формы частиц CeO_{2-x} можно обеспечить использованием гидротермальной (в том числе гидротермально-микроволновой) обработки суспензий нанокристаллического диоксида церия. Установлено,^{94–102} что микроморфология CeO_{2-x} зависит от температуры и продолжительности гидротермального

синтеза, давления в гидротермальном реакторе, присутствия минерализаторов (солей щелочных и щелочноземельных металлов) и pH среды, а также условий осаждения исходных суспензий CeO_{2-x} . В частности, гидротермальная обработка в сильнощелочных условиях является одним из немногих методов, обеспечивающих получение сильноанизотропных наностержней диоксида церия.^{87, 102}

Следует отметить, что для дозированного применения препаратов на основе диоксида церия обычно необходимы стабильные агрегативно-устойчивые золи CeO_{2-x} , в связи с чем возрастает потребность в разработке методов их синтеза. Как правило, для повышения растворимости и устойчивости коллоидных растворов наночастиц CeO_{2-x} используют различные добавки или покрытия. Так, наночастицы CeO_{2-x} , покрытые полианилином, получали¹⁰³ непосредственным окислением анилина диоксидом церия; поверхность наночастиц при этом содержала преимущественно Ce^{3+} . Наночастицы диоксида церия получали⁴⁷ также сонохимическим методом, используя в качестве стабилизатора гидроксид тетраалкиламмония. Однако для биологических целей наночастицы диоксида церия, стабилизированные полианилином или четвертичными аммониевыми соединениями, представляют лишь теоретический интерес из-за высокой токсичности используемых стабилизаторов.

Предложены^{104–106} методы синтеза коллоидных частиц диоксида церия в обратных микроэмульсиях. В работах^{104, 105} использовали систему гептан–водный раствор CeCl_3 (или $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$), стабилизированную АОТ (бис(2-этилгексил)сульфосукцинатом натрия), DDAB (бромидом дидодецилдиметиламмония) или смесью DDAB с Brij35 (монододециловым эфиром трикозанэтиленгликоля). В качестве среды для получения диоксида церия применяли также мицеллярные растворы DTAB (бромид дидецилтриметиламмония) и везикулярные DDAB-системы. В результате были получены практически неагломерированные наноразмерные кристаллиты (6–13 нм) CeO_2 , тогда как в отсутствие ПАВ кристаллиты достигали размера 21 нм. Описан¹⁰⁶ синтез CeO_{2-x} смешением двух эмульсий в керосине, одна из которых содержала водный раствор предшественника (нитрата церия), вторая — водный раствор гидроксида натрия. Получающиеся частицы диоксида церия имели почти сферическую форму, при этом их размер (10–20 нм) определялся концентрацией растворов реагентов.

В патенте¹⁰⁷ объединены окислительно-восстановительный и мицеллярный способы получения наночастиц диоксида церия. В неполярном растворителе (толуоле) растворяли АОТ и при интенсивном перемешивании (гомогенизации) вводили водный раствор нитрата церия(III). В объеме толуола при этом образуются мицеллы, представляющие собой микрокапли водного раствора соли церия, стабилизированные ПАВ. Следует отметить, что эти стадии мицеллярного процесса получения наночастиц используются во всех методиках, отличия заключаются лишь в способах дальнейшего стимулирования образования частиц CeO_{2-x} в объеме мицелл. Обычно это достигается повышением pH, нагреванием, воздействием ультразвуком и т.п. В работе¹⁰⁵ для воздействия на мицеллярную систему использовали пероксид водорода, что приводило к окислению $\text{Ce}^{3+} \rightarrow \text{Ce}^{4+}$, образованию зародышей и росту наночастиц. Полученный стабильный раствор монодисперсных наночастиц диоксида церия может быть либо подвергнут пиролизу с целью получения нанопорошков CeO_{2-x} , либо использован сам по себе, либо превращен в водную фазу заменой растворителя.

К сожалению, и в данном случае использовались биологически неприемлемые стабилизаторы.

Значительное число способов производства нанопорошков и коллоидных растворов диоксида церия запатентовано.^{107–116} Большинство из них основаны на синтезе из водных и неводных растворов соединений церия при относительно низких температурах. Так, в патенте¹¹⁰ многократной очисткой, диализом и редиспергированием наночастиц диоксида церия, синтезированных гидротермальным методом, получали высококонцентрированный (до $600 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) золь со средним диаметром частиц 50 нм, стабилизированный азотной кислотой. В патенте¹¹¹ описан способ стабилизации наночастиц диоксида церия уксусной кислотой и ацетатом аммония, а в патентах^{112, 113} нанокристаллический CeO_{2-x} предложено получать прямым гидролизом солей церия аммиаком с последующим высушиванием или прокаливанием осадка и редиспергированием в воде. Авторы патента¹¹⁴ предлагают вводить в продукт, полученный по схеме из патента¹¹³, полиоксикаленовый полимер (4–10 оксиэтильных звеньев) с концевыми фосфонатными группами. Такое модифицирование поверхности наночастиц позволяет расширить диапазон стабильности золя CeO_{2-x} до pH 10. Для стабилизации коллоидных растворов наночастиц диоксида церия (диаметр $\sim 2 \text{ нм}$, pH 2, концентрация $200 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$) использовали также ацетилацетон, салициловую кислоту и ПАВ Rhodiasstab 50® ($\text{PhC}(\text{O})\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{C}_{17}\text{H}_{35-n}$), что позволяло получать золь, устойчивый в нейтральных и слабощелочных средах.¹¹⁵

В работе⁵⁰ поставлена актуальная проблема синтеза водорастворимых биосовместимых наночастиц диоксида церия. Авторы работы⁵⁷ для этих целей использовали лецитин, не обладающий цитотоксическими свойствами; полученные наночастицы CeO_{2-x} размером 3.5 нм были устойчивы в буферном растворе тринатрийцитрата.

Следует отметить, что лимонная кислота является одним из наиболее перспективных с точки зрения биосовместимости компонентов буферного раствора или стабилизаторов. Авторами настоящего обзора разработана и успешно используется методика, где тринатрийцитрат выступает в качестве единственного стабилизатора наночастиц диоксида церия. Данная методика включает гидролиз раствора соли церия(IV) в сильнощелочной среде (pH > 12), образование и седиментацию наночастиц CeO_{2-x} , многократную промывку осадка от побочных продуктов реакции (электролитов) до нейтрального значения pH, ультразвуковое редиспергирование наночастиц в присутствии эквимольного количества стабилизатора, введение в систему избытка пероксида водорода и кипячение полученного золя с обратным охлаждением до удаления следов пероксосоединений. Цитрат-ионы, специфически адсорбируясь на поверхности наночастиц диоксида церия, образуют двойной электрический слой, который обеспечивает требуемую агрегативную устойчивость золей. Таким способом удается получать нанокристаллиты CeO_{2-x} , которые отличаются ультрамалыми размерами ($\leq 2 \text{ нм}$), устойчивы в воде, буферных растворах и физиологических жидкостях в широком диапазоне pH (от 1 до 12) и не проявляют признаков седиментации при длительном хранении. Авторами обзора был также предложен метод получения седиментационно-устойчивых водных золей CeO_{2-x} , основанный на сочетании анионитной и гидротермально-микроволновой обработки растворов нитрата церия(III). Данный метод позволяет контролировать размеры наночастиц CeO_{2-x} в пределах 3.5–8 нм, при этом получаемые золи остаются устойчивыми даже после выдер-

живания в автоклаве при 190°C, что обеспечивает возможность их надежной стерилизации.

В качестве стабилизатора использовали также биологически совместимый полимер — декстран.⁷² Полученные наночастицы состояли из ядра диоксида церия диаметром 4 нм, окруженного оболочкой декстрана, и имели общий размер ~10 нм.

В исследовании¹¹⁷ в качестве стабилизатора был использован альбумин куриного яйца. К сожалению, характеристики получаемого таким путем геля, включающего наночастицы CeO_{2-x} , изменяются при хранении, и данный продукт не представляет практического интереса. Для стабилизации наночастиц диоксида церия применяли¹¹⁸ также нетоксичный поливинилпирролидон (ПВП). Размер частиц CeO_{2-x} зависел от молекулярной массы вводимого при синтезе полимера; к достоинствам данного метода относится возможность сконцентрировать систему ПВП— CeO_2 упариванием и редиспергировать. Следует отметить, что ПВП сорбируется на поверхности частиц диоксида церия неспецифически и не обеспечивает достаточного снижения свободной энергии поверхности для образования наночастиц малого размера. Полученный золь крупных наночастиц размером 50–120 нм малоприспособлен для биомедицинского применения; по мнению авторов, система может скорее представлять интерес для получения фотонных кристаллов.

Для использования наночастиц диоксида церия в биомедицинских целях требуется разработка методов не только их стабилизации, но и адресной доставки к поврежденным органам (а также, желательно, и визуализации), что ставит задачу их дополнительной функционализации. Одной из первых работ в этой области было исследование⁸⁰, в котором предложен метод синтеза функциональных наночастиц диоксида церия, основанный на последовательном модифицировании поверхности частиц CeO_{2-x} эпихлоргидрином и карбоксибензолсульфамидом; последний блокирует активность фермента hCAII (карбоангидразы), ведущего к развитию глаукомы. В той же работе наряду с ингибитором карбоангидразы к поверхности наночастицы прививали флуорофор (карбоксифлуоресцин), что позволило проследить за поведением наночастиц CeO_{2-x} *in vitro* и *in vivo*.

В предложенном¹¹⁹ авторами обзора методе синтез водных золей CeO_{2-x} осуществляется с использованием в качестве стабилизатора нетоксичной короткоцепочечной полиакриловой кислоты (ПАК). Полученные золи наночастиц диоксида церия способны флуоресцировать под действием УФ-излучения (что обеспечивает возможность визуализации наночастиц), при этом акриловые концевые группы могут быть использованы для последующей целенаправленной функционализации наночастиц. Формирующиеся наночастицы CeO_{2-x} отличаются ультрамалыми размерами (~1 нм), стабильны в воде и буферных растворах в широком диапазоне значений pH, а также в физиологических жидкостях. Принципиально важно, что монослой полиакрилата не препятствует доступу АФК (в том числе свободных радикалов) к поверхности наночастицы. Окислительно-восстановительные свойства полученных наночастиц CeO_{2-x} зависят от pH среды, благодаря чему золи CeO_{2-x} —ПАК перспективны при лучевой терапии опухолей.

* * *

В заключение следует подчеркнуть, что область применения нанокристаллического диоксида церия отнюдь не ограничивается примерами, приведенными в данном обзоре. Диоксид

церия и материалы на его основе входят в состав разнообразных катализаторов, защитных антикоррозионных покрытий металлов и сплавов, полирующих смесей и абразивов (в том числе для химико-механической обработки поверхности кремниевых пластин в микро- и нанoeлектронике), антиотражающих покрытий солнечных батарей, солнцезащитных косметических препаратов, электрохромных устройств, сенсоров и биосенсоров и др. Столь широкий спектр традиционных и перспективных применений диоксида церия, включая рассмотренные в настоящем обзоре биомедицинские приложения, связан с уникальным комплексом физико-химических свойств этого вещества и, в первую очередь, с ярко выраженным влиянием размерного фактора на кислородную нестехиометрию CeO_{2-x} . Именно этим обусловлена и высокая биологическая активность нанокристаллического диоксида церия, основанная на связывании реакционноспособных кислородсодержащих соединений и радикалов, губительных для живых систем. Вместе с тем накопленный к настоящему времени объем экспериментальных данных о физико-химических и биологических свойствах нанодисперсного диоксида церия остается достаточно ограниченным. В связи с этим особую актуальность приобретают проблемы разработки масштабируемых процессов получения CeO_{2-x} с контролируемым распределением частиц по размерам, исследования структуры нанокристаллического CeO_{2-x} (в том числе с применением современных источников нейтронного и синхротронного излучения) и разработки и клинических испытаний биологически активных препаратов, содержащих наночастицы диоксида церия.

Обзор подготовлен при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-03-00471), Отделения химии и наук о материалах РАН (программа «Разработка научных основ новых химических технологий с получением опытных партий веществ и материалов») и Президиума РАН (программа «Разработка методов получения химических веществ и создание новых материалов»).

Литература

1. M.A.Jakupec, P.Unfried, B.K.Keppler. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, **153**, 101 (2005)
2. Y.Ji, B.Xiao, Z.H.Wang, M.Z.Cui, Y.Lu. *Biomed. Environ. Sci.*, **13**, 287 (2000)
3. H.Fashui. *Biol. Trace Elem. Res.*, **87**, 191 (2002)
4. M.L.He, W.A.Rambeck. *Arch. Anim. Nutr., Arch. Tierernahr.*, **53**, 323 (2000)
5. S.Schuller, C.Borger, M.L.He, R.Henkelmann, A.Jadamus, O.Simon, W.A.Rambeck. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, **115**, 16 (2002)
6. M.L.He, D.Ranz, W.A.Rambeck. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, **85**, 263 (2001)
7. M.L.He, Y.Z.Wang, Z.R.Xu, M.L.Chen, W.A.Rambeck. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, **87**, 229 (2003)
8. C.W.Mays, J.S.Vermaak, D.Kuhlmann-Wilsdorf. *Surf. Sci.*, **12**, 134 (1968)
9. S.Tsunekawa, R.Sivamohan, S.Ito, A.Kasuya, T.Fukuda. *Nanostruct. Mater.*, **11**, 141 (1999)
10. S.Tsunekawa, R.Sivamohan, T.Ohsuga, A.Kasuya, H.Takahashi, K.Tojhi. *Mater. Sci. Forum.*, **315–317**, 439 (1999)
11. S.Tsunekawa, R.Sahara, Y.Kawazoe, K.Ishikawa. *Appl. Surf. Sci.*, **152**, 53 (1999)
12. S.Tsunekawa, K.Ishikawa, Z.-Q.Li, Y.Kawazoe, A.Kasuya. *Phys. Rev. Lett.*, **85**, 3440 (2000)
13. L.J.Wu, H.J.Wiesmann, A.R.Moodenbaugh, R.F.Klie, Y.Zhu, D.O.Welch, M.Suenaga. *Phys. Rev. B*, **69**, 125415 (2004)

14. F.Zhang, S.-W.Chan, J.E.Spanier, E.Apak, Q.Jin, R.D.Robinson, I.P.Herman. *Appl. Phys. Lett.*, **80**, 127 (2002)
15. S.Deshpande, S.Patil, S.V.N.T.Kuchibhatla, S.Seal. *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 133113 (2005)
16. S.Tsunekawa, J.-T.Wang, Y.Kawazoe. *J. Alloys Compd.*, **408–412**, 1145 (2006)
17. S.Tsunekawa, S.Ito, Y.Kawazoe. *Appl. Phys. Lett.*, **85**, 3845 (2004)
18. M.Ozawa, C.-K.Loong. *Catal. Today*, **50**, 329 (1999)
19. G.W.Graham, W.H.Weber, C.R.Peters, R.Usmen. *J. Catal.*, **130**, 310 (1991)
20. W.H.Weber, K.C.Hass, J.R.McBride. *Phys. Rev. B*, **48**, 178 (1993)
21. I.Kosacki, T.Suzuki, H.U.Anderson, P.Colomban. *Solid State Ionics*, **149**, 99 (2002)
22. I.Kosacki, V.Petrovsky, H.U.Anderson. *J. Am. Ceram. Soc.*, **85**, 2646 (2002)
23. J.R.McBride, K.C.Hass, B.D.Poindexter, W.H.Weber. *J. Appl. Phys.*, **76**, 2435 (1994)
24. J.E.Spanier, R.D.Robinson, F.Zhang, S.-W.Chan, I.P.Herman. *Phys. Rev. B*, **64**, 245407 (2001)
25. S.Saitzek, J.-F.Blach, S.Villain, J.-R.Gavarri. *Phys. Status Solidi*, **205**, 1534 (2008)
26. A.Fujimori. *Phys. Rev. B*, **27**, 3992 (1983)
27. A.Fujimori. *Phys. Rev. B*, **28**, 2281 (1983)
28. A.Fujimori. *Phys. Rev. B*, **28**, 4489 (1983)
29. E.Paparazzo. *Surf. Sci.*, **234**, L253 (1990)
30. E.Paparazzo, G.M.Ingo, N.Zachetti. *J. Vac. Sci. Technol., A*, **9**, 1416 (1991)
31. M.V.Rama Rao, T.Shripathi. *J. Electron. Spectrosc. Relat. Phenom.*, **87**, 121 (1997)
32. E.Paparazzo, G.M.Ingo. *J. Electron. Spectrosc. Relat. Phenom.*, **95**, 301 (1998)
33. A.Pfau, K.D.Schierbaum. *Surf. Sci.*, **321**, 71 (1994)
34. M.Romeo, K.Bak, F.Le Normand, L.Hilaire. *Surf. Interface Anal.*, **20**, 508 (1993)
35. J.P.Holgado, R.Alvarez, G.Munuera. *Appl. Surf. Sci.*, **161**, 301 (2000)
36. J.P.Holgado, G.Munuera, J.P.Espinos, A.R.Gonzalez-Elipse. *Appl. Surf. Sci.*, **158**, 164 (2000)
37. P.W.Park, J.S.Ledford. *Langmuir*, **12**, 1794 (1996)
38. S.Tsunekawa, T.Fukuda, A.Kasuya. *Surf. Sci.*, **457**, L437 (2000)
39. F.Zhang, P.Wang, J.Koberstein, S.Khalid, S.-W.Chan. *Surf. Sci.*, **563**, 72 (2004)
40. M.M.Natile, G.Boccaletti, A.Glisenti. *Chem. Mater.*, **17**, 6272 (2005)
41. L.Qiu, F.Liu, L.Zhao, Y.Ma, J.Yao. *Appl. Surf. Sci.*, **252**, 4931 (2006)
42. T.Masui, K.Fujiwara, K.Machida, G.Adachi. *Chem. Mater.*, **9**, 2197 (1997)
43. S.Tsunekawa, T.Fukuda, A.Kasuya. *J. Appl. Phys.*, **87**, 1318 (2000)
44. J.C.Nie, Z.Y.Hua, R.F.Dou, Q.T.Tu. *J. Appl. Phys.*, **103**, 054308 (2008)
45. P.Patsalas, S.Logothetidis, L.Syggellou, S.Kennou. *Phys. Rev. B*, **68**, 035104 (2003)
46. F.Zhang, Q.Jin, S.-W.Chan. *J. Appl. Phys.*, **95**, 4319 (2004)
47. L.Yin, Y.Wang, G.Pang, Yu.Koltypin, A.Gedanken. *J. Colloid Interface Sci.*, **246**, 78 (2002)
48. Y.-W.Zhang, R.Si, C.-S.Liao, C.-H.Yan, C.-X.Xiao, Y.Kou. *J. Phys. Chem. B*, **107**, 10159 (2003)
49. E.G.Heckert, A.S.Karakoti, S.Seal, W.T.Self. *Biomaterials*, **29**, 2705 (2008)
50. A.S.Karakoti, N.A.Monteiro-Riviere, R.Aggarwal, J.P.Davis, R.J.Narayan, W.T.Self, J.McGinnis, S.Seal. *JOM*, **60** (3), 33 (2008)
51. S.Babua, A.Velezb, K.Wozniakb, J.Szydlowskab, S.Seal. *Chem. Phys. Lett.*, **442**, 405 (2007)
52. B.A.Rzagalinski, K.Meehan, R.M.Davis, Y.Xu, W.C.Miles, C.A.Cohen. *Nanomedicine*, **1**, 399 (2006)
53. J.Chen, S.Patil, S.Seal, J.F.McGinnis. *Nat. Nanotechnol.*, **1**, 142 (2006)
54. D.Schubert, R.Dargusch, J.Raitano, S.-W.Chan. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **342**, 86 (2006)
55. D.S.Patil, N.Bhargava, J.F.Kang, L.Riedel, S.Seal, J.J.Hickman. *Biomaterials*, **28**, 1918 (2007)
56. S.Tan, D.Schubert, P.Maher. *Curr. Top. Med. Chem.*, **1**, 497 (2001)
57. Y.Y.Tsai, J.Oca-Cossio, K.Agering, N.E.Simpson, M.A.Atkinson, C.H.Wasserfall, I.Constantinidis, W.Sigmund. *Nanomedicine*, **2**, 325 (2007)
58. J.Niua, A.Azfera, L.M.Rogersa, X.Wanga, P.E.Kolattukudy. *Cardiovasc. Res.*, **73**, 549 (2007)
59. S.M.Hirst, A.D.Peairs, R.Gogal Jr., S.Seal, C.M.Reilly. *FASEB J.*, **22**, 758.2 (2008)
60. P.Juzenas, W.Chenb, Y.P.Sunc, M.A.N.Coelhod, R.Generalova, N.Generalova, I.L.Christensen. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **60**, 1600 (2008)
61. N.Singh, E.Amateis, J.E.Mahaney, K.Meehan, B.A.Rzagalinski. *FASEB J.*, **22**, 624.2 (2008)
62. L.Zhang, B.A.Rzagalinski, E.F.Ellis, L.S.Satin. *Science*, **274**, 1921 (1996)
63. WO 2007/002662 (2007)
64. G.A.Silva. *Nat. Nanotechnol.*, **1**, 92 (2006)
65. J.Chen, S.Patil, S.Seal. *Adv. Exp. Med. Biol.*, **613**, 53 (2008)
66. Пат. 20060246152 США (2006)
67. B.A.Rzagalinski. *Technol. Cancer Res. Treat.*, **4**, 651 (2005)
68. C.A.Cohen, J.A.Karfakis, M.D.Kurnick, B.Rzagalinski. *FASEB J.*, **22**, 624.1 (2008)
69. J.E.Fleming, I.Reveillaud, A.Niedzwiecki. *Mutat. Res.*, **275**, 267 (1992)
70. В.А.Гусев, Л.Ф.Панченко. *Нейрохимия*, **14**, 14 (1997)
71. WO 2008/064357 (2008)
72. J.M.Perez, A.Asati, S.Nath, C.Kaittanis. *Small*, **4**, 552 (2008)
73. M.Takaya, Y.Shinohara, F.Serita, M.Ono-Ogasawara, N.Otaki, T.Toya, A.Takata, K.Yoshida, N.Kohyama. *Ind. Health*, **44**, 639 (2006)
74. L.K.Limbach, Y.Li, R.N.Grass, T.J.Brunner, M.A.Hintermann, M.Muller, D.Gunther, W.J.Stark. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 9370 (2005)
75. B.Park, P.Martin, C.Harris, R.Guest, A.Whittingham, P.Jenkinson, J.Handley. *Part. Fibre Toxicol.*, **4**, 12 (2007)
76. B.Park, K.Donaldson, R.Duffin, L.Tran, F.Kelly, I.Mudway, J.P.Morin, R.Guest, P.Jenkinson, Z.Samaras, M.Giannouli, H.Kouridis, P.Martin. *Inhal. Toxicol.*, **20**, 547 (2008)
77. W.Lin, Y.-W.Huang, X.-Y.Zhou, Y.Ma. *Int. J. Toxicol.*, **25**, 451 (2006)
78. A.Thill, O.Zeyons, O.Spalla, F.Chauvat, J.Rose, M.Auffan, A.M.Flank. *Environ. Sci. Technol.*, **40**, 6151 (2006)
79. В.К.Иванов, Г.Н.Федотов, М.В.Никулина, О.С.Полежаева, Г.Г.Омельянюк, С.Н.Романенко, С.Г.Король, Ю.Д.Третьяков. *Докл. АН*, **420**, 628 (2008)
80. S.Patil, S.Reshetnikov, M.K.Haldar, S.Seal, S.Mallik. *J. Phys. Chem. C*, **111**, 8437 (2007)
81. S.Olgun, B.Rzagalinski, C.M.Reilly. *J. Immunol.*, **24**, 162 (2006)
82. G.Mohammad, V.K.Mishra, H.P.Pandey. *Dig. J. Nanomater. Biostruct.*, **3**, 159 (2008)
83. G.Mohammad, H.P.Pandey, K.Tripatri. *Dig. J. Nanomater. Biostruct.*, **3**, 203 (2008)
84. В.К.Иванов, Ф.Ю.Шариков, О.С.Полежаева, Ю.Д.Третьяков. *Докл. АН*, **411**, 485 (2006)
85. В.К.Иванов, О.С.Полежаева, Г.П.Копица, А.Е.Баранчиков, Ю.Д.Третьяков. *Неорг. матер.*, **44**, 324 (2008)
86. Д.В.Дробот, А.В.Чуб, В.В.Воронов, П.П.Федоров, В.К.Иванов, О.С.Полежаева. *Неорг. матер.*, **44**, 966 (2008)
87. О.С.Полежаева. Дис. канд. хим. наук. ИОНХ РАН, Москва, 2008

88. M.Hirano, E.Kato. *J. Am. Ceram. Soc.*, **82**, 786 (1999)
89. M.Hirano, M.J.Inagaki. *J. Mater. Chem.*, **10**, 473 (2000)
90. R.Si, Y.-W.Zhang, S.-J.Li, B.-X.Lin, C.-H.Yan. *J. Phys. Chem. B*, **108**, 12481 (2004)
91. M.-Y.Cheng, D.-H.Hwang, H.-S.Sheu, B.-J.Hwang. *J. Power Sources*, **175**, 137 (2008)
92. О.С.Полежаева, Н.В.Ярошинская, В.К.Иванов. *Журн. неорг. химии*, **52**, 1266 (2007)
93. О.С.Полежаева, Н.В.Ярошинская, В.К.Иванов. *Неорг. матер.*, **44**, 57 (2008)
94. E.Tani, M.Yoshimura, S.Somiya. *J. Mater. Sci. Lett.*, **1**, 461 (1982)
95. M.Hirano, E.Kato. *J. Am. Ceram. Soc.*, **79**, 777 (1996)
96. M.Hirano, E.Kato. *J. Mater. Sci. Lett.*, **15**, 1249 (1996)
97. S.Lakhwani, M.N.Rahaman. *J. Mater. Res.*, **14**, 1455 (1999)
98. N.-C.Wu, E.-W.Shi, Y.-Q.Zheng, W.-J.Li. *J. Am. Ceram. Soc.*, **85**, 2462 (2002)
99. A.I.Y.Tok, F.Y.C.Boey, Z.Dong, X.L.Sun. *J. Mater. Process. Technol.*, **190**, 217 (2007)
100. A.B.Corradi, F.Bondioli, A.M.Ferrari, T.Manfredini. *Mater. Res. Bull.*, **41**, 38 (2006)
101. F.Gao, Q.Lu, S.Komarneni. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **6**, 3812 (2006)
102. H.-I.Chen, H.-Y.Chang. *Solid State Commun.*, **133**, 593 (2005)
103. F.-Y.Chuanga, S.-M.Yang. *J. Colloid Interface Sci.*, **320**, 194 (2008)
104. A.Bumajdad, M.I.Zaki, J.Eastoe, L.Pasupulety. *Langmuir*, **20**, 11223 (2004)
105. S.Gupta, P.Brouwer, S.Bandyopadhyay, S.Patil, R.Briggs, J.Jain, S.Seal. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **5**, 1101 (2005)
106. Jo-S.Lee, Ji-S.Lee, S.-C.Choi. *Mater. Lett.*, **59**, 395 (2005)
107. Пат. 7419516 США (2008)
108. Пат. 7229600 США (2007)
109. Пат. 6669823 США (2003)
110. Пат. 5733361 США (1998)
111. Пат. 5132048 США (1992)
112. Пат. 5891412 США (1999)
113. Пат. 5344588 США (1994)
114. Пат. 20060241008 США (2006)
115. Пат. 6033677 США (2000)
116. Пат. 7141227 США (2006)
117. S.Maensiri, C.Masingboon, P.Laokul, W.Jareonboon, V.Promarak, P.L.Anderson, S.Seraphin. *Cryst. Growth Des.*, **7**, 950 (2007)
118. N.Izu, I.Matsubara, T.Itoh, W.Shin, M.Nishibori. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **81**, 761 (2008)
119. Заявка а200810411 Украина (2008); <http://www.ukrpatent.org/ua/bases2.html>

STRUCTURALLY SENSITIVE PROPERTIES AND BIOMEDICAL APPLICATIONS OF NANO-DISPERSED CERIUM DIOXIDE

V.K.Ivanov, A.B.Shcherbakov, A.V.Usatenko

N.S.Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences

31, Leninsky prosp., 119991 Moscow, Russian Federation, Fax +7(495)954–1279

National University of Food Technologies of Ukraine

68, Ul. Vladimirskaya, 01601 Kiev, Ukraine, Fax +38(044)220–0102

Research Institute of Nanotechnological Industry, University «Ukraine»

1g, Ul. Khoriva, 04071 Kiev, Ukraine, Fax +38(044)428–8156

The results of modern studies of physicochemical properties and biological activities of nanocrystalline cerium dioxide are generalized. The key methods for its preparation are considered and the prospects for its application in biological research and in medicine are analyzed.

Bibliography — 119 references.

Received 2nd April 2009