

УДК 544.77:541.18

## ФЕРМЕНТОПОДОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ ДИОКСИДА ЦЕРИЯ, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ L-ЯБЛОЧНОЙ КИСЛОТОЙ

© 2023 г. А. Д. Филиппова<sup>1</sup>, А. Е. Баранчиков<sup>1</sup>, \*, В. К. Иванов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН,  
Ленинский просп. 31, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: a.baranchikov@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.06.2023 г.

После доработки 26.07.2023 г.

Принята к публикации 31.07.2023 г.

Впервые получены устойчивые водные коллоидные растворы диоксида церия, стабилизированные L-яблочной кислотой, в мольных соотношениях лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0.2, 0.5, 1$  и  $2$ . С помощью метода динамического рассеяния света показано, что золи  $\text{CeO}_2$  характеризуются узким мономодальным распределением агрегатов по размерам и сохраняют агрегативную устойчивость в буферном растворе  $\text{Tris-HCl}$ . Хемилюминесцентный анализ ферментоподобной активности зольей диоксида церия по отношению к пероксиду водорода показал, что модификация поверхности частиц диоксида церия яблочной кислотой приводит к увеличению их ферментоподобной активности до 4.5 раз.

*Ключевые слова:* нанозимы, пероксидазоподобная активность, золи, агрегаты

DOI: 10.31857/S0023291223600529, EDN: DIMEAR

### ВВЕДЕНИЕ

Нанокристаллический диоксид церия и материалы на его основе находят многочисленные применения в биомедицинских приложениях в качестве контрастирующих агентов для магнитно-резонансной томографии [1, 2], компонентов противоопухолевых препаратов [3, 4], антибактериальных и регенерирующих композиций [5–11] и др. Использование диоксида церия в тераностике социально-значимых заболеваний обусловлено его высокой биосовместимостью [12–14], селективной цитотоксичностью к трансформированным клеткам [15, 16] и ферментоподобной активностью – способностью  $\text{CeO}_2$  имитировать функции ряда природных ферментов, включая каталазу, пероксидазу, супероксиддисмутазу, липопероксидазу, фосфолипипероксидазу и др. [17–21].

Одно из ключевых требований, предъявляемых к биомедицинским препаратам, состоит в необходимости точной дозировки активного вещества [22]. Для дозировки нерастворимых соединений, в том числе диоксида церия, наиболее удобно использовать устойчивые коллоидные растворы [23, 24]. Для стабилизации водных зольей нанокристаллического диоксида церия используют разнообразные органические лиганды [25–27], при этом выбор стабилизатора позволяет дополнитель-

но регулировать ферментоподобную и биологическую активность  $\text{CeO}_2$  [28, 29]. Лазич и соавт. показали, что золи диоксида церия, стабилизированные лигандами катехолового ряда (кофейной кислотой, пирокатехином и дофамином), способствуют пролиферации преостеобластов, что, в сочетании с высокой антиоксидантной активностью  $\text{CeO}_2$ , перспективно для лечения воспалительных заболеваний костных тканей [30]. Ву и соавт. продемонстрировали, что модификация поверхности частиц диоксида церия янтарной кислотой повышает антиоксидантную активность и улучшает фармакокинетические характеристики  $\text{CeO}_2$  при лечении хронической болезни почек [31]. Физикелла и соавт. установили, что стабилизация коллоидного раствора диоксида церия цитратом аммония приводит к снижению генотоксического действия  $\text{CeO}_2$  [32].

Выбор биосовместимых стабилизаторов коллоидных растворов для биомедицинских применений зачастую обусловлен тем, что некоторые лиганды выступают в качестве метаболитов в живых системах или проявляют собственную биологическую активность. Одним из таких лигандов является яблочная кислота, которая участвует в цикле трикарбонных кислот и обладает значимой антиоксидантной активностью [33–35]. Отметим, что производные яблочной кислоты, например, по-

лиабличная кислота, перспективны для создания биомедицинских материалов, обеспечивающих доставку лекарственных препаратов, а также обладающих регенеративными свойствами [36–39]. К настоящему времени в литературе представлены только единичные данные о способах получения и свойствах коллоидных растворов наночастиц, стабилизированных яблочной кислотой. Так, в работе, посвященной анализу характеристик малат-, цитрат- и сукцинат-стабилизированных золь CdSe/CdS, показано, что модификация квантовых точек яблочной кислотой обеспечивает эффективную интернализацию частиц CdSe/CdS бактериями *Escherichia coli*, что может быть использовано для визуализации живых клеток прокариот [40].

В настоящей работе впервые получены золи нанокристаллического диоксида церия, стабилизированные L-яблочной кислотой в диапазоне мольных соотношений лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0.2\text{--}2$ . Исследование ферментоподобной активности золь было проведено с применением хемилюминесцентного метода, основанного на окислении люминола пероксидом водорода. Анализ особенностей взаимодействия диоксида церия с яблочной кислотой позволил оценить перспективу использования малат-стабилизированных золь  $\text{CeO}_2$  для биомедицинских применений.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходных веществ использовали гексанитратоцерат(IV) аммония (х.ч., Ланхит), L-яблочную кислоту безводную (х.ч., Sigma-Aldrich), деионизированную воду. Навеску гексанитратоцерата(IV) аммония (2.33 г) растворяли в 23 мл воды; полученный раствор переносили в стеклянный автоклав Synthware™ объемом 100 мл (степень заполнения 25%) и выдерживали при 95°C в течение суток. Полученный желтый осадок отделяли от маточного раствора центрифугированием (20000 об./мин, 5 мин), промывали три раза изопропиловым спиртом, редуцировали в 25 мл деионизированной воды и кипятили в течение 2 ч для удаления остатков изопропанола. Концентрация полученной золи диоксида церия, определенная методом термогравиметрии, составила 23.4 г/л (0.136 М).

Полученный золь (рН 2.3) стабилизировали L-яблочной кислотой в диапазоне мольных соотношений лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0.2\text{--}2$ . При этом образовывались сильно опалесцирующие коллоидные растворы; при добавлении к ним 3 М водного раствора аммиака (х.ч., Химмед) до рН 7.3–7.5 золи становились прозрачными. Концентрация полученных золь по диоксиду церия составила ~17.2 г/л (0.1 М).

Для проведения рентгенофазового анализа дисперсной фазы полученные золи высушивали на воздухе при 40°C в течение 4 сут. Рентгенофа-

зовый анализ полученных порошков проводили с использованием порошкового рентгеновского дифрактометра Bruker (США) D8 Advance ( $\text{CuK}\alpha$ -излучение) в диапазоне углов  $2\theta = 20^\circ\text{--}90^\circ$  с шагом  $0.02^\circ$  и выдержкой 0.2 с/шаг. Дифрактограммы индексируют с использованием базы данных ICDD PDF2 (2012). Для полнопрофильного анализа дифрактограмм использовали программное обеспечение TOPAS 4.2. Профили пиков аппроксимировали псевдо-функциями Фойгта (параметр формы  $K = 0.89$ ).

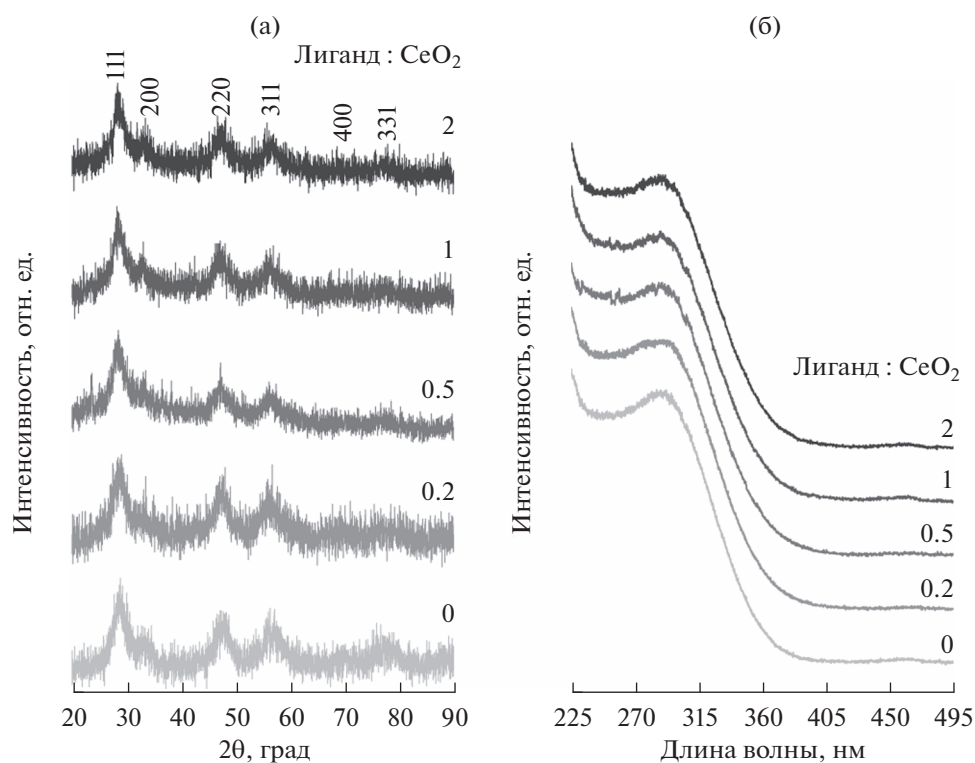
Исследования образцов методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) проводили с помощью электронного микроскопа JEOL (Япония) JEM-2100 UHR при ускоряющем напряжении 200 кВ. Перед проведением исследований золь  $\text{CeO}_2$  наносили на медную сетку с формвар/углеродным покрытием (Ted Pella, Inc.). Микрофотографии получали с помощью 11-мегапиксельной камеры Olympus Quemesa в диапазоне увеличений  $\times 20000\text{--}1\,500\,000$ .

Спектры поглощения полученных золь регистрировали в диапазоне длин волн от 200 до 600 нм с шагом 0.1 нм с использованием спектрофотометра ОКБ “Спектр” (Россия) СФ-2000.

Анализ образцов методом инфракрасной (ИК) спектроскопии проводили с использованием спектрометра Perkin Elmer (США) Spectrum 65 методом нарушенного полного внутреннего отражения в интервале  $400\text{--}4000\text{ см}^{-1}$  при спектральном разрешении  $1\text{ см}^{-1}$ .

Исследование золь методом динамического рассеяния света (ДРС) и измерения электрокинетического потенциала ( $\zeta$ -потенциала) проводили при 20°C с использованием анализатора Photocor (Россия) Compact-Z. Корреляционную функцию для каждой из выборок получали усреднением 10 кривых, каждую из которых накапливали в течение 20 с. Гидродинамический диаметр агрегатов определяли с использованием метода регуляризации (ПО DynalS).

Ферментоподобную активность (пероксидазную/каталазную) золь диоксида церия исследовали в реакции окисления люминола в присутствии пероксида водорода. В качестве среды использовали буферный раствор Tris-HCl (Sigma № 1001859094,  $c = 100\text{ мМ}$ , рН 7.4). Для приготовления 1 мМ раствора люминола (5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-фталазиндион, Sigma 123072) навеску люминола (0.0885 г) растворяли в буферном растворе Tris-HCl (500 мл). Раствор пероксида водорода ( $c = 1\text{ М}$ ) готовили разбавлением 30 мас. % раствора  $\text{H}_2\text{O}_2$  (ос.ч., Химмед) деионизованной водой. Регистрацию хемилюминесценции (ХЛ) осуществляли в пластиковых кюветах объемом 2 мл с помощью 12-канального хемилюминометра ДИСофт (Россия) Lum-1200. Для сопряжения хемилюминометра и компьютера использо-



**Рис. 1.** Дифрактограммы порошков диоксида церия, полученных высушиванием зольей  $\text{CeO}_2$ , стабилизированных L-яблочной кислотой (а), и спектры поглощения зольей диоксида церия в УФ-видимой области спектра (б). Мольные соотношения лиганд :  $\text{CeO}_2$  указаны на рисунке.

вали ПО PowerGraph (версия 3.3). Регистрацию аналитического сигнала проводили при термостатировании ( $36^\circ\text{C}$ ) непосредственно в кюветном отделении хемилюминометра. В пластиковую кювету, содержащую буферный раствор  $\text{Tris-HCl}$  (100 мМ), вносили аликвоты люминола ( $c = 50$  мкМ) и  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $c = 10$  мМ). Регистрировали фоновое свечение в течение 60 с, далее вносили аликвоту золя диоксида церия ( $c = 0.5\text{--}2.2$  мМ). Общий объем реакционной смеси составлял 1 мл. Значения интегральной интенсивности хемилюминесценции определяли как площадь под кинетической кривой за 20 мин.

Математическое моделирование кинетики хемилюминесценции продукта окисления люминола в присутствии пероксида водорода и диоксида церия проводили с помощью ПО Kinetic Analyser (версия 3.1).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты рентгенофазового анализа зольей диоксида церия, стабилизированных L-яблочной кислотой и высушенных при  $40^\circ\text{C}$ , приведены на рис. 1а. Как следует из дифрактограмм, дисперсная фаза полученных зольей представляет собой однофазный диоксид церия (PDF2 34-394, пр. гр.

$Fm\bar{3}m$ ). Размеры областей когерентного рассеяния порошков  $\text{CeO}_2$ , оцененные при проведении полнопрофильного анализа дифрактограмм, находятся в диапазоне 3.0–4.5 нм. Отметим, что стабилизация зольей  $\text{CeO}_2$  L-яблочной кислотой не оказала влияния на фазовый состав дисперсной фазы.

Спектры поглощения малат-стабилизированных зольей диоксида церия в УФ-видимой области спектра представлены на рис. 1б. Для всех полученных коллоидных растворов  $\text{CeO}_2$  характерна полоса поглощения в диапазоне длин волн 280–300 нм, соответствующая полосе поглощения нанодисперсного диоксида церия с шириной запрещенной зоны  $\sim 3.4$  эВ, что согласуется с литературными данными [41].

По данным ПЭМ (рис. 2а), средний размер индивидуальных частиц диоксида церия в золе  $\text{CeO}_2$ , не стабилизированном L-яблочной кислотой, составляет 3.2 нм (стандартное отклонение 0.4 нм). Результаты ПЭМ высокого разрешения (рис. 2б) позволили визуализировать в индивидуальных кристаллитах  $\text{CeO}_2$  системы кристаллографических плоскостей с характеристическим межплоскостным расстоянием  $\sim 2.7$  Å, которые могут быть отнесены к плоскостям (200) кристаллической решетки  $\text{CeO}_2$ , что согласуется с данными рентгенофазового анализа (рис. 1а).



В ИК-спектрах (рис. 3) малат-стабилизированных золей  $\text{CeO}_2$  можно видеть полосы поглощения в диапазонах 3200–2500 ( $\nu(\text{O}-\text{H})$  связанной гидроксильной группы), 3000–2840  $\text{cm}^{-1}$  ( $\nu(\text{C}-\text{H})$ ) и 1610–1550  $\text{cm}^{-1}$  (асимметричные колебания  $\nu(\text{COO}^-)$ ) [45]. Отсутствие на спектрах полосы поглощения при 1700  $\text{cm}^{-1}$  и присутствие полос поглощения карбоксильной группы указывает на образование карбоксилатных комплексов на поверхности нанодисперсного диоксида церия [46, 47]. Присутствие полосы поглощения в районе 1400  $\text{cm}^{-1}$ , характерной, в частности, для цитратных и тартратных комплексов  $\text{Ce}(\text{IV})$ , также подтверждает связывание малата с  $\text{CeO}_2$  [48]. Сдвиг полосы деформационных колебаний гидроксильной группы от 1275 к 1310  $\text{cm}^{-1}$ , происходящий при образовании хелатных комплексов оксикислот (молочной, винной и лимонной), дополнительно указывает на связывание L-яблочной кислоты с поверхностью частиц  $\text{CeO}_2$  [42]. По результатам ИК-спектроскопии можно предположить, что связывание яблочной кислоты с поверхностью диоксида церия реализуется через карбоксильную и гидроксильную группы.

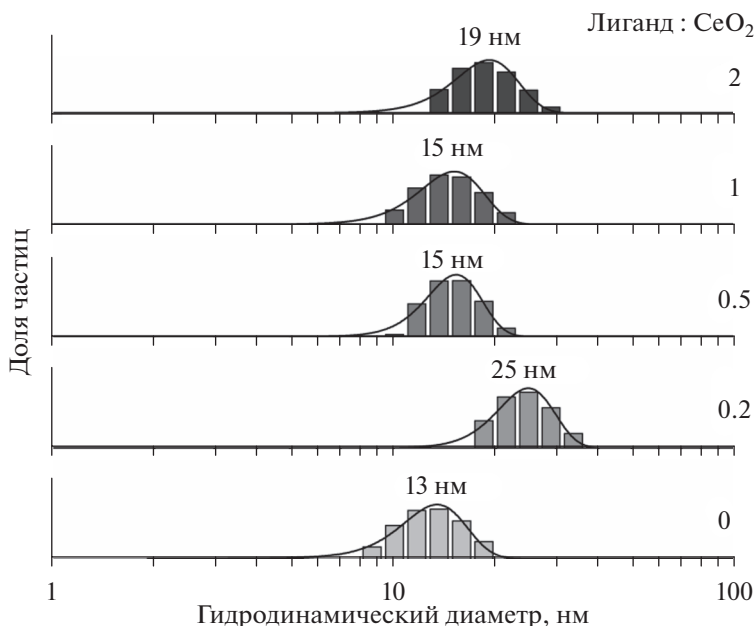
При добавлении нестабилизированного прозрачного золя  $\text{CeO}_2$  (рН 2.3) по каплям в раствор L-яблочной кислоты (рН 1–2) происходит быстрое помутнение смесей и образование сильно опалесцирующих (практически непрозрачных) коллоидных растворов светло-желтого цвета (рН 1.4–2.0). Внешний вид коллоидных растворов при перемешивании остается неизменным, а в отсутствие перемешивания через сутки наблюдается образование осадка. Вероятно, при добавлении наночастиц  $\text{CeO}_2$  к раствору яблочной кислоты происходит формирование малатных комплексов на поверхности частиц диоксида церия, аналогично комплексам с лимонной или глутаминовой кислотами [49–51]. Отметим, что при рН < 2 яблочная кислота присутствует в растворах преимущественно в недиссоциированной форме [52], поэтому в таких условиях стабилизация наночастиц  $\text{CeO}_2$ , имеющих положительный  $\zeta$ -потенциал [53], за счет электростатического взаимодействия маловероятна. Кроме того, хорошо известно, что растворимость диоксида церия в кислой среде относительно велика [54]. Грулке и соавт. показали, что нанокристаллический диоксид церия медленно растворяется в водных растворах органических кислот (лимонной, янтарной и яблочной) при рН 4.5 [55]. Для того чтобы повысить седиментационную устойчивость коллоидных растворов диоксида церия с L-яблочной кислотой и избежать возможного растворения частиц  $\text{CeO}_2$ , рН смесей доводили водным раствором аммиака до 7.4. В результате добавления аммиака происходило формирование прозрачных золей. При рН > 7 яблочная кислота присутствует в растворах в форме двухзарядного аниона  $\text{Mal}^{2-}$ ,

что обеспечивает ее адсорбцию на поверхности  $\text{CeO}_2$  и электростатическое отталкивание наночастиц, модифицированных малат-анионом [52]. Отметим, что при доведении рН нестабилизированного золя диоксида церия (рН 2.3) до нейтрального (рН ~ 7) наблюдается потеря седиментационной устойчивости и выпадение желтого осадка. Таким образом, стабилизация коллоидного раствора  $\text{CeO}_2$  малат-анионом, аналогично стабилизации цитратили оксалат-анионами [53], позволила расширить диапазон рН стабильности золя.

Образование седиментационно-устойчивых золей диоксида церия, стабилизированных L-яблочной кислотой, было подтверждено методом ДРС (рис. 4). Для всех полученных золей с различными соотношениями лиганд :  $\text{CeO}_2$  характерно модальное распределение агрегатов частиц по размерам. В исходном, нестабилизированном золе диоксида церия (рН 2.3) присутствуют агрегаты с гидродинамическим диаметром около 13 нм. Стабилизация коллоидного раствора  $\text{CeO}_2$  L-яблочной кислотой в мольном соотношении лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0.2$  приводит к увеличению гидродинамического диаметра агрегатов до 25 нм. Такое увеличение гидродинамического диаметра, вероятнее всего, связано со стерическим фактором, а именно необходимостью покрытия молекулами лиганда всей поверхности агрегата наночастиц для обеспечения стабильности золя. Отметим, что оценка мольного соотношения яблочная кислота :  $\text{CeO}_2$ , необходимого для обеспечения полного покрытия наночастиц диаметром 13 нм, выполненного из геометрических соображений в приближении жестких сфер, привела к значению ~1 : 1, что удовлетворительно соответствует данному предположению. Значения гидродинамических диаметров агрегатов малат-стабилизированных золей  $\text{CeO}_2$  с соотношением лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0.5$ –2 находятся в диапазоне 15–19 нм и практически совпадают друг с другом, а также достаточно близки к размерам агрегатов частиц в исходном, нестабилизированном золе.

Результаты электрокинетических измерений для малат-стабилизированных золей диоксида церия приведены в табл. 1. Величина  $\zeta$ -потенциала нестабилизированного золя  $\text{CeO}_2$  является положительной (+22 мВ), что характерно для коллоидных растворов  $\text{CeO}_2$  с низкими значениями рН (2–3) и соответствует ранее полученным данным [53, 56]. Из табл. 1 следует, что стабилизация диоксида церия малат-анионами приводит к изменению знака  $\zeta$ -потенциала на отрицательный. Стабилизированные золи  $\text{CeO}_2$  характеризуются величиной  $\zeta$ -потенциала около –15 мВ, которая практически не зависит от количества L-яблочной кислоты. Отметим, что золи с величиной электрокинетического потенциала менее 30 мВ, как пра-





**Рис. 4.** Распределения частиц  $\text{CeO}_2$  по размерам в золях, стабилизированных L-яблочной кислотой в мольных соотношениях лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0-2$ .

вило, относят к коллоидным растворам с невысокой агрегативной устойчивостью [49, 57].

Добавление аммиака к нестабилизированному золю диоксида церия (pH 2.3) приводит к увеличению его pH до ~7 и перезарядке поверхности частиц  $\text{CeO}_2$ , их  $\zeta$ -потенциал становится слабоотрицательным ( $-3 \pm 1$  мВ) [56]. В свою очередь, при pH ~7 величины  $\zeta$ -потенциала малат-стабилизированных зольей  $\text{CeO}_2$  (табл. 1) по абсолютной величине значительно больше, что дополнительно указывает на модифицирование поверхности диоксида церия малат-анионами. В соответствии с данными, приведенными в работе Власовой и соавт., адсорбция двухосновных органических кислот (пиколиновой и оротовой) на поверхности  $\text{CeO}_2$  приводит к образованию устойчивых комплексов ( $\equiv\text{CeOH}_2^+\text{A}^-$ ) [58]. Значение  $\zeta$ -потенциала малат-стабилизированных зольей диоксида церия практически не зависит от концентрации L-яблочной кислоты, вероятно, также за счет упомянутого

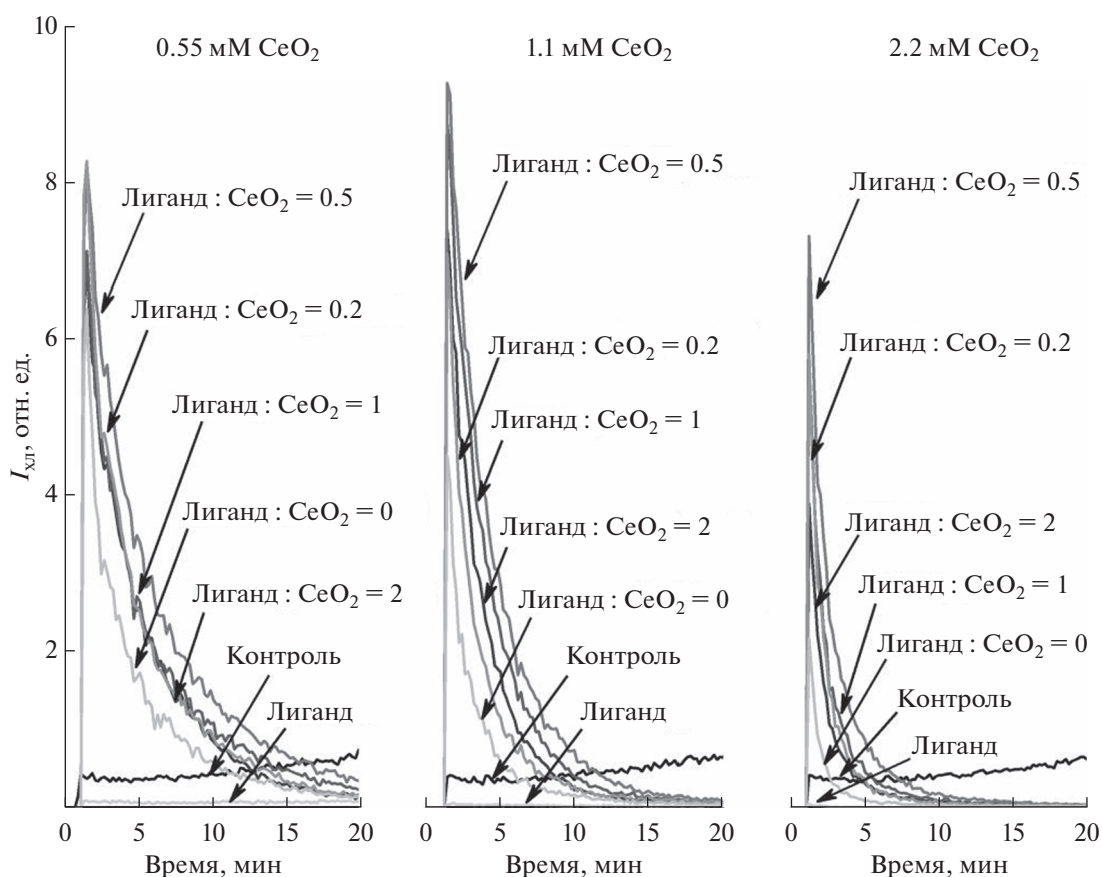
выше стерического фактора. Хэнкок и соавт. с использованием ЯМР-спектроскопии  $^{13}\text{C}$  установили, что связывание цитрат-анионов с поверхностью частиц диоксида церия реализуется через гидроксильную и терминальные карбоксильные группы [49]. Поскольку при  $\text{pH} > 7$  в растворе преимущественно присутствуют двухзарядные анионы  $\text{Mal}^{2-}$ , можно предположить, что координация малат-аниона к поверхности диоксида церия также осуществляется через карбоксильную и гидроксильную группы, что согласуется с данными ИК-спектроскопии. При этом свободная карбоксильная группа находится в анионной форме, что обеспечивает отрицательное значение  $\zeta$ -потенциала малат-стабилизированных зольей  $\text{CeO}_2$  (табл. 1).

Ферментоподобная активность полученных зольей диоксида церия по отношению к пероксиду водорода была исследована с использованием хемилюминесцентного метода. Кинетические кривые хемилюминесценции продукта окисления люминола пероксидом водорода в присутствии диоксида церия приведены на рис. 5.

При добавлении зольей диоксида церия в реакционную смесь, содержащую буферный раствор Tris-HCl, люминол и пероксид водорода, интенсивность хемилюминесценции продукта окисления люминола по сравнению с контрольной смесью, не содержащей  $\text{CeO}_2$ , увеличивается (рис. 5). Затем интенсивность свечения постепенно снижается, при этом скорость снижения интенсивности тем выше, чем больше концентрация  $\text{CeO}_2$  в реакционной смеси (0.55–2.2 мМ). Отметим, что

**Таблица 1.** Значения  $\zeta$ -потенциалов зольей  $\text{CeO}_2$  (pH 7.4)

Мольное соотношение лиганд : $\text{CeO}_2$	$\zeta$ -потенциал, мВ
0 (pH 2.3)	$+22 \pm 1$
0.2	$-14 \pm 1$
0.5	$-15 \pm 2$
1	$-16 \pm 2$
2	$-16 \pm 1$



**Рис. 5.** Кинетические кривые хемилюминесценции продукта окисления люминола пероксидом водорода в реакционной смеси, содержащей буферный раствор Tris-HCl (pH 7.4) и золи диоксида церия, стабилизированные L-яблочной кислотой при мольных соотношениях лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0-2$ . Значение pH нестабилизированного золя  $\text{CeO}_2$  2.3.

для природного фермента пероксидазы хрена в аналогичных условиях регистрируется иной вид хемилюминесцентных кривых, а именно постепенное увеличение интенсивности хемилюминесценции с ее выходом на стационарное значение [59]. Однако, для наноматериалов, проявляющих пероксидазоподобную активность, вид хемилюминесцентных кривых может быть иным, что вероятно связано с взаимодействием наночастиц с компонентами реакционной смеси. Хемилюминесцентные кривые, аналогичные полученным в настоящей работе, и связанные с проявлением пероксидазоподобной активности наблюдали ранее для ряда наноматериалов, в том числе диоксида церия [60, 61], комплекса железа с порфирином [62], металл-органических полимеров  $\text{Co(II)}$  [63].

Экспериментальные кинетические данные были обработаны в рамках кинетической модели, приведенной в табл. 2 (рис. 6). Выбранная математическая модель основана на механизме пероксидазоподобной активности диоксида церия, предложенном ранее [64, 65]. В результате моделирования (табл. 2) были определены кинетические параметры реакций взаимодействия диоксида церия с

пероксидом водорода (1), взаимодействия люминола с гидроксил-радикалом (2) и реакции хемилюминесценции продукта окисления люминола (3).

Из табл. 2 можно видеть, что с уменьшением концентрации диоксида церия происходит снижение скорости реакции (3), сопровождающейся испусканием кванта света, на порядок величины, что согласуется с различиями в соответствующих экспериментальных кинетических кривых (рис. 5). В свою очередь, стабилизация золь диоксида церия L-яблочной кислотой приводит к снижению скорости реакции (3) в среднем в три раза (табл. 3), что соответствует более медленному затуханию хемилюминесценции реакционных смесей, содержащих малат-стабилизированные золи по сравнению со смесями, содержащими нестабилизированные коллоидные растворы  $\text{CeO}_2$  (рис. 5).

Количественный анализ ферментоподобной активности золь диоксида церия проводили путем сравнения значений интегральной интенсивности хемилюминесценции, регистрируемой в течение 20 мин (рис. 7). Водные растворы яблочной кислоты (0.28–1.1 мМ), не содержащие диок-

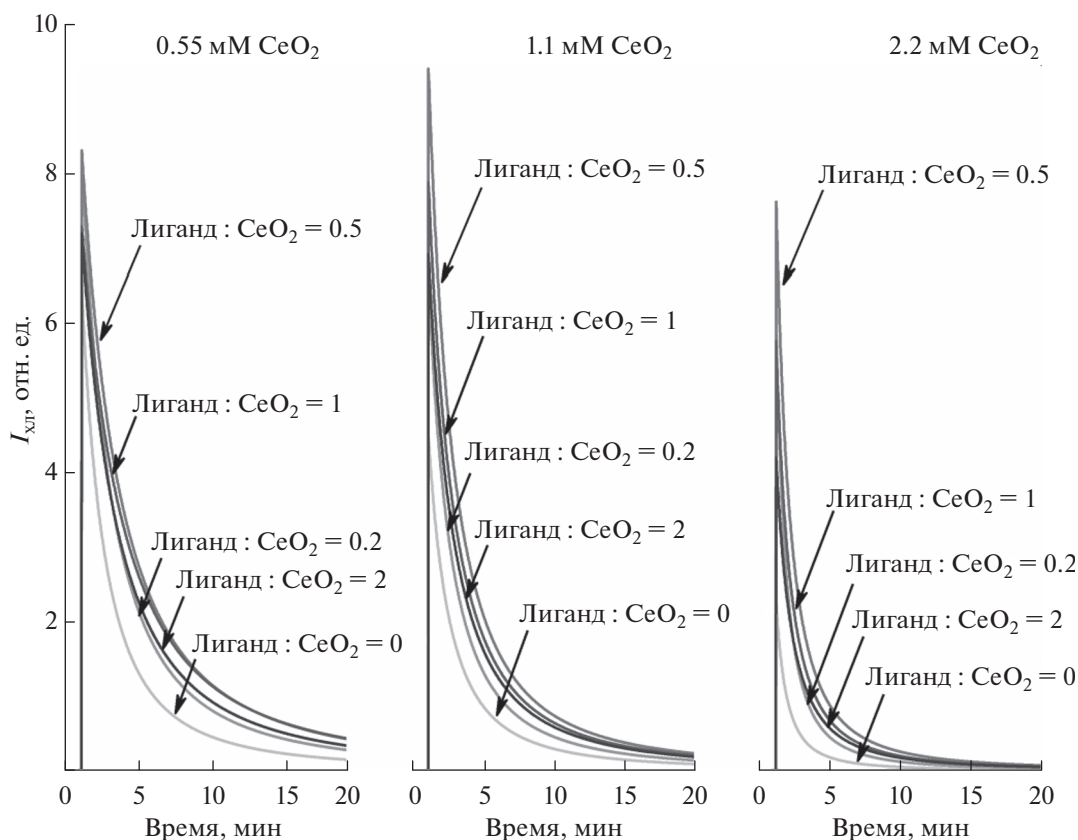
**Таблица 2.** Результаты математического моделирования данных хемилюминесцентного анализа для реакционной смеси, содержащей буферный раствор Tris-HCl, люминол, пероксид водорода и нестабилизированный золь диоксида церия (рН 2.3)

Реакция		Константа реакции, мкМ/мин		
		0.55 мМ CeO <sub>2</sub>	1.1 мМ CeO <sub>2</sub>	2.2 мМ CeO <sub>2</sub>
CeO <sub>2</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> → 2ОН·	(1)	2.6 × 10 <sup>6</sup>	2.2 × 10 <sup>6</sup>	6.1 × 10 <sup>5</sup>
Lum + ОН· → Lum*	(2)	1.5 × 10 <sup>-6</sup>	1.1 × 10 <sup>-6</sup>	1.0 × 10 <sup>-6</sup>
Lum* + Lum* → P + hν	(3)	3.5 × 10 <sup>-7</sup>	6.0 × 10 <sup>-7</sup>	5.0 × 10 <sup>-6</sup>

сида церия, снижают интенсивность свечения люминола в 6–60 раз, что указывает на антиоксидантную активность L-яблочной кислоты по отношению к пероксиду водорода (рис. 7а). Снижение интенсивности хемилюминесценции с увеличением концентрации яблочной кислоты от 0.28 до 1.1 мМ согласуется с литературными данными, в соответствии с которыми яблочная кислота обладает антиоксидантной активностью по отношению к гидроксил-радикалам в диапазоне концентраций 0.05–0.5 мкг/мл, при этом, чем

выше концентрация яблочной кислоты, тем более выражена антиоксидантная активность [33].

Как видно из рис. 7б, пероксидазоподобная активность малат-стабилизированных золь CeO<sub>2</sub> превышает активность нестабилизированного золь диоксида церия. Ферментоподобная активность золь CeO<sub>2</sub>, стабилизированного в мольном соотношении лиганд : CeO<sub>2</sub> = 0.5, практически в два раза (CeO<sub>2</sub>, 0.55 мМ), в три раза (CeO<sub>2</sub>, 1.1 мМ) и в семь раз (CeO<sub>2</sub>, 2.2 мМ) выше, чем активность нестабилизированного золь CeO<sub>2</sub>. Данное наблюдение согласуется с результатами ДРС, получен-



**Рис. 6.** Кинетические кривые хемилюминесценции продукта окисления люминола пероксидом водорода в присутствии золь диоксида церия, полученные в результате математического моделирования экспериментальных данных (реакции (1)–(3), табл. 2).



**Таблица 3.** Кинетические параметры реакций (1)–(3) для реакционных смесей, содержащих буферный раствор Tris-HCl, люминол, пероксид водорода и малат-стабилизированные золи диоксида церия

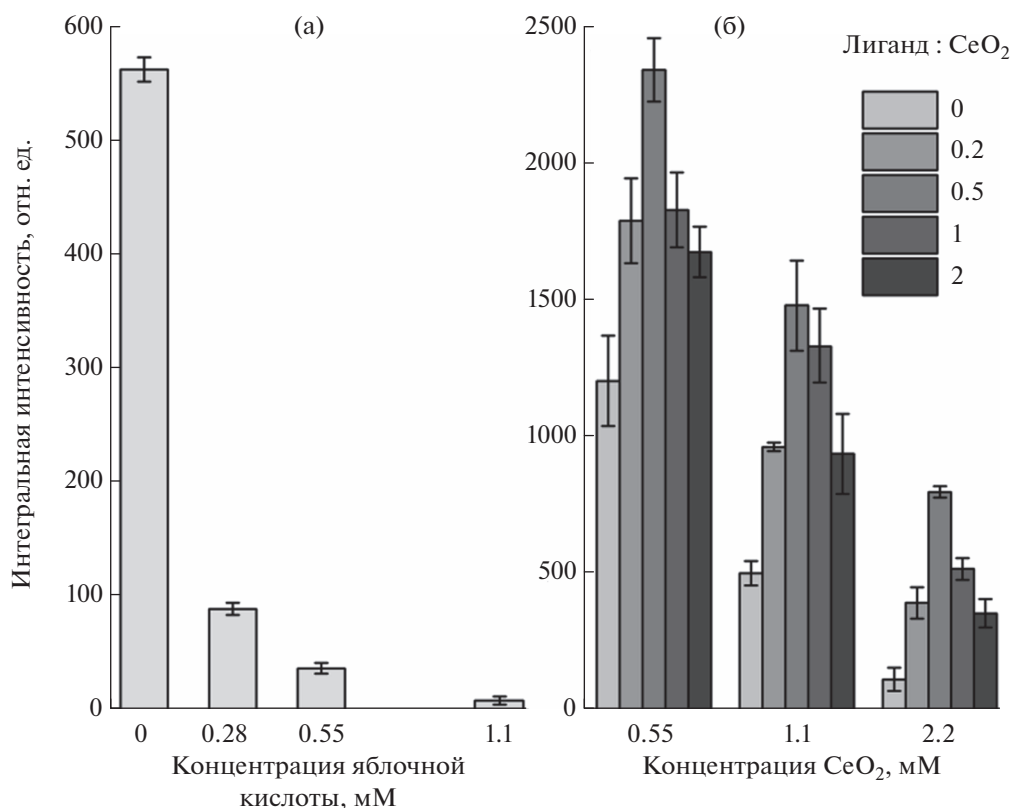
Мольное соотношение лиганд : CeO <sub>2</sub>	Реакция	Константа реакции, мкМ/мин		
		0.55 мМ CeO <sub>2</sub>	1.1 мМ CeO <sub>2</sub>	2.2 мМ CeO <sub>2</sub>
0.2	(1)	$3.0 \times 10^6$	$2.0 \times 10^6$	$8.7 \times 10^5$
	(2)	$2.1 \times 10^{-6}$	$1.9 \times 10^{-6}$	$1.8 \times 10^{-6}$
	(3)	$1.7 \times 10^{-7}$	$3.8 \times 10^{-7}$	$2.0 \times 10^{-6}$
0.5	(1)	$3.6 \times 10^6$	$3.3 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$
	(2)	$2.3 \times 10^{-6}$	$1.8 \times 10^{-6}$	$1.7 \times 10^{-6}$
	(3)	$1.0 \times 10^{-7}$	$2.2 \times 10^{-7}$	$8.5 \times 10^{-7}$
1	(1)	$3.2 \times 10^6$	$3.0 \times 10^6$	$1.3 \times 10^6$
	(2)	$2.5 \times 10^{-6}$	$1.7 \times 10^{-6}$	$1.6 \times 10^{-6}$
	(3)	$9.4 \times 10^{-8}$	$2.5 \times 10^{-7}$	$1.1 \times 10^{-6}$
2	(1)	$2.6 \times 10^6$	$2.3 \times 10^6$	$1.7 \times 10^6$
	(2)	$2.6 \times 10^{-6}$	$2.0 \times 10^{-6}$	$1.0 \times 10^{-6}$
	(3)	$1.3 \times 10^{-7}$	$2.7 \times 10^{-7}$	$1.2 \times 10^{-6}$

ными для золь диоксида церия в буферном растворе Tris-HCl (pH 7.4) (рис. 8). Гидродинамический диаметр агрегатов нестабилизированного золя CeO<sub>2</sub> более чем в 3 раза превышает размер агрегатов в золе диоксида церия, стабилизированном L-яблочной кислотой в мольном соотношении лиганд : CeO<sub>2</sub> = 0.5. Отметим, что аналогичную зависимость пероксидазоподобной активности от размеров агрегатов частиц наблюдали ранее для феррита марганца [66]. Наиболее вероятной причиной зависимости активности нанозимов от размеров агрегатов частиц является степень доступности их реакционных центров для молекул субстратов. Чем больше размер агрегатов, тем меньше эффективная поверхность взаимодействия активной твердой фазы с компонентами раствора.

С другой стороны, с увеличением мольного соотношения лиганд : CeO<sub>2</sub> в диапазоне 0.5–2 в малат-стабилизированных золях диоксида церия происходит снижение их пероксидазоподобной активности до двух раз (CeO<sub>2</sub>, 2.2 мМ), что, вероятно, связано с собственными антиоксидантными свойствами яблочной кислоты (рис. 7). Ранее Дарэ и соавт. показали, что конъюгация диоксида церия с дубильной кислотой приводит к снижению цитотоксичного действия дубильной кислоты: CeO<sub>2</sub> и конъюгат CeO<sub>2</sub>-дубильная кислота не оказывали значительного влияния на жизнеспособность фибробластов [46]. Жу и соавт. предложили методику модификации поверхности CeO<sub>2</sub>

алендроновой кислотой и продемонстрировали, что конъюгат CeO<sub>2</sub>-алендроновая кислота проявляет супероксиддисмутазо- и каталазоподобную активность и обладает антиоксидантными свойствами по отношению к активным формам азота [67]. Ву и соавт. показали, что стабилизация золя диоксида церия цитрат-анионами (5 мас. %) позволяет значительно повысить скорость фотоиндуцированного свободнорадикального окисления N-(фосфонометил)-глицина по сравнению с нестабилизированным золем CeO<sub>2</sub> (константа скорости разложения  $k_{PMG}$  увеличилась с 0.0018 до 0.3028 мин<sup>-1</sup>) [67]. Важно отметить, что величина  $k_{PMG}$ , теоретически оцененная для смеси диоксида церия и лимонной кислоты (5 мас. %) в предположении об отсутствии химического взаимодействия компонентов, была на три порядка ниже (0.0005 мин<sup>-1</sup>), чем константа скорости разложения N-(фосфонометил)-глицина под действием цитрат-модифицированного CeO<sub>2</sub>. Сравнение литературных данных [68] и результатов, полученных в настоящей работе (рис. 7, табл. 2 и 3), позволяет предположить, что увеличение содержания L-яблочной кислоты (лиганд : CeO<sub>2</sub> от 0.5 до 2) затрудняет доступ люминола и пероксида водорода к поверхности частиц диоксида церия, что приводит к уменьшению пероксидазоподобной активности малат-стабилизированных золь CeO<sub>2</sub>.

Необходимо отметить, что золь диоксида церия, стабилизированный яблочной кислотой в соотно-



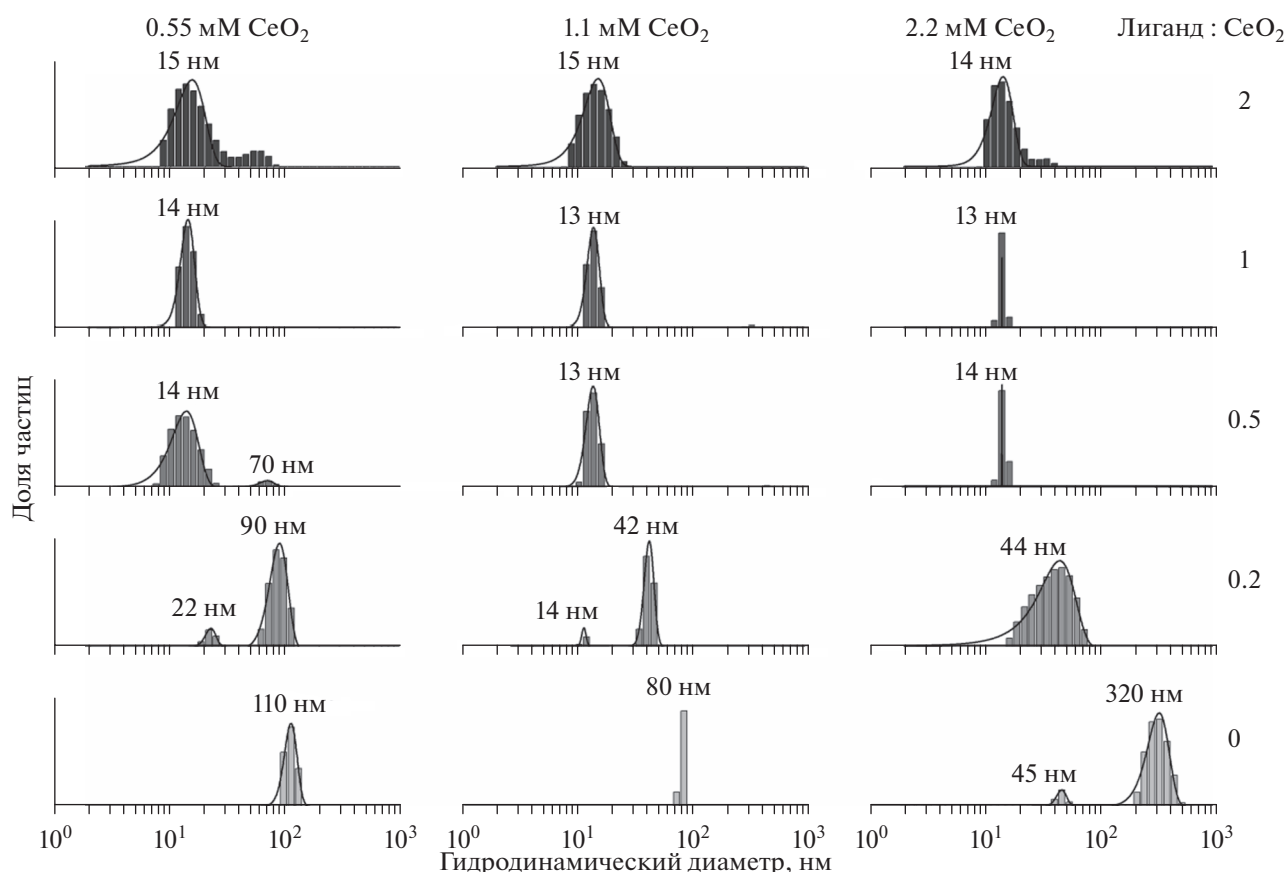
**Рис. 7.** Зависимость интегральной интенсивности хемилюминесценции продукта окисления люминола от концентрации L-яблочной кислоты (а) в реакционных смесях, содержащих буферный раствор Tris-HCl (pH 7.4), люминол и пероксид водорода, и от концентрации диоксида церия (б) в реакционных смесях, содержащих буферный раствор Tris-HCl (pH 7.4), люминол, пероксид водорода и малат-стабилизированные золи CeO<sub>2</sub>.

шении лиганд : CeO<sub>2</sub> = 0.2, демонстрирует активность, вдвое меньшую активности золя CeO<sub>2</sub>, стабилизированного при соотношении лиганд : : CeO<sub>2</sub> = 0.5. Невысокая активность малат-стабилизированного коллоидного раствора CeO<sub>2</sub> с соотношением лиганд : CeO<sub>2</sub> = 0.2 связана с большим значением гидродинамического диаметра агрегатов частиц в воде (рис. 4) и в буферном растворе Tris-HCl (рис. 8) по сравнению с другими стабилизированными золями. Такое различие, как было отмечено выше, вероятнее всего, также связано со стерическим фактором.

Таким образом, стабилизация диоксида церия L-яблочной кислотой в диапазоне мольных соотношений лиганд : CeO<sub>2</sub> от 0.5 до 2 позволяет повысить агрегативную устойчивость золя CeO<sub>2</sub> и его ферментоподобную активность по отношению к пероксиду водорода. Полученные данные свидетельствуют о том, что фактор агрегативной устойчивости наночастиц CeO<sub>2</sub> в коллоидных растворах может иметь большое значение при оценке ферментоподобной активности диоксида церия и других неорганических материалов, особенно в экспериментах *in vitro* и *in vivo*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе впервые получены агрегативно устойчивые золи диоксида церия, стабилизированные L-яблочной кислотой, в диапазоне мольных соотношений лиганд : CeO<sub>2</sub> = 0.2–2. Образование малатных комплексов на поверхности частиц диоксида церия подтверждено методами ИК-спектроскопии и ДРС. Стабилизация зольей диоксида церия яблочной кислотой снижает степень агрегации наночастиц CeO<sub>2</sub> в буферном растворе Tris-HCl (pH 7.4). Анализ ферментоподобной активности хемилюминесцентным методом продемонстрировал, что стабилизация коллоидных растворов CeO<sub>2</sub> малат-анионом приводит к увеличению пероксидазоподобной активности диоксида церия по сравнению с нестабилизированным зольем CeO<sub>2</sub>. Результаты кинетического моделирования хемилюминесцентных данных показали, что увеличение количества малат-аниона в золях диоксида церия (лиганд : CeO<sub>2</sub> = 0.5–2) приводит к снижению ферментоподобной активности CeO<sub>2</sub>, что обусловлено антиоксидантными свойствами яблочной кислоты. Полученные результаты могут быть использованы для анализа биологической активности диоксида церия в при-



**Рис. 8.** Распределения по размерам частиц диоксида церия в золях, стабилизированных L-яблочной кислотой при мольных соотношениях лиганд :  $\text{CeO}_2 = 0-2$ , в буферном растворе Tris-HCl (pH 7.4).

сутствии продуктов катаболизма (цикла Кребса) в живых системах.

#### БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП ФМИ ИОНХ РАН.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 19-13-00416).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Shao C., Shen A., Zhang M. et al.* Oxygen vacancies enhanced  $\text{CeO}_2/\text{Gd}$  nanoparticles for sensing a tumor vascular microenvironment by magnetic resonance imaging // *ACS Nano*. 2018. V. 12. № 12. P. 12629–12637. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b07387>
2. *Eriksson P., Tal A.A., Skallberg A. et al.* Cerium oxide nanoparticles with antioxidant capabilities and gado-

linium integration for MRI contrast enhancement // *Scientific Reports*. 2018. V. 8. № 1. P. 6999. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25390-z>

3. *Tapeinos C., Battaglini M., Prato M. et al.*  $\text{CeO}_2$  Nanoparticles-loaded pH-responsive microparticles with antitumoral properties as therapeutic modulators for osteosarcoma // *ACS Omega*. 2018. V. 3. № 8. P. 8952–8962. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b01060>
4. *Pi F., Deng X., Xue Q. et al.* Alleviating the hypoxic tumor microenvironment with  $\text{MnO}_2$ -coated  $\text{CeO}_2$  nanoplatform for magnetic resonance imaging guided radiotherapy // *Journal of Nanobiotechnology*. 2023. V. 21. № 1. P. 90. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-01850-1>
5. *Augustine R., Hasan A., Patan N.K. et al.* Cerium oxide nanoparticle incorporated electrospun poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) membranes for diabetic wound healing applications // *ACS Biomaterials Science & Engineering*. 2020. V. 6. № 1. P. 58–70. <https://doi.org/10.1021/acsbomaterials.8b01352>
6. *Kim D.W., Le T.M.D., Lee S.M. et al.* Microporous organic nanoparticles anchoring  $\text{CeO}_2$  materials: Reduced toxicity and efficient reactive oxygen species-scavenging for regenerative wound healing // *ChemNanoMat*. 2020. V. 6. № 7. P. 1104–1110. <https://doi.org/10.1002/cnma.202000067>

7. *Rather H.A., Thakore R., Singh R. et al.* Antioxidative study of Cerium Oxide nanoparticle functionalised PCL-gelatin electrospun fibers for wound healing application // *Bioactive Materials*. 2018. V. 3. № 2. P. 201–211. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2017.09.006>
8. *Zheng H., Wang S., Cheng F. et al.* Bioactive anti-inflammatory, antibacterial, conductive multifunctional scaffold based on MXene@CeO<sub>2</sub> nanocomposites for infection-impaired skin multimodal therapy // *Chemical Engineering Journal*. 2021. V. 424. P. 130148. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130148>
9. *Ermakov A., Popov A., Ermakova O. et al.* The first inorganic mitogens: Cerium oxide and cerium fluoride nanoparticles stimulate planarian regeneration via neoblastic activation // *Materials Science and Engineering: C*. 2019. V. 104. P. 109924. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109924>
10. *Shcherbakov A.B., Reukov V.V., Yakimansky A.V. et al.* CeO<sub>2</sub> nanoparticle-containing polymers for biomedical applications: A review // *Polymers*. 2021. V. 13. № 6. P. 924. <https://doi.org/10.3390/polym13060924>
11. *Ivanov V.K., Polezhaeva O.S., Tret'yakov Y.D.* Nanocrystalline ceria: Synthesis, structure-sensitive properties, and promising applications // *Russian Journal of General Chemistry*. 2010. V. 80. № 3. P. 604–617. <https://doi.org/10.1134/S1070363210030412>
12. *Saravanakumar K., Sathiyaseelan A., Mariadoss A.V.A. et al.* Antioxidant and antidiabetic properties of biocompatible ceria oxide (CeO<sub>2</sub>) nanoparticles in mouse fibroblast NIH3T3 and insulin resistant HepG2 cells // *Ceramics International*. 2021. V. 47. № 6. P. 8618–8626. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.11.230>
13. *Naz S., Kazmi S.T.B., Zia M.* CeO<sub>2</sub> Nanoparticles synthesized through green chemistry are biocompatible: *In vitro* and *in vivo* assessment // *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2019. V. 33. № 5. P. e22291. <https://doi.org/10.1002/jbt.22291>
14. *Uzair B., Akhtar N., Sajjad S. et al.* Targeting microbial biofilms: By *Arctium lappa* L. synthesised biocompatible CeO<sub>2</sub>-NPs encapsulated in nano-chitosan // *IET Nanobiotechnology*. 2020. V. 14. № 3. P. 217–223. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2019.0294>
15. *Ahamed M., Akhtar M.J., Khan M.A.M. et al.* Evaluation of the cytotoxicity and oxidative stress response of CeO<sub>2</sub>-RGO nanocomposites in human lung epithelial A549 cells // *Nanomaterials*. 2019. V. 9. № 12. P. 1709. <https://doi.org/10.3390/nano9121709>
16. *Abbas F., Iqbal J., Maqbool Q. et al.* ROS mediated malignancy cure performance of morphological, optical, and electrically tuned Sn doped CeO<sub>2</sub> nanostructures // *AIP Advances*. 2017. V. 7. № 9. P. 095205. <https://doi.org/10.1063/1.4990790>
17. *Ma Y., Tian Z., Zhai W. et al.* Insights on catalytic mechanism of CeO<sub>2</sub> as multiple nanozymes // *Nano Research*. 2022. V. 15. № 12. P. 10328–10342. <https://doi.org/10.1007/s12274-022-4666-y>
18. *Xiao G., Li H., Zhao Y. et al.* Nanoceria-based artificial nanozymes: Review of materials and applications // *ACS Applied Nano Materials*. 2022. V. 5. № 10. P. 14147–14170. <https://doi.org/10.1021/acsanm.2c03009>
19. *Popov A.L., Shcherbakov A.B., Zholobak N.M. et al.* Cerium dioxide nanoparticles as third-generation enzymes (nanozymes) // *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*. 2017. P. 760–781. <https://doi.org/10.17586/2220-8054-2017-8-6-760-781>
20. *Feng N., Liu Y., Dai X. et al.* Advanced applications of cerium oxide based nanozymes in cancer // *RSC Advances*. 2022. V. 12. № 3. P. 1486–1493. <https://doi.org/10.1039/D1RA05407D>
21. *Sozarukova M.M., Proskurnina E. V., Popov A.L. et al.* New facets of nanozyme activity of ceria: lipo- and phospholipoperoxidase-like behaviour of CeO<sub>2</sub> nanoparticles // *RSC Advances*. 2021. V. 11. № 56. P. 35351–35360. <https://doi.org/10.1039/D1RA06730C>
22. *Kim C.K., Kim T., Choi I.-Y. et al.* Ceria nanoparticles that can protect against ischemic stroke // *Angewandte Chemie International Edition*. 2012. V. 51. № 44. P. 11039–11043. <https://doi.org/10.1002/anie.201203780>
23. *Gulicovski J.J., Milonjić S.K., Szécsényi K.M.* Synthesis and characterization of stable aqueous ceria sols // *Materials and Manufacturing Processes*. 2009. V. 24. № 10–11. P. 1080–1085. <https://doi.org/10.1080/10426910903032162>
24. *Habib I.Y., Kumara N.T.R.N., Lim C.M. et al.* Dynamic light scattering and zeta potential studies of ceria nanoparticles // *Solid State Phenomena*. 2018. V. 278. P. 112–120. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.278.112>
25. *Huang L., Zhang W., Chen K. et al.* Facet-selective response of trigger molecule to CeO<sub>2</sub> {1 1 0} for up-regulating oxidase-like activity // *Chemical Engineering Journal*. 2017. V. 330. P. 746–752. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.08.026>
26. *Yadav N., Patel V., McCourt L. et al.* Tuning the enzyme-like activities of cerium oxide nanoparticles using a triethyl phosphite ligand // *Biomaterials Science*. 2022. V. 10. № 12. P. 3245–3258. <https://doi.org/10.1039/D2BM00396A>
27. *Wu J., Wang X., Wang Q. et al.* Nanomaterials with enzyme-like characteristics (nanozymes): Next-generation artificial enzymes (II) // *Chemical Society Reviews*. 2019. V. 48. № 4. P. 1004–1076. <https://doi.org/10.1039/C8CS00457A>
28. *Gupta A., Das S., Neal C.J. et al.* Controlling the surface chemistry of cerium oxide nanoparticles for biological applications // *Journal of Materials Chemistry B*. 2016. V. 4. № 19. P. 3195–3202. <https://doi.org/10.1039/C6TB00396F>
29. *Lee S.S., Song W., Cho M. et al.* Antioxidant properties of cerium oxide nanocrystals as a function of nanocrystal diameter and surface coating // *ACS Nano*. 2013. V. 7. № 11. P. 9693–9703. <https://doi.org/10.1021/nn4026806>
30. *Lazić V., Živković L.S., Sredojević D. et al.* Tuning properties of cerium dioxide nanoparticles by surface modification with catecholate-type of ligands // *Langmuir*. 2020. V. 36. № 33. P. 9738–9746. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01163>
31. *Wu Q., Yang L., Zou L. et al.* Small ceria nanoclusters with high ROS Scavenging activity and favorable Phar-

- macokinetic parameters for the amelioration of chronic kidney disease // *Advanced Healthcare Materials*. 2023. P. 2300632.  
<https://doi.org/10.1002/adhm.202300632>
32. *Casals E., Zeng M., Parra-Robert M. et al.* Cerium oxide nanoparticles: Advances in biodistribution, toxicity, and preclinical exploration // *Small*. 2020. V. 16. № 20. P. 1907322.  
<https://doi.org/10.1002/sml.201907322>
  33. *Szentmihályi K., Szilágyi M., Balla J. et al.* *In vitro* anti-oxidant activities of magnesium compounds used in food industry // *Acta Alimentaria*. 2014. V. 43. № 3. P. 419–425.  
<https://doi.org/10.1556/AAlim.43.2014.3.8>
  34. *Jin X., Yang R., Yan X. et al.* Malic acid and oxalic acid spraying enhances phytic acid degradation and total antioxidant capacity of mung bean sprouts // *International Journal of Food Science & Technology*. 2016. V. 51. № 2. P. 370–380.  
<https://doi.org/10.1111/ijfs.12941>
  35. *Qiu K., He W., Zhang H. et al.* Bio-fermented malic acid facilitates the production of high-quality chicken via enhancing muscle antioxidant capacity of broilers // *Antioxidants*. 2022. V. 11. № 12. P. 2309.  
<https://doi.org/10.3390/antiox11122309>
  36. *Huang Z.W., Laurent V., Chetouani G. et al.* New functional degradable and bio-compatible nanoparticles based on poly(malic acid) derivatives for site-specific anti-cancer drug delivery // *International Journal of Pharmaceutics*. 2012. V. 423. № 1. P. 84–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.04.035>
  37. *Huang X., Xu L., Qian H. et al.* Polymalic acid for translational nanomedicine // *Journal of Nanobiotechnology*. 2022. V. 20. № 1. P. 295.  
<https://doi.org/10.1186/s12951-022-01497-4>
  38. *Zhang J., Chen D., Liang G. et al.* Biosynthetic polymalic acid as a delivery nanopatform for translational cancer medicine // *Trends in Biochemical Sciences*. 2021. V. 46. № 3. P. 213–224.  
<https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.09.008>
  39. *Ljubimova J.Y., Fujita M., Khazenzon N.M. et al.* Nano-conjugate based on polymalic acid for tumor targeting // *Chemico-Biological Interactions*. 2008. V. 171. № 2. P. 195–203.  
<https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.015>
  40. *Hirschey M.D., Han Y.-J., Stucky G.D. et al.* Imaging *Escherichia coli* using functionalized Core/Shell CdSe/CdS quantum dots // *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*. 2006. V. 11. № 5. P. 663–669.  
<https://doi.org/10.1007/s00775-006-0116-7>
  41. *Huang Y.-C., Wu S.-H., Hsiao C.-H. et al.* Mild synthesis of size-tunable CeO<sub>2</sub> octahedra for band gap variation // *Chemistry of Materials*. 2020. V. 32. № 6. P. 2631–2638.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.0c00318>
  42. *Nakamoto K.* *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*. John Wiley & Sons, 2009.
  43. *Prieur D., Bonani W., Popa K. et al.* Size dependence of lattice parameter and electronic structure in CeO<sub>2</sub> nanoparticles // *Inorganic Chemistry*. 2020. V. 59. № 8. P. 5760–5767.  
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00506>
  44. *Badertscher M., Bühlmann P., Pretsch E.* *Structure determination of organic compounds*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2009. 174 p.  
<https://doi.org/10.1007/978-3-540-93810-1>
  45. *Bellami L.J.* *The Infrared Spectra of Complex Molecules*. New York, NY: John Wiley & Sons, 1954. 321 p.
  46. *Daré R.G., Kolanthai E., Neal C.J. et al.* Cerium oxide nanoparticles conjugated with tannic acid prevent uvb-induced oxidative stress in fibroblasts: Evidence of a promising anti-photodamage agent // *Antioxidants*. 2023. V. 12. № 1. P. 190.  
<https://doi.org/10.3390/antiox12010190>
  47. *Nastasiienko N., Palianytsia B., Kartel M. et al.* Thermal transformation of caffeic acid on the nanoceria surface studied by temperature programmed desorption mass-spectrometry, thermogravimetric analysis and FT–IR spectroscopy // *Colloids and Interfaces*. 2019. V. 3. № 1. P. 34.  
<https://doi.org/10.3390/colloids3010034>
  48. *Petrova N., Todorovsky D., Angelova S. et al.* Synthesis and characterization of cerium citric and tartaric complexes // *Journal of Alloys and Compounds*. 2008. V. 454. № 1–2. P. 491–500.  
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2007.01.005>
  49. *Hancock M.L., Yokel R.A., Beck M.J. et al.* The characterization of purified citrate-coated cerium oxide nanoparticles prepared via hydrothermal synthesis // *Applied Surface Science*. 2021. V. 535. P. 147681.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.147681>
  50. *Ivanov V.K., Polezhaeva O.S., Shaporev A.S. et al.* Synthesis and thermal stability of nanocrystalline ceria sols stabilized by citric and polyacrylic acids // *Russian Journal of Inorganic Chemistry*. 2010. V. 55. № 3. P. 328–332.  
<https://doi.org/10.1134/S0036023610030046>
  51. *Vlasova N.M., Markitan O.V.* Complexation on the oxide surfaces: Adsorption of biomolecules from aqueous solutions: A review // *Theoretical and Experimental Chemistry*. 2022. V. 58. № 1. P. 1–14.  
<https://doi.org/10.1007/s11237-022-09716-7>
  52. *Janusz W., Skwarek E.* Adsorption of malic acid at the hydroxyapatite/aqueous NaCl solution interface // *Applied Nanoscience*. 2022. V. 12. № 4. P. 1355–1363.  
<https://doi.org/10.1007/s13204-021-01938-w>
  53. *Shcherbakov A.B., Teplonogova M.A., Ivanova O.S. et al.* Facile method for fabrication of surfactant-free concentrated CeO<sub>2</sub> sols // *Materials Research Express*. 2017. V. 4. № 5. P. 055008.  
<https://doi.org/10.1088/2053-1591/aa6e9a>
  54. *Plakhova T.V., Romanchuk A.Y., Yakunin S.N. et al.* Solubility of nanocrystalline cerium dioxide: Experimental data and thermodynamic modeling // *The Journal of Physical Chemistry C*. 2016. V. 120. № 39. P. 22615–22626.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b05650>
  55. *Grulke E.A., Beck M.J., Yokel R.A. et al.* Surface-controlled dissolution rates: A case study of nanoceria in carboxylic acid solutions // *Environmental Science: Nano*. 2019. V. 6. № 5. P. 1478–1492.  
<https://doi.org/10.1039/C9EN00222G>



56. *Barany S., Bohacs K., Chepurna I. et al.* Electrokinetic properties and stability of cerium dioxide suspensions // *RSC Advances*. 2016. V. 6. № 73. P. 69343–69351. <https://doi.org/10.1039/C6RA12725H>
57. *Robert J. P., Lennart B.* Surface and Colloid Chemistry in Advanced Ceramics Processing / Ed. Pugh R.J., Bergstrom L. CRC Press, 2017. <https://doi.org/10.1201/9780203737842>
58. *Vlasova N.N., Golovkova L.P., Stukalina N.G.* Adsorption of organic acids on a cerium dioxide surface // *Colloid Journal*. 2015. V. 77. № 4. P. 418–424. <https://doi.org/10.1134/S1061933X15040201>
59. *Izmailov D.Y., Proskurnina E. V., Shishkanov S.A. et al.* The effect of antioxidants on the formation of free radicals and primary products of the peroxidase reaction // *Biophysic*. 2017. V. 62. № 4. P. 557–564. <https://doi.org/10.1134/S0006350917040091>
60. *Averchenko E.A., Kavok N.S., Klochkov V.K. et al.* Chemiluminescent diagnostics of free-radical processes in an abiotic system and in liver cells in the presence of nanoparticles based on rare-earth elements  $NReVO_4:Eu^{3+}$  (Re = Gd, Y, La) and  $CeO_2$  // *Journal of Applied Spectroscopy*. 2014. V. 81. № 5. P. 827–833. <https://doi.org/10.1007/s10812-014-0012-9>
61. *Iranifam M., Haggi A., Akhteh H. et al.* Synthesis of rod-like  $CeO_2$  nanoparticles and their application to catalyze the luminol– $O_2$  chemiluminescence reaction used in the determination of oxcarbazepine and ascorbic acid // *Analytical Sciences*. 2022. V. 38. № 5. P. 787–793. <https://doi.org/10.1007/s44211-022-00096-5>
62. *Zhao Y., Xu X., Ma Y. et al.* A Novel peroxidase/oxidase mimetic Fe-porphyrin covalent organic framework enhanced the luminol chemiluminescence reaction and its application in glucose sensing // *Luminescence*. 2020. V. 35. № 8. P. 1366–1372. <https://doi.org/10.1002/bio.3899>
63. *Li D., Zhang S., Feng X. et al.* A novel peroxidase mimetic Co-MOF enhanced luminol chemiluminescence and its application in glucose sensing // *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2019. V. 296. P. 126631. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.126631>
64. *Filippova A.D., Sozarukova M.M., Baranchikov A.E. et al.* Peroxidase-like activity of  $CeO_2$  nanozymes: Particle size and chemical environment matter // *Molecules*. 2023. V. 28. № 9. P. 3811. <https://doi.org/10.3390/molecules28093811>
65. *Sozarukova M.M., Proskurnina E.V., Ivanov V.K.* Prooxidant potential of  $CeO_2$  nanoparticles towards hydrogen peroxide // *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*. 2021. V. 12. № 3. P. 283–290. <https://doi.org/10.17586/2220-8054-2021-12-3-283-290>
66. *Moreno-Castilla C., Naranjo Á., Victoria López-Ramón M. et al.* Influence of the hydrodynamic size and  $\zeta$ -potential of manganese ferrite nanozymes as peroxidase-mimicking catalysts at pH 4 in different buffers // *Journal of Catalysis*. 2022. V. 414. P. 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2022.09.010>
67. *Zhou X., Zeng W., Rong S., et al.* Alendronate-modified nanoceria with multiantioxidant enzyme-mimetic activity for reactive oxygen species/reactive nitrogen species scavenging from cigarette smoke // *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2021. V. 13. № 40. P. 47394–47406. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c15358>
68. *Wu H., Sun Q., Chen J. et al.* Citric acid-assisted ultrasmall  $CeO_2$  nanoparticles for efficient photocatalytic degradation of glyphosate // *Chemical Engineering Journal*. 2021. V. 425. P. 130640. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.130640>