

6. To the theory of magnetically induced flow in a ferrofluid cloud: effect of the cloud initial shape / D. Chirikov, A. Zubarev, P. Kuzhir [et al.] // The European Physical Journal Special Topics. – 2022. – Vol. 231, № 6. – P. 1187–1194.

Сведения об авторах

А.Ю. Мусихин* – кандидат физико-математических наук, доцент

А.Ю. Зубарев – доктор физико-математических наук, профессор

Information about the authors

A.Yu. Musikhin* – Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Associate Professor

A.Yu. Zubarev – Doctor of Sciences (Physics and Mathematics), Professor

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
Antoniusmagna@yandex.ru

УДК 546.655

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДОПИРОВАНИЯ НАНОЧАСТИЦ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ ТРЕХВАЛЕНТНЫМИ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫМИ ИОНАМИ НА ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ

Наталья Юрьевна Офицерова, Ирина Николаевна Бажукова

ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

Аннотация

Введение. Допирование нанокристаллического диоксида церия трехвалентными редкоземельными ионами модифицирует структуру кристаллической решетки, что влияет на проявляемую биокаталитическую активность. **Цель исследования** - получить количественные характеристики кинетических параметров реакций пероксидазной и оксидазной активности чистых и допированных наночастиц диоксида церия. **Материал и методы.** Наночастицы диоксида церия, стабилизированные мальтодекстрином и допированные ионами Er^{3+} , Yb^{3+} , Sm^{3+} , синтезированы химическим методом осаждения. Исследование активности проводили методами оптической спектроскопии. Обработку полученных данных проводили с помощью модели Михаэлиса-Ментен. **Результаты.** В ходе работы был определен набор количественных характеристик кинетических параметров ферментативных реакций: константы Михаэлиса, максимальной скорости реакции, молярной активности. **Выводы.** Результаты оценки оксидазной и пероксидазной активностей показали, что допирование наночастиц модифицирует проявляемую окислительно-восстановительную активность. Дальнейшее изучение допирования разными катионами в разных концентрациях сделает возможным тонкую настройку соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ и количества кислородных вакансий на поверхности наночастиц, следовательно, направленный синтез под конкретное биомедицинское применение.

Ключевые слова: наночастицы диоксида церия, мультиферментативная активность, допирование, трехвалентные редкоземельные ионы, модель Михаэлиса-Ментен.

QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE EFFECT OF CERIUM DIOXIDE NANOPARTICLES DOPING WITH TRIVALENT RARE EARTH IONS ON ENZYMATIC ACTIVITY

Natalia Yu. Ofitserova, Irina N. Bazhukova

Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin
Yekaterinburg, Russia

Abstract

Introduction. Nanocrystalline ceria doping with trivalent rare earth ions modifies the crystal lattice structure. It affects on the biocatalytic activity. **The purpose of the study** is to get the quantitative characteristics of the peroxidase and oxidase activity reactions of pure and doped cerium dioxide nanoparticles. **Material and methods.** Maltodextrin-coated cerium dioxide nanoparticles doped with Er^{3+} , Yb^{3+} , Sm^{3+} ions are synthesized using chemical precipitation method. We study the properties using optical spectroscopy methods. Data treatment is processed using Michaelis-Menten model. **Results.** In the present paper we have determined enzyme reactions kinetic parameters, as follows: Michaelis constants, maximum reaction rate, molar activity. **Conclusions.** Assessment of oxidase and peroxidase activity has demonstrated that doping modifies redox activity of cerium dioxide nanoparticles. Further study of doping with different cations in different concentrations will make it possible to get an accurate setting of $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ ratio and oxygen vacancies quantity. Therefore, synthesis purposeed at definite biomedical application will be possible.

Keywords: cerium dioxide nanoparticles, multi-enzymatic activity, doping, trivalent rare earth ions, Michaelis-Menten model.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря строению кристаллической решетки, содержащей валентные состояния Ce^{3+} и Ce^{4+} и кислородные вакансии, нанокристаллический диоксид церия (НДЦ) способен выполнять функции нескольких ферментов организма человека – пероксидазы, оксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы [1], что делает его привлекательным для потенциального биомедицинского применения наноэнзимом.

Одним из способов модификации кристаллического строения и, следовательно, проявляемой активности является допирование наночастиц трехвалентными ионами редкоземельных элементов. Стоит отметить, что в литературных источниках присутствуют противоречивые данные о влиянии допирования на биокаталитическую активность НДЦ. Работы [2-3] свидетельствуют о повышении антиоксидантного потенциала допированных наночастиц по сравнению с чистыми образцами. Для наночастиц, допированных теми же катионами из группы лантаноидов авторами работ [4-5] показано повышение прооксидантных свойств по сравнению с

недопированными наночастицами и даже проявление антибактериальной активности вследствие генерации активных форм кислорода.

Кроме того, большинство работ содержит только качественную оценку проявляемой активности. Процессы с участием неорганических аналогов ферментов подчиняются уравнению Михаэлиса-Ментен, что позволяет оценить кинетические параметры протекающих реакций.

Цель исследования – оценить влияние допирования наночастиц диоксида церия трехвалентными ионами редкоземельных элементов Er^{3+} , Yb^{3+} , Sm^{3+} на пероксидазо- и оксидазоподобную активность и получить количественные характеристики кинетических параметров протекающих реакций.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследуемые наночастицы синтезировали химическим методом осаждения с использованием в качестве прекурсоров водных растворов нитрата церия (III) $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ и нитратов допирующих веществ: $\text{Er}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Yb}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Sm}(\text{NO}_3)_3$. Суспензия стабилизировалась при помощи мальтодекстрина с декстрозным эквивалентом DE 10-12 [6]. Исследование активности проводили методами оптической спектроскопии на спектрофотометре ПЭ-5400УФ.

Пероксидазо- и оксидазоподобную активности оценивали по реакции окисления 3,3',5,5'-тетраметилбензидина (ТМБ) в присутствии пероксида водорода H_2O_2 и непосредственно наночастицами в кислой среде, соответственно [7]. Для оценки пероксидазной активности в раствор ТМБ добавляли пероксид водорода в присутствии суспензии наночастиц, для оценки оксидазной – только суспензию наночастиц в ацетатном буфере $\text{pH}=7$.

Полученные данные обрабатывались по модели Михаэлиса-Ментен, описывающей кинетику ферментативных реакций. С помощью линеаризации кривых субстратного насыщения были получены количественные характеристики кинетических параметров: константа Михаэлиса K_m , характеризующая сродство фермента к субстрату; максимальная скорость реакции V_{max} , к которой стремится скорость реакции при бесконечно большом увеличении концентрации субстрата; молярная активность, определяющая число молей субстрата, превращаемых в продукт одним молем фермента за единицу времени в условиях субстратного насыщения, и характеризуемая каталитической константой k_{cat} .

Реакции проводили для разных концентраций субстрата ТМБ: 0,052; 0,104; 0,208; 0,416; 0,832 мМ – пероксидазная активность; 0,416; 0,832; 1,664; 3,328 мМ – оксидазная активность. Концентрация НДЦ - 0,580 мМ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Продукт окисления ТМБ имеет максимум поглощения на длине волны 652 нм, поэтому регистрацию кинетик протекающих в присутствии наночастиц реакций проводили на этой длине волны в течение 5 минут. Оптическая плотность растворов для обеих активностей возрастает со временем, что свидетельствует о протекании реакции окисления субстрата ТМБ. Тангенс угла наклона графиков определяет скорость протекания реакции. Построенные по результатам эксперимента кривые субстратного насыщения были

линеаризованы методом Лайнуивера-Берка, результаты обработки представлены на Рис. 1 и 2, соответственно, для пероксидазной и оксидазной активностей чистых и допированных образцов.

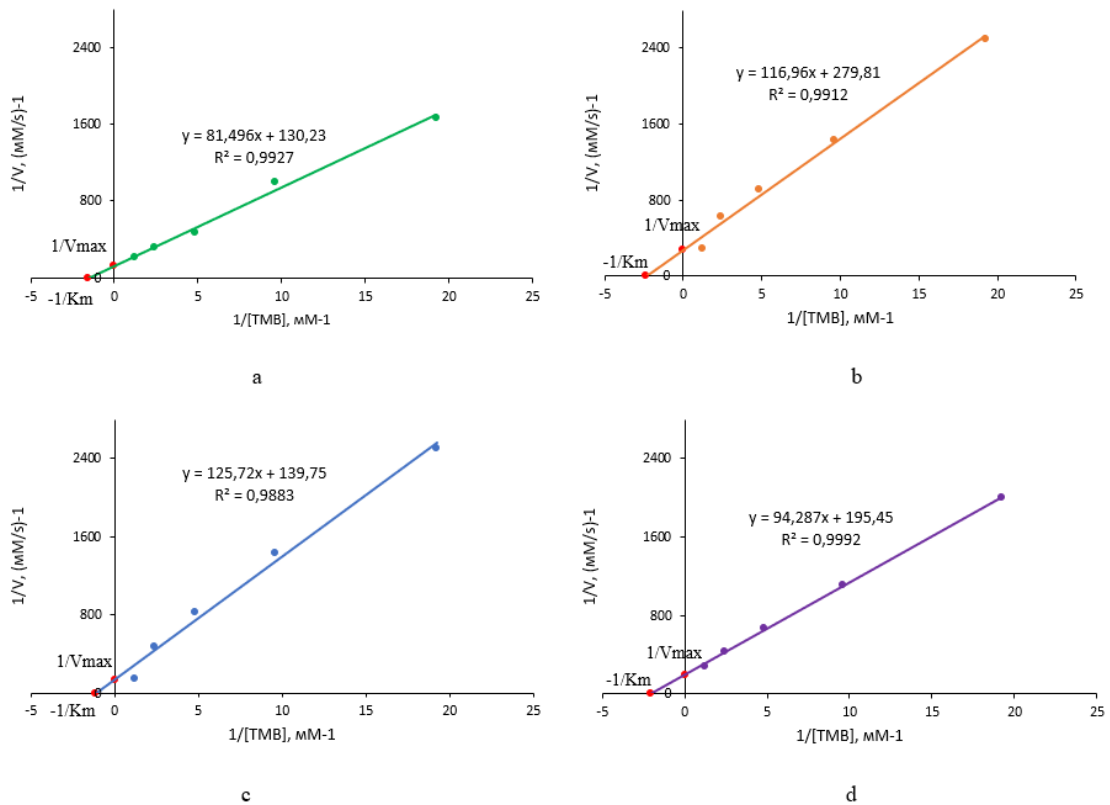


Рис. 1 Графики Лайнуивера-Берка для пероксидазной активности наночастиц:
 а – CeO_{2-x} ; б – $\text{Ce}_{0,95}\text{Er}_{0,05}\text{O}_{2-x}$; в - $\text{Ce}_{0,95}\text{Yb}_{0,05}\text{O}_{2-x}$; д - $\text{Ce}_{0,95}\text{Sm}_{0,05}\text{O}_{2-x}$

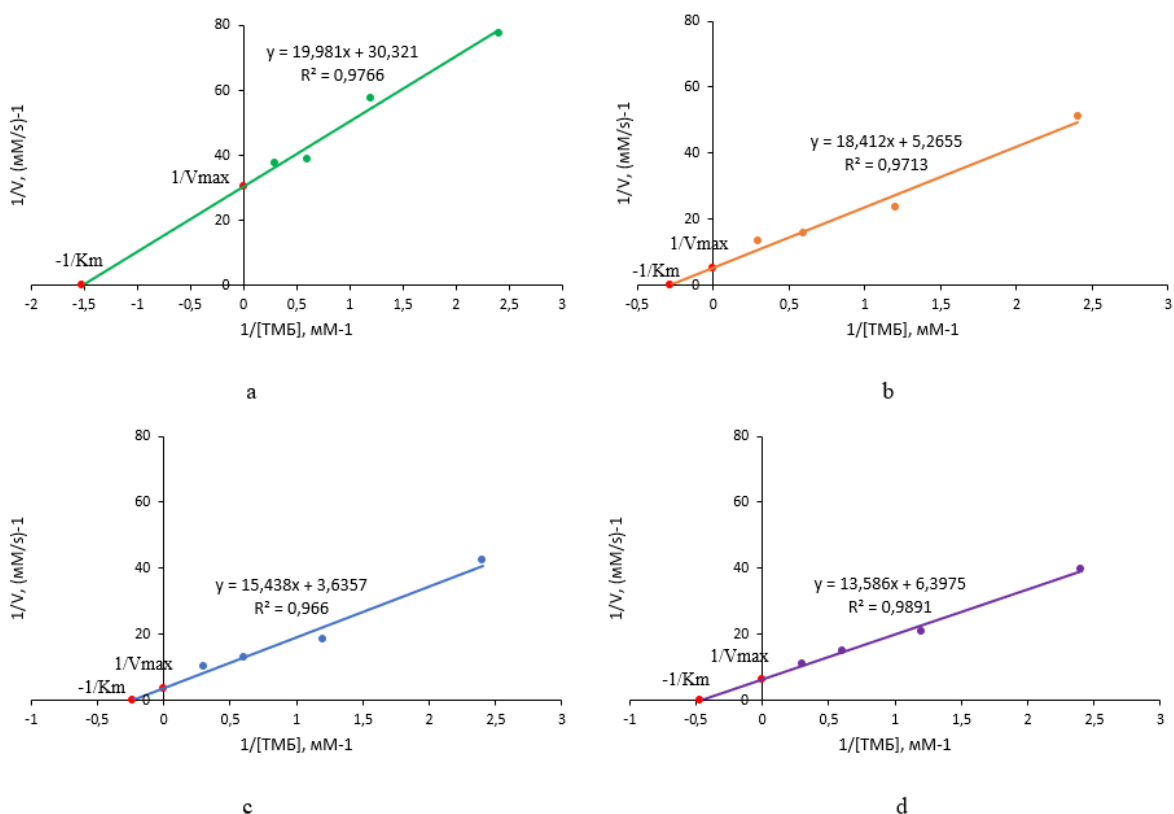


Рис. 2 Графики Лайнуивера-Берка для оксидазной активности наночастиц:

a – CeO_{2-x} ; b – $\text{Ce}_{0,95}\text{Er}_{0,05}\text{O}_{2-x}$; c - $\text{Ce}_{0,95}\text{Yb}_{0,05}\text{O}_{2-x}$; d - $\text{Ce}_{0,95}\text{Sm}_{0,05}\text{O}_{2-x}$

Графически определенные по Рис. 1 и 2 кинетические параметры протекающих реакций приведены в таблице 1.

Таблица 1

Кинетические параметры допированных и недопированных наночастиц диоксида церия

Активность	Параметр	CeO_{2-x}	$\text{Ce}_{0,95}\text{Er}_{0,05}\text{O}_{2-x}$	$\text{Ce}_{0,95}\text{Sm}_{0,05}\text{O}_{2-x}$	$\text{Ce}_{0,95}\text{Yb}_{0,05}\text{O}_{2-x}$
Пероксидазная	K_m , мМ	0,626	0,418	0,899	0,482
	V_{max} , мМ/с	0,008	0,004	0,007	0,005
	k_{cat} , с ⁻¹	0,014	0,007	0,012	0,009
Оксидазная	K_m , мМ	0,659	3,497	4,237	2,123
	V_{max} , мМ/с	0,033	0,190	0,275	0,156
	k_{cat} , с ⁻¹	0,057	0,328	0,474	0,269

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования свидетельствуют о влиянии допирования на проявляемую биокаталитическую активность наночастиц диоксида церия: сравнивая молярные активности по таблице 1, можем убедиться, что пероксидазная активность в результате допирования уменьшается, оксидазная – увеличивается. Описанное влияние объясняется механизмом допирования: в

результате внедрения трехвалентного иона допанта в кристаллическую решетку происходит замещение ионов четырехвалентного церия. Для поддержания электронейтральности системы происходит образование кислородных вакансий: во-первых, в результате восстановления ионов Ce^{4+} до Ce^{3+} , во-вторых, в результате замещения ионов Ce^{4+} в решетке редкоземельными катионами RE^{3+} . Результаты коррелируют с данными, полученными авторами работы [2], где было показано увеличение оксидазной активности наночастиц диоксида церия в результате допирования ионами редкоземельных элементов. Авторы работы [7], исследуя пероксидазную активность наночастиц, выявили, что увеличение числа кислородных вакансий и соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ в структуре кристаллической решетки приводит к повышению данного типа активности.

Вероятный механизм оксидазной активности наночастиц связан с образованием при переносе электрона с иона Ce^{3+} на молекулярный кислород супероксид-аниона, который окисляет субстрат ТМБ. Доля ионов Ce^{3+} и кислородных вакансий, на которых может адсорбироваться кислород, увеличивается в результате допирования, что приводит к повышению оксидазной активности.

Механизм пероксидазоподобной активности основан на обратимом переходе между валентными состояниями Ce^{3+} и Ce^{4+} . Пероксид водорода выступает акцептором электронов в процессе окисления субстрата ТМБ. Предположительными причинами уменьшения активности в результате допирования являются затруднение перехода между состояниями Ce^{3+} и Ce^{4+} вследствие встраивания в решетку катионов-допантов, возможное проявление в нейтральной среде конкурирующей каталазной активности наночастиц диоксида церия, направленной на разложение пероксида водорода на воду и кислород.

ВЫВОДЫ

Таким образом, по результатам количественной оценки описанных активностей можно однозначно утверждать, что допирование модифицирует способность наночастиц диоксида церия проявлять пероксидазную и оксидазную активности.

Полученные результаты могут стать основой для изучения влияния допирования на другие типы активности НДЦ: каталазную и супероксиддисмутазную, оценки влияния молярных концентраций и ионных радиусов допантов на модификацию активности. Результаты исследований позволят осуществлять точную настройку соотношения $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$ и количества кислородных вакансий на поверхности наночастиц, а значит, направленный синтез нанокристаллического диоксида церия для конкретного биомедицинского применения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Офицерова, Н. Ю. Исследование биокаталитической активности наночастиц диоксида церия, стабилизированных мальтодекстрином / Н. Ю. Офицерова, И. Н. Бажукова, А. В. Мышкина // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: Материал VII Международной научно-практической

конференции молодых учёных и студентов (Екатеринбург, 17-18 мая 2022 г.). – Екатеринбург : УГМУ, 2022. – С. 304–309.

2. Ionic radii and concentration dependency of RE³⁺ (Eu³⁺, Nd³⁺, Pr³⁺, and La³⁺)-doped cerium oxide nanoparticles for enhanced multienzyme-mimetic and hydroxyl radical scavenging activity / G. Vinothkumar, S. Rengaraj, P. Arunkumar [et al.] // The Journal of Physical Chemistry C. – 2018. – Vol. 123, № 1. – P. 541–553.

3. Cerium oxide nanoparticles: properties, biosynthesis and biomedical application / K. R.B. Singh, V. Nayak, T. Sarkar, R. P. Singh // RSC Advances. – 2020. – Vol. 10, № 45. – P. 27194–27214.

4. The effect of cerium oxide nanoparticle valence state on reactive oxygen species and toxicity / K. M. Dunnick, R. Pillai, K. L. Pisane [et al.] // Biological trace element research. – 2015. – Vol. 166, № 1. – P. 96–107.

5. Rare Earth Element (REE) Nd³⁺ doped CeO₂ nanoparticles using aloe vera leaf extract: structural, optical and antimicrobial activity / S. Gunasekaran, A. Dinesh, A. Silambarasu [et al.] // Journal of Nanoscience and Nanotechnology. – 2019. – Vol. 19, № 7. – P. 3964–3970.

6. Synthesis and study physicochemical properties of nanocrystalline ceria / E. Baksheev, M. Pronina, M. Mashkovtsev [et al.] // AIP Conference Proceedings. – 2019. – Vol. 2174, № 1. – P. 020156.

7. Size-and defect-controlled antioxidant enzyme mimetic and radical scavenging properties of cerium oxide nanoparticles / G. Vinothkumar, A. Pandiyan, A. Manesh [et al.] // New Journal of Chemistry. – 2018. – Vol. 42, № 23. – P. 18810–18823.

Сведения об авторах

Н.Ю. Офицерова* – студент магистратуры

И.Н. Бажукова – кандидат физико-математических наук, доцент

Information about the authors

N.Yu. Ofitserova* – M.S. student

I.N. Bazhukova – Candidate of Sciences (Physics and Mathematics), Associate Professor

***Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):**

n.ofitserova@mail.ru