

PACS numbers: 61.05.cp, 68.37.Hk, 68.37.Lp, 68.43.-h, 78.67.Bf, 81.15.Jj, 81.70.Pg

Электронно-лучевое физическое осаждение в вакууме биологически чистых (безлигандных) наночастиц оксида железа

С. Е. Литвин¹, Ю. А. Курапов¹, Е. М. Важничая², Я. А. Стельмах¹,
С. М. Романенко¹, Е. И. Оранская³

¹Институт электросварки им. Е. О. Патона НАН Украины,
ул. Казимира Малевича, 11,
03150 Киев, Украина

²Украинская медицинская стоматологическая академия,
ул. Шевченко, 23,
36011 Полтава, Украина

³Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины,
ул. Генерала Наумова, 17,
03164 Киев, Украина

Рассмотрен физический синтез наночастиц оксида железа, полученных из паровой фазы с использованием метода EB-PVD. Приведены результаты исследования структуры пористых конденсатов композиции Fe–NaCl, химического и фазового составов и размера наночастиц. При быстром извлечении из вакуума наночастицы железа окисляются на воздухе до магнетита. В исходном состоянии они обладают значительной сорбционной способностью по отношению к кислороду и влаге; поэтому при дальнейшем нагреве на воздухе происходит снижение массы пористого конденсата вплоть до температуры 650°C, в первую очередь, за счёт десорбции физически сорбированной влаги. Физически адсорбированный кислород участвует в доокислении Fe₃O₄ до Fe₂O₃ в диапазоне 380–650°C. Увеличение температуры конденсации сопровождается ростом размера наночастиц, в результате чего значительно сокращается суммарная площадь поверхности наночастиц, а, следовательно, и их сорбционная способность. Даже без стабилизации такие наночастицы, исследуемые в виде водной дисперсии, изготовленной ex tempore, имеют в эксперименте на животных характерное противоанемическое действие, которое может быть использовано в медицине.

Наведено результати дослідження структури пористих конденсатів композиції Fe–NaCl, хемічного та фазового складів і розміру наночастинок, одержаних фізичною синтезою з парової фази із використанням

методи EB-PVD. При швидкому вилученні з вакууму наночастинок заліза окиснюються на повітрі до магнетиту. У початковому стані вони мають значну сорбційну здатність по відношенню до кисню та вологи; тому при подальшому нагріванні на повітрі відбувається пониження маси пористого конденсату аж до температури у 650°C , в першу чергу, за рахунок десорбції фізично сорбованої вологи. Фізично адсорбований кисень бере участь в доокисненні Fe_3O_4 до Fe_2O_3 . Збільшення температури конденсації супроводжується зростанням розміру наночастинок, в результаті чого значно скорочується сумарна площа поверхні наночастинок, а отже, і їхня сорбційна здатність. Навіть без стабілізації такі наночастинки, досліджувані у вигляді водної дисперсії, виготовленої ex tempore, мають в експерименті на тваринах характерну протианемічну дію, яка може бути використаною у медицині.

The results of study of the structure of porous condensates of the composition iron–sodium chloride, chemical and phase compositions, and size of nanoparticles obtained by physical synthesis from the vapour phase using the electron-beam physical vapour deposition method are considered. With a rapid recovery from vacuum, iron nanoparticles are oxidized in the air to magnetite. In the initial state, they have significant sorption capacity with respect to oxygen and moisture. Physically adsorbed oxygen participates in the oxidation of Fe_3O_4 to Fe_2O_3 . An increase in condensation temperature is accompanied by the increase in size of nanoparticles; as a result of that, the total surface area of nanoparticles is significantly reduced, and consequently, their sorption capacity is decreased. Even without stabilization, such nanoparticles studied as ex tempore prepared aqueous dispersion have characteristic antianemic effect on the laboratory animals that can be used in medicine.

Ключевые слова: EB-PVD, наночастицы оксида железа, сорбция, фазовый состав, коллоидные системы, антианемический эффект.

Ключові слова: EB-PVD, наночастинки оксиду заліза, сорбція, фазовий склад, колоїдні системи, антианемічний ефект.

Key words: EB-PVD, iron oxide nanoparticles, sorption, phase composition, colloid systems, antianemic effect.

(Получено 5 декабря 2019 г.; после доработки — 26 февраля 2020 г.)

1. ВВЕДЕНИЕ

Наиболее изученными являются наночастицы оксидов железа — магнетита (Fe_3O_4) и маггемита ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$), которые находят применение в электронике и медицине [1–3]. Наибольшее количество работ посвящено исследованиям наночастиц магнетита размером до 20 нм, которые при комнатной температуре находятся в суперпарамагнитном состоянии [4, 5]. Они характеризуются прак-

тически нулевой остаточной намагниченностью, что особо важно для медико-биологических применений, например, при транспорте лекарственных препаратов по кровеносным сосудам малого диаметра, в которых крайне нежелательна агрегация частиц [6].

Множество работ в последние годы посвящено изучению кластеров суперпарамагнитных наночастиц оксида железа (SPION) с ядром-оболочкой размером около 80 нм [7, 8]. Авторы [8] исследовали магнитные свойства такого кластера из наночастиц маггемита размером 10 нм в аморфной оболочке диоксида кремния толщиной 15 нм. Оказалось, что наряду с суперпарамагнитными свойствами такой кластер регистрирует высокий магнитный момент, что особо важно при управлении с помощью внешнего магнитного поля.

Много работ посвящено разработке новых методов получения и стабилизации наночастиц металлов. Лидируют химические методы синтеза частиц, среди которых наиболее распространён жидкофазный метод химической конденсации, предложенный Элмором [9]. В этом методе зарождение и рост частиц осуществляют в объёме, на контактирующих с жидкой фазой поверхностях различной природы, форм и размеров [10–12]. Заслуживает внимания золь-гель-метод синтеза суперпарамагнитных наночастиц оксида железа (SPION) [13, 14]. Он позволил получить наночастицы гематита с высокой намагниченностью и магнитным моментом.

В работах [15, 16] были сделаны первые упоминания о получении магнитных наночастиц физическим методом (методом молекулярных пучков). Он базируются на физических процессах испарения или распыления веществ с последующим осаждением паровой фазы в вакууме, атмосфере инертных или активных газов. В этом случае для испарения и распыления применяют, соответственно, радиационные, электроннолучевые, лазерные и ионно-плазменные источники нагрева. Методы получения магнитных наночастиц и области их практического применения изложены в соответствующих обзорах, например [17, 18].

Метод электронно-лучевого испарения различных веществ в вакууме с последующей конденсацией паровых потоков, который нашёл применение при осаждении функциональных и конструкционных покрытий с микро- и наноразмерной структурой, используется также для синтеза наночастиц металлов [19–23]. Этот метод помимо большой производительности, заслуживает внимание своей универсальностью в подборе различных неорганических и органических матриц для консервирования наночастиц металлов и их оксидов. Выбор NaCl в качестве матрицы был обоснован тем, что этот материал при конденсации в области температур $T < 0,3T_{пл}$ [24] характеризуется открытой пористой

структурой. Конденсируясь в вакууме в открытых порах этой матрицы, наночастицы железа свободно окисляются до магнетита в воздушной среде. Более того, NaCl широко применяется в медицине в качестве ингредиентов многих лекарственных препаратов благодаря его биологической совместимости с живыми организмами и хорошей растворимости в воде.

Как отмечалось, одним из основных направлений практического применения наночастиц магнетита является биология и медицина [25, 26]. Это обусловлено магнитными свойствами и наличием в их составе железа, поэтому такие наночастицы имеют противоанемическое действие за счёт пополнения общего пула железа в организме, свойство влиять на время релаксации окружающих протонов, улучшает визуализацию определённых структур при магнитно-резонансной томографии, гипертермическое действие, а также транспортное действие, заключающееся в доставке лечебного агента к клеткам-мишеням путём активного таргетинга [27–30].

Использование наночастиц магнетита требует их стабилизации в жидкой среде, что порождает определённые проблемы в связи с тем, что стабилизирующие вещества способны модулировать фармакокинетику покрытых наночастиц оксида железа и их взаимодействие с клетками [31–33]. С этой точки зрения наночастицы магнетита, осаждённые в пористую, легко растворимую и биологически совместимую матрицу, представляют значительный практический интерес.

Целью проведения данных исследований стало синтезировать суперпарамагнитные наночастицы оксида железа [33] при одно-временном испарении железа и хлорида натрия и исследовать влияния концентрации железа и температуры конденсации на сорбционные свойства, размерность и фазовый состав наночастиц, а также изучить биологическую активность таких частиц при анемии, вызванной острой кровопотерей.

2. ТЕХНИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Синтез наночастиц осуществляли методом конденсации смешанных молекулярных потоков железа и соли в вакуумной электронно-лучевой установке [34]. В водоохлаждаемый тигель диаметром 50 мм помещали слиток Fe, а в рядом расположенный тигель помещали прессованный штапик NaCl. В камере создавали вакуум $(1,3-2,6) \cdot 10^{-2}$ Па. Поверхности слитка и штапика нагревали электронно-лучевыми пушками до расплавления. В результате был сформирован смешанный паровой поток Fe и NaCl, который конденсировали на водоохлаждаемую подложку, где поддерживали температуру 40–50°C (рис. 1). После напуска

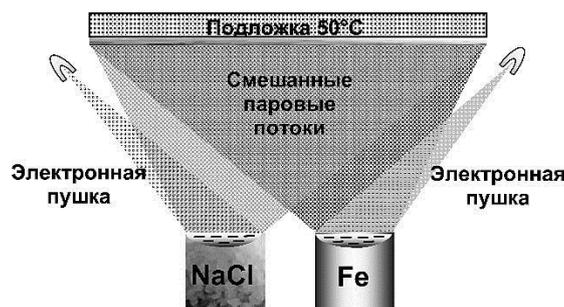


Рис. 1. Схема электронно-лучевого испарения и конденсации в вакууме из двух независимых источников на неподвижную водоохлаждаемую медную подложку при синтезе наночастиц Fe (Fe_3O_4) в пористой матрице NaCl.¹

воздуха и полной разгерметизации камеры конденсат счищали с подложки и наночастицы исследовали как в сухом конденсате, так и в коллоидном растворе.

Микроструктуру конденсата и содержание элементов в конденсате исследовали с помощью растровых электронных микроскопов VEGA 3 (фирмы Tescan, Чехия) и CamScan (Кембридж, Великобритания) с рентгеновской приставкой INCA-200 Energy (Оксфорд, Великобритания). Исследование морфологии и фазового состава частиц проводилось методом трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) на микроскопе HITACHI H-800 (Хитаичи, Япония) при ускоряющем напряжении 100 кВ и рентгенофазового анализа (РФА) на дифрактометре ДРОН-УМ1 с кобальтовым (CoK_α) излучением и графитовым монохроматором в отражённом пучке в диапазоне углов 10–85 градусов. Средний размер кристаллитов оценивали по уравнению Шеррера. Процессы окисления железа в матрице соли на воздухе изучали при увеличении температуры до 650°C со скоростью 10°C/мин с помощью термogravиметрического анализатора TGA-7 фирмы Perkin Elmer, США. Размер наночастиц в коллоидной системе определяли методом динамического рассеяния света (DLS) [34–36] на лазерном корреляционном спектрометре 'Zeta Sizer-3000' фирмы Malvern, Великобритания.

Конденсат с наночастицами магнетита (НЧМ) растворяли в деионизированной воде в соотношении 1 мг/1 мл и изучали на предмет стабильности и гидродинамического размера частиц методом DLS, как описано выше.

Опыты по изучению биологической активности НЧМ были проведены на 28 белых половозрелых крысах-самцах (*Rattus norvegicus*) линии Вистар массой тела 183–221 г, а расхождение массы крыс в группе не превышала 15–20%. Крысы были ран-

домизированы, маркированы, разделены на группы и содержались в стандартных условиях вивария. Проведение экспериментов не вызывало возражений комиссии по биоэтике Высшего государственного учебного заведения Украины «Украинская медицинская стоматологическая академия». Острую кровопотерю моделировали путём пункции сердца и изъятие 25% объёма циркулирующей крови под эфирным наркозом в хирургической стадии (3–4 мл/кг массы животного) [37].

Для фармакологической коррекции использовали непокрытые НЧМ в виде порошкообразной субстанции, которую подробно описали выше. Этот порошок диспергировали в воде для инъекций непосредственно перед применением и вводили белым крысам внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг массы тела (6,75 мг Fe/кг) сразу после потери крови. Образцы крови получали из сердца животных под эфирным наркозом через 3 и 72 часа с момента кровопотери. В них изучали гематологические показатели: общее количество эритроцитов (RBC), гематокрит (Hct), общий гемоглобин (Hb), средний объем эритроцита (MCV), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC), среднее количество гемоглобина в эритроците (MCH) и индекс анизоцитоза (ширина кривой распределения эритроцитов) (RDW).

Указанные показатели исследовали с помощью гематологического анализатора MicroCC-20Plus Vet (High Technology Inc., США), запрограммированного на параметры крови белых крыс [38]. Содержание ретикулоцитов (Rt) определяли, используя суправитальное окрашивание метиленовым синим, в ходе которого РНК-содержащие структуры проявляются в виде зернисто-сетчатой субстанции [39]. Окрашенные мазки исследовали с объективом $\times 100$ на микроскопе AmScope T490B-10MT (United Scope LLC, США). Полученный материал статистически обрабатывали с помощью стандартных компьютерных программ пакета Statistica for Windows 8.0. Вероятность оценивали разницей между группами с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с апостериорным тестом Fisher LSD.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Внешний вид (рис. 2, а) и поверхность полученных конденсатов Fe–NaCl (рис. 2, б) соответствовала 1-й зоне низкотемпературного формирования нанокристаллической структуры [40].

Исследования макроструктуры и содержания элементов на поперечном сколе пористого конденсата Fe–NaCl показали наличие большого количества кислорода, адсорбируемого наночастицами из воздуха после разгерметизации вакуумной камеры (рис. 3, табл. 1).

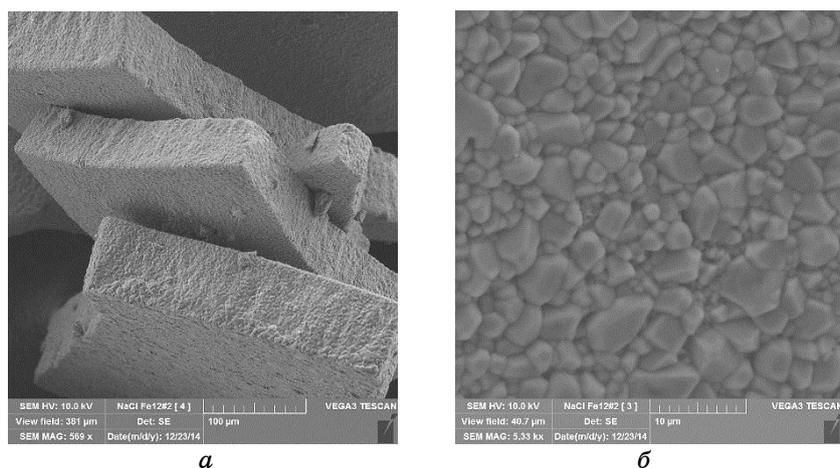


Рис. 2. 3D-изображение (а) и вид поверхности (б) исходного конденсата 29 масс.% Fe + NaCl, полученного методом EB-PVD при температуре подложки 45°C.²

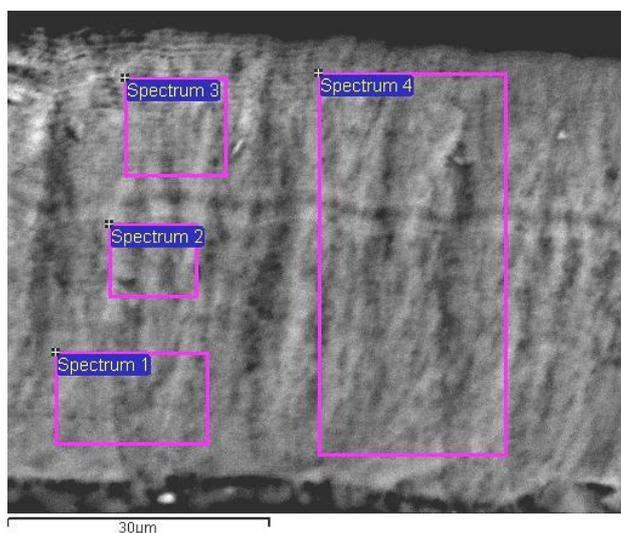


Рис. 3. Микроструктура поперечного скола исходного конденсата 29 масс.% Fe + NaCl, полученного методом EB-PVD при температуре подложки 45°C (см. табл. 1).³

Рентгенофазовый анализ (рис. 4, а) показал, что частицы железа в матрице соли находятся в законсервированном состоянии в двух состояниях: в виде α -Fe и Fe_3O_4 . При извлечении частиц из матрицы при растворении соли в воде происходит доокисление

ТАБЛИЦА 1. Элементный состав поперечного скола пористого конденсата 29 масс.% Fe + NaCl, полученного при температуре подложки 45°C (см. рис. 2).⁴

Спектр	Fe	O	Na	Cl
	масс. %			
Спектр 1	28,6	23,3	19,8	28,3
Спектр 2	29,1	20,1	19,7	31,1
Спектр 3	34,8	22,4	17,2	25,6
Спектр 4	29,0	25,0	19,4	26,6

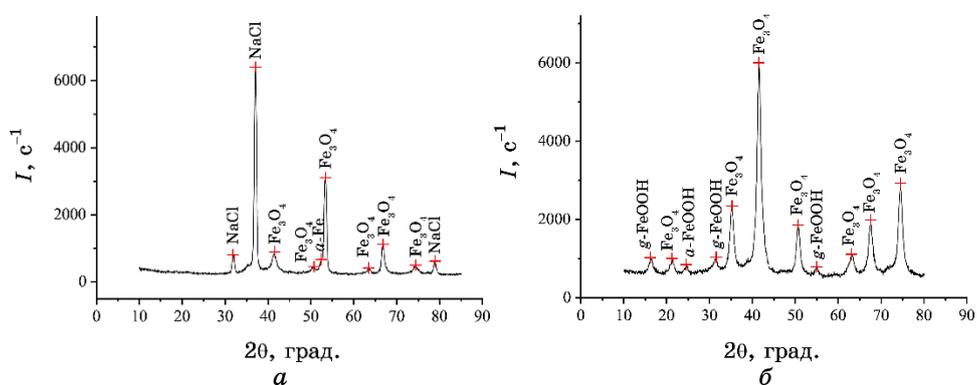


Рис. 4. Дифрактограммы образцов конденсата 29 масс.% Fe + NaCl исходного (а) и после отмывки от NaCl (б). *g*-FeOOH — γ -фаза FeOOH, *a*-FeOOH — α -фаза FeOOH.⁵

чистого железа до Fe₃O₄ (рис. 4, б; табл. 2). Перед растворением в воде и приготовлением коллоидных растворов конденсат размалывали в порошок до микронных размеров.

На рисунке 5 представлен гранулометрический анализ полученного порошка после многочасового измельчения конденсата в агатовой ступке.

Трансмиссионная электронная микроскопия тонких сколов конденсата выявила присутствие наноразмерной субстанции с преимущественным фазовым составом соответствующим магнетиту (Fe₃O₄). Следовательно, при извлечении конденсата из вакуума на воздух, кислород и влага воздуха свободно проникают и активно взаимодействуют с развитой открытой поверхностью наночастиц железа, вкрапленных в микро- и наноразмерных порах пористой структуры солевой матрицы [24]. При быстром извле-

ТАБЛИЦА 2. Фазовый состав исходного конденсата 29 масс.% Fe+NaCl и после отмытки от NaCl.⁶

Образец	Фазовый состав	Средний размер кристаллитов, нм	Содержание фазы, масс. %
Конденсат	NaCl JCPDS # 75-306	20	89
	α -Fe JCPDS #87-721	20	2
	Fe ₃ O ₄ JCPDS # 88-315	11	9
Конденсат, отмытый от NaCl	Fe ₃ O ₄ JCPDS # 88-315 Неизвестная фаза	10	100

чении конденсата из вакуума образуется оксид железа с большим выделением тепла, что подтверждается разогревом выложенного на бумагу отделённого от подложки конденсата.

Кроме этого, наночастицы оксида железа могут дополнительно адсорбировать на свою поверхность физически связанный кислород и влагу [19]. С учётом, что высокая адсорбционная способность к кислороду присуща в большей степени наночастицам малых размеров, то это может должным образом сказаться при исследовании содержания кислорода в конденсате с различным количеством железа.

Действительно, величина отношения атомарного процента кислорода к атомарному проценту железа зависит от количества железа, понижается с увеличением его содержания в конденсате и превышает это значение для стехиометрического состава Fe₃O₄, равное 1,33 (рис. 6, кривая 40°C). И только при содержании железа в конденсате около 30 ат.%, когда вероятность столкновения наночастиц в смешанном паровом потоке и при конденсации на подложке велика, что приводит к некоторому увеличению размера наночастиц, это соотношение приближается к стехиометрическому (рис. 6, кривая 40°C).

Это ещё раз указывает на высокую адсорбционную способность наночастиц малых размеров [10]. Одной из главных причин изменения физических и химических свойств малых частиц по мере уменьшения их размеров является рост относительной доли поверхностных атомов, находящихся в иных условиях (координационное число, симметрия локального окружения и т.п.), нежели атомы внутри объёмной фазы. Уменьшение размеров частицы приводит к возрастанию роли поверхностной энергии.

Но в большей степени на размер наночастиц влияет температура конденсации (рис. 7).

Исследование просвечивающей электронной микроскопией взвеси частиц, полученных растворением конденсата в воде, выявило присутствие наноразмерной субстанции (рис. 8, а, в, д).

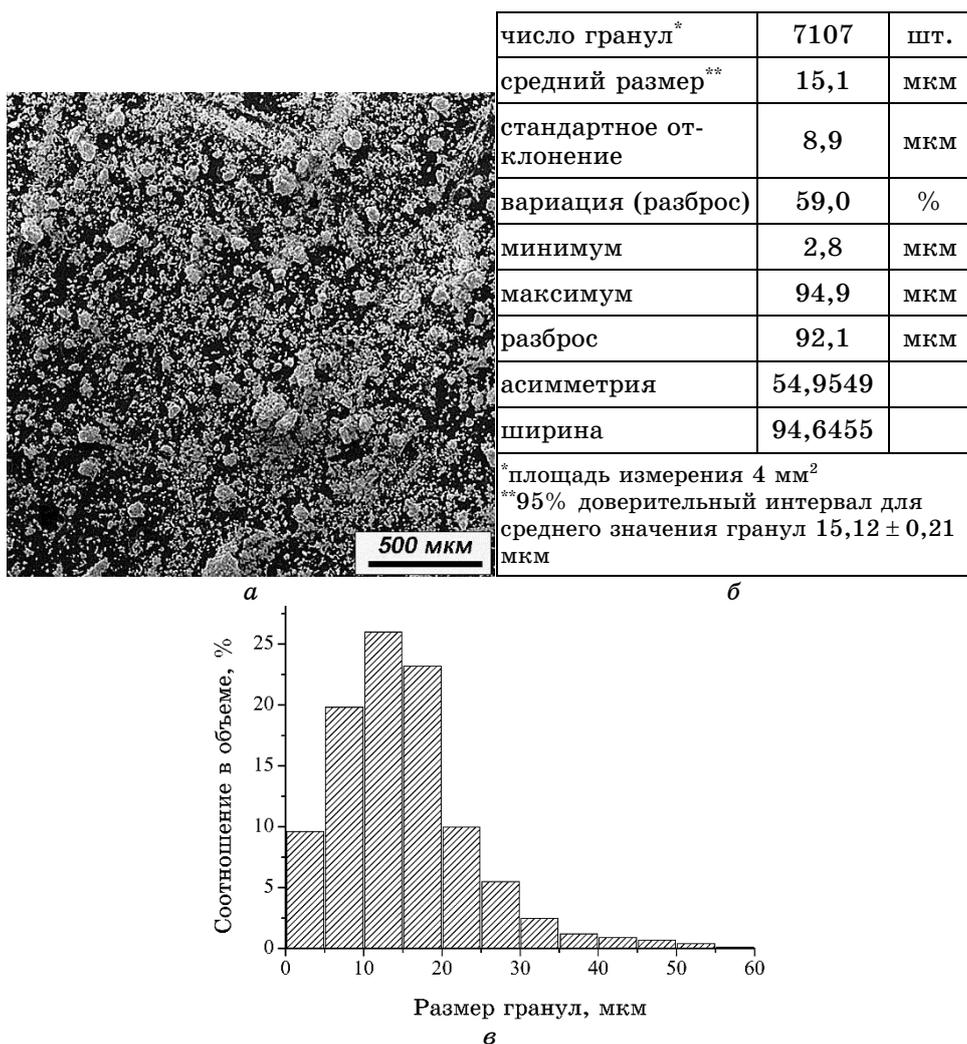


Рис. 5. Обработанная в программе Statgraphics микроструктура (*а*), гранулометрический состав (*б*) и объёмное распределение (*в*) размера частиц порошка после измельчения конденсата 29 масс.% Fe + NaCl в агатовой ступке.⁷

Средний размер частиц возрастает от 3–4 нм до 15–20 нм при увеличении температуры подложки от 20 до 200°C (рис. 7). По мере роста размера частиц дифракционные кольца становятся чёткими (рис. 8, *б*, *г*, *е*). Фазовый состав частиц соответствует Fe₃O₄.

С увеличением температуры подложки размер наночастиц возрастает, в результате чего значительно сокращается суммарная

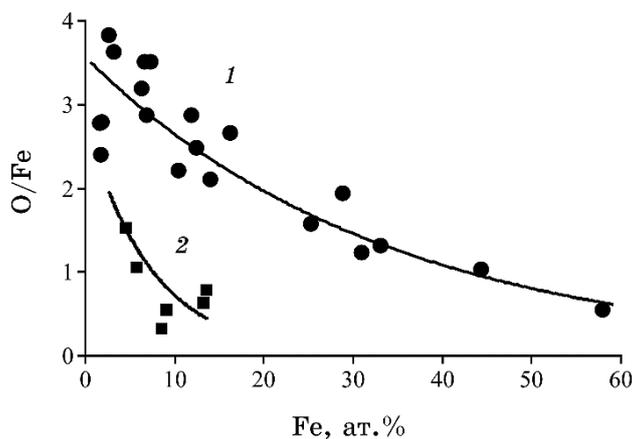


Рис. 6. Отношение O/Fe в конденсатах Fe–NaCl, полученных при 45°C (1) и 400°C (2), в зависимости от содержания Fe.⁸

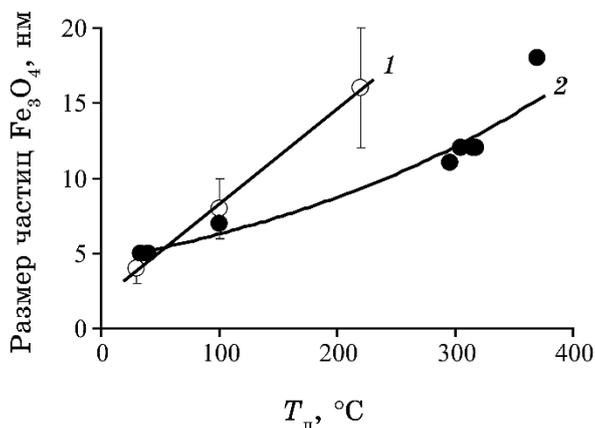


Рис. 7. Изменение среднего размера частиц Fe_3O_4 в конденсатах Fe–NaCl в зависимости от температуры подложки $T_{п}$. 1 — из ТЭМ исследований; 2 — из РФА.⁹

площадь поверхности наночастиц, что и приводит к снижению отношения атомарного процента кислорода к атомарному проценту железа в зависимости от количества железа (рис. 6, кривая 400°C).

Кинетика относительного изменения массы пористого конденсата Fe–NaCl при нагреве до температуры 650°C и охлаждении на воздухе, исследованная методом термогравиметрического анализа (TGA), позволяют более подробно рассмотреть эти сорбционные процессы.

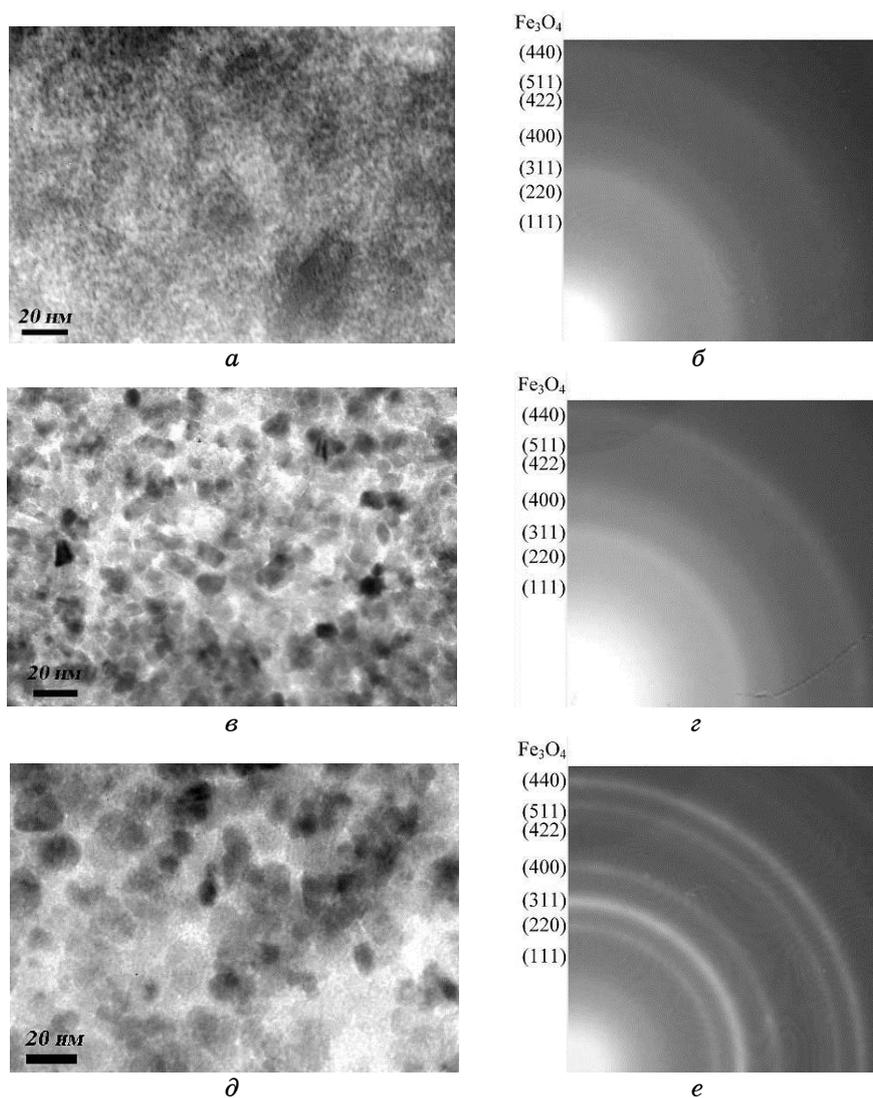


Рис. 8. Микроструктура (а), (в), (д) и рентгенограммы (б), (з), (е) наночастиц Fe_3O_4 в конденсатах Fe–NaCl в зависимости от температуры подложки $T_{\text{п}}$: (а), (б) — 30°C ; (в), (з) — 100°C ; (д), (е) — 220°C .¹⁰

С повышением температуры происходит снижение массы пористого конденсата Fe–NaCl вплоть до температуры 650°C (рис. 9, кривая 2), тогда как кинетика относительного изменения массы пористого конденсата NaCl при нагреве до температуры 650°C и охлаждении на воздухе показывает (рис. 9, кривая 1) практически отсутствие изменения массы пористого конденсата за счёт

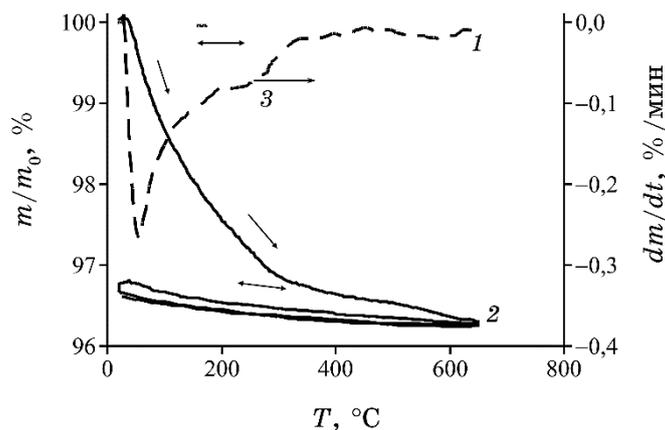


Рис. 9. Кинетика относительного изменения массы конденсатов NaCl (1) и 29 масс.% Fe+NaCl (2) с дифференциальной кривой (3) при циклическом нагреве-охлаждении на воздухе.¹¹

адсорбции влаги.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Убывание массы может быть связано с конкурентным характером адсорбции из воздуха разных газов, имеющих разное время адсорбции [41–43] и/или большой диапазон энергий связи молекул воды с поверхностью оксидов [44, 45]. Например, молекулы воды имеют время адсорбции, по меньшей мере, на порядок величины превышающее время адсорбции основных компонентов воздуха — кислорода и азота. Это означает, что проникновение молекул воды в конденсат к наноразмерным частицам запаздывает во времени относительно основных компонентов из воздуха также на порядок величины [41].

Таким образом, в первый момент соприкосновения конденсата с воздухом, кислород воздуха расходуется на образование оксида железа с большим выделением тепла. В свою очередь, наночастицы оксида железа могут дополнительно адсорбировать на свою поверхность кислород, азот и влагу. На время запаздывания молекул воды вакантные позиции на поверхности адсорбента занимают молекулы азота и кислорода, но после поступления дополнительных молекул воды они вытесняются также по причине большего времени адсорбции у воды. Так как молекулярный вес у воды почти вдвое меньше, чем у азота и кислорода, и занимаемые молекулами площади сравнимы, то при этом логично ожидать снижения общей массы адсорбатов [41].

Следовательно, на первом этапе (рис. 9), при нагреве пористого конденсата до температуры 200°C, происходит десорбция физически сорбированной воды. На кривой дифференциального термического анализа (ДТА) этому процессу соответствует наблюдаемый эндозффект с пиком при 100–120°C (рис. 8, кривая 3). Далее в диапазоне 200–650°C происходит дальнейшее изменение массы, обусловленное удалением химически связанной воды (кристаллизационной влаги) и других адсорбатов из структуры конденсата Fe–NaCl. Одновременно в диапазоне 380–650°C происходит доокисление Fe₃O₄ до Fe₂O₃ [19], за счёт оставшейся доли физически адсорбированного кислорода наночастицами Fe₃O₄.

Полученный конденсат наночастиц Fe₃O₄ растворялся в воде. Образец содержал 1 мг конденсата наночастиц в 1 мл бидистиллированной воды, был прозрачен, имел буроватый цвет, через 3–5 мин. после встряхивания образовывал осадок тёмно-

ТАБЛИЦА 3. Влияние непокрытых наночастиц магнетита (6,75 мг Fe/кг) на гематологические показатели через 3 и 72 часа после удаления крови ($M \pm m$).¹²

Показатели	Группы животных				
	интактные (<i>n</i> = 8)	кровопотеря + растворитель, 3 час. (<i>n</i> = 5)	кровопотеря + наночастицы магнетита, 3 час. (<i>n</i> = 5)	кровопотеря + растворитель, 72 час. (<i>n</i> = 5)	кровопотеря + наночастицы магнетита, 72 час. (<i>n</i> = 5)
RBC, ×10 ¹² /л	7,79 ± 0,20	6,39 ± 0,13 ¹	6,98 ± 0,12 ^{1,2}	5,71 ± 0,12 ¹	6,42 ± 0,16 ^{1,2}
Hb, г/л	136,6 ± 3,7	81,6 ± 4,1 ¹	102,4 ± 3,1 ^{1,2}	91,0 ± 1,3 ¹	105,0 ± 3,0 ^{1,2}
Hct, ед.	0,42 ± 0,02	0,32 ± 0,01 ¹	0,36 ± 0,01 ^{1,2}	0,32 ± 0,01 ¹	0,37 ± 0,01 ^{1,2}
MCV, мкм ³	54,3 ± 1,2	50,0 ± 1,0 ¹	52,8 ± 1,6	56,9 ± 0,3	57,3 ± 1,4
MCH, пг	17,55 ± 0,51	12,88 ± 0,46 ¹	14,80 ± 0,46 ^{1,2}	15,84 ± 0,23 ¹	16,30 ± 0,30
MCHC, г/дл	324,1 ± 8,8	255,4 ± 4,41 ¹	281,4 ± 7,1 ¹	281,6 ± 3,5 ¹	285,8 ± 2,2 ¹
RDW, %	11,08 ± 0,35	11,06 ± 0,52	10,56 ± 0,32	10,46 ± 0,13	10,88 ± 0,69
Rt, %о	62,3 ± 5,9	42,2 ± 3,9 ¹	82,2 ± 6,2 ^{1,2}	107,0 ± 2,0 ¹	139,8 ± 7,4 ^{1,2}

Примечания: ¹ $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными (контроль); ² $p < 0,05$ по сравнению с кровопотерей с введением растворителя (контрольная патология); *n* — количество животных в группе.

коричневого цвета. При исследовании распределения частиц по размерам в полимодальном приближении в образце определялось две фракции. Первая была образована частицами размерами 13–120 нм с максимумом 23 нм. Их количество составило 99,9%, а массовая доля равнялась 46%. Вторая фракция содержала частицы размером от 209 до 3300 нм с максимумом 209 нм. При этом количество таких частиц составляла 0,1%, а массовая доля — 54%. Итак, водная дисперсия наночастиц магнетита после приготовления содержала наноразмерные частицы в подавляющем числе и могла быть введена лабораторным животным как наножидкость.

При исследовании биологической активности исследуемых наночастиц и моделировании острой кровопотери контрольной патологии через 3 час. после удаления крови RBC снижалась в 1,2 раза ($p < 0,001$) по сравнению с интактными животными (табл. 3). Hb также уменьшался в 1,7 раза ($p < 0,001$), а Hct снижался в 1,3 раза ($p < 0,001$). Эти сдвиги сопровождались вероятным уменьшением среднего объема эритроцитов (индекс MCV) ($p < 0,05$). Индексы MCH и MCHC, характеризующие насыщение эритроцитов гемоглобином, снижались в 1,4 и 1,3 раза соответственно ($p < 0,001$) по сравнению с интактным контролем. Изменений RDW не происходило.

Применение наночастиц магнетита повышало RBC через 3 часа после кровопотери на 9% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной патологией (см. табл. 3). Уровень Hb также рос на 25% ($p < 0,005$), а Hct — на 13% ($p < 0,05$) по сравнению с таковыми без введения наночастиц. Эти изменения происходили на фоне возможного роста эритроцитарного индекса MCH ($p < 0,05$) и тенденции к росту MCHC ($p < 0,1$) при отсутствии существенных изменений MCV и RDW.

Через 72 часа после удаления крови у животных без фармакокоррекции сохранялись существенные гематологические сдвиги, а именно: уменьшение RBC в 1,4 раза ($p < 0,001$), Hb — в 1,5 раза ($p < 0,001$), Hct — в 1,3 раза ($p < 0,001$) по сравнению с интактными животными (см. табл. 3), что было подобно состоянию этих показателей в предыдущем сроке наблюдения. Отмечалось снижение MCH ($p < 0,02$) и MCHC ($p < 0,005$) при отсутствии изменений других индексов.

Корректирующее воздействие наночастиц в этом сроке наблюдений проявлялось увеличением RBC на 12% ($p < 0,02$), Hb ($p < 0,02$) и Hct ($p < 0,05$) — на 15% по сравнению с аналогичными показателями при кровопотере без введения НЧМ (см. табл. 3), хотя указанные параметры оставались достоверно ниже, чем в интактных животных. При этом все эритроцитарные индексы были такими же, как и при кровопотере без коррекции.

О регенераторной активности костного мозга судили по количеству Rt в крови (см. табл. 3). Интактные крысы имели содержание Rt $62,3 \pm 5,9\%$. Через 3 час. после кровопотери этот показатель был достоверно ниже такового в интактных животных ($p < 0,02$), что может объясняться как потерей этих клеток с удалённой кровью, так и ускоренным переходом циркулирующих ретикулоцитов в зрелые эритроциты в условиях напряжённого эритропоэза, спровоцированного кровопотерей. Через 72 часа после удаления крови количество Rt росла в 1,7 раза ($p < 0,001$) по сравнению с показателями интактных животных в начале эксперимента, что является закономерным для компенсации кровопотери.

После введения наночастиц магнетита в сроке 3 часов от изъятия крови содержание Rt рос и был в 1,9 раза ($p < 0,001$) больше такой в группе с контрольной патологией (см. табл. 3). Через 72 часа содержимое Rt у животных с введением наночастиц также достоверно превышал контрольную патологию ($p < 0,002$).

Наличие протективного эффекта уже через 3 часа после введения водной дисперсии наночастиц магнетита может свидетельствовать о том, что эти нестабилизированные наночастицы быстро распределяются в организме, захватываются клетками ретикулоэндотелиальной системы и включаются в эритропоэз. Это не противоречит известным данным о фармакокинетики наночастиц магнетита другого происхождения [31, 46].

Нужно отметить, что антианемическое действие наночастиц магнетита сохраняется и в следующем сроке наблюдений, когда на фоне введённой дозы наночастиц гематологические показатели выше, чем аналогичные параметры при кровопотере без фармакологической коррекции. При этом интенсивнее патологический фон рост содержания ретикулоцитов, очевидно, свидетельствует в пользу того, что использованные наночастицы магнетита обеспечивают восстановление ключевых параметров «красной» крови именно за счёт активации регенераторной реакции эритрона.

5. ВЫВОДЫ

1. Осуществлён физический синтез наночастиц железа из паровой фазы с использованием метода EB-PVD. При быстром извлечении из вакуума наночастицы железа окисляются на воздухе до магнетита. В исходном состоянии они обладают значительной сорбционной способностью по отношению к кислороду и влаге. При дальнейшем нагреве на воздухе происходит снижение массы пористого конденсата вплоть до температуры 650°C за счёт десорбции физически сорбированной влаги. Физически адсорбированный кислород участвует в доокислении Fe_3O_4 до Fe_2O_3 в диапазоне

380–650°C. Увеличение температуры конденсации сопровождается ростом размера наночастиц, в результате чего значительно сокращается суммарная площадь поверхности наночастиц, а, следовательно, и их сорбционная способность.

2. Итак, наночастицы магнетита, осаждённые в кристаллы хлорида натрия путём электронно-лучевой технологии в вакууме, диспергированные в воде и использованные для коррекции острой постгеморрагической анемии в дозе 6,75 мг Fe/кг, производили протекторное действие на RBC, Hct и Hb, что регистрировалось в разные сроки восстановительного периода. Они активировали регенераторную реакцию костного мозга, что проявлялось ростом числа ретикулоцитов в крови. Это значит, что даже без стабилизации исследуемые наночастицы в виде водной дисперсии, изготовленной *ex tempore*, имеют характерное противоанемическое действие, которое может быть использовано в медицине.

Работа выполнена за счёт средств бюджетной программы Украины «Поддержка развития приоритетных направлений научных исследований» (КПКРК 6541230).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА—REFERENCES

1. M. A. Willard, L. K. Kurihara, E. E. Carpenter, S. Calvin, and V. G. Harris, *International Materials Reviews*, **49**: 125 (2004); <https://doi.org/10.1179/095066004225021882>.
2. J. A. Schwarz, C. I. Contescu, and K. Putyera, *Dekker Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology* (Ed. S. E. Lyshevski) (CRC Press: 2014), vol. 3; <https://www.amazon.com/Dekker-Encyclopedia-Nanoscience-Nanotechnology-3/dp/0824750497>.
3. R. A. Revia and M. Zhang, *Materials Today*, **19**, No. 3: 157 (2016); <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.mattod.2015.08.022>.
4. V. I. Nikolaev, A. M. Shipilin and I. N. Zakharova, *Physics of the Solid State*, **43**: 1515 (2001); <https://doi.org/10.1134/1.1395093>.
5. C. V. Thach, N. H. Hai, and N. Chau, *Journal of the Korean Phys. Soc.*, **52**: 1332 (2008); <https://doi.org/10.3938/jkps.52.1332>.
6. A. P. Shpak and P. P. Gorbyk, *Nanomaterials and Supramolecular Structures: Physics, Chemistry, and Applications* (Dordrecht–London–New York: Springer: 2009); <http://www.springer.com/gp/book/9789048123087>.
7. L. Kopanja, S. Kralj, D. Zunic, B. Loncar and M. Tadić, *Ceramics International*, **42**: 10976 (2016); <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.03.235>.
8. M. Tadić, S. Kralj, M. Jagodic, D. Hanzel, and D. Makovec, *Applied Surface Science*, **322**: 255 (2014); <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2014.09.181>.
9. W. C. Elmore, *Phys. Rev.*, **54**: 309 (1938); <https://doi.org/10.1103/PhysRev.54.309>.
10. K. Klabunde and G. B. Sergeev, *Nanochemistry* (Elsevier: 2013), p. 372; <https://www.elsevier.com/books/nanochemistry/klabunde/978-0-444-59397-9>.

11. B. L. Cushing, V. L. Kolesnichenko, and C. J. O'Connor, *Chem. Rev.*, **104**: 3893 (2004); <https://doi.org/10.1021/cr030027b>.
12. C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, and M. A. El-Sayed, *Chem. Rev.*, **105**, No. 4: 1025 (2005); <https://doi.org/10.1021/cr030063a>.
13. L. Kopanja, I. Milošević, M. Panjan, V. Damnjanovic, and M. Tadić, *Applied Surface Science*, **362**, 380 (2016); <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2015.11.238>.
14. M. Tadić, V. Kusigerski, D. Marković, M. Panjan, I. Milošević, and V. Spasojević, *Journal of Alloys and Compounds*, **525**: 28 (2012); <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2012.02.056>.
15. I. M. L. Billas, A. Chatelain, and W. A. de Heer, *J. Magn. Magn. Mater.*, **168**, Nos. 1–2: 64 (1997); [https://doi.org/10.1016/S0304-8853\(96\)00694-4](https://doi.org/10.1016/S0304-8853(96)00694-4).
16. I. M. L. Billas, A. Chatelain, and W. A. de Heer, *Surface Review and Letters*, **3**, No. 1: 429 (1996); <https://doi.org/10.1142/S0218625X96000772>.
17. S. P. Gubin, Yu. A. Koksharov, G. B. Khomutov, and G. Yu. Yurkov, *Russ. Chem. Rev.*, **74**, No. 6: 489 (2005); <https://doi.org/10.1070/RC2005v074n06ABEH000897>.
18. A. G. Roca, R. Costo, A. F. Rebolledo, S. Veintemillas-Verdaguer, P. Tartaj, T. Gonzales-Carrenno, M. P. Morales, and C. J. Serna, *Journal of Physics D: Applied Physics*, **42**, No. 22: 224002 (2009); <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/42/22/224002>.
19. B. A. Movchan, Yu. A. Kurapov, G. G. Didikin, S. G. Litvin, S. M. Romanenko, *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, **50**, Nos. 3–4: 167 (2011); <http://dx.doi.org/10.1007/s11106-011-9314-0>.
20. Yu. A. Kurapov, L. A. Krushinskaya, S. E. Litvin, S. M. Romanenko, Ya. A. Stelmakh, and V. Ya. Markiev, *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, **53**, Nos. 3–4: 199 (2014); <http://dx.doi.org/10.1007/s11106-014-9604-4>.
21. Yu. A. Kurapov, S. E. Litvin, and S. M. Romanenko, *Nanostructured Materials Science*, **1**: 55 (2013); http://www.materials.kiev.ua/science/edition_view.jsp?id=2.
22. Yu. A. Kurapov, S. E. Litvin, G. G. Didikin, and S. M. Romanenko, *Advances in Electrometallurgy*, **9**, No. 2: 82 (2011); <https://patonpublishinghouse.com/eng/journals/sem/2011/02/05>.
23. Yu. A. Kurapov, S. E. Litvin, S. M. Romanenko, G. G. Didikin, and E. I. Oranskaya, *Materials Research Express*, **4**, No. 3: 035031 (2017); <https://doi.org/10.1088/2053-1591/4/3/035031>.
24. I. S. Kovinsky, L. A. Krushinskaya, and B. A. Movchan, *Advances in Electrometallurgy*, **9**, No. 1: 42 (2011); <https://patonpublishinghouse.com/eng/journals/sem/2011/01/08>.
25. I. S. Chekman, Z. R. Ul'berh, V. O. Malanchuk, N. O. Horchakova, and I. A. Zupanets', *Nanoscience, Nanobiology, Nanofarmation* (Kyiv: Polihraf Plyus: 2012), p. 328; <https://www.twirpx.com/file/1157774/>.
26. S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, and R. N. Muller, *Chem. Rev.*, **108**, No. 6: 2064 (2008); <http://dx.doi.org/10.1021/cr068445e>.
27. P. B. Santhosh and N. P. Ulrih, *Cancer Lett.*, **336**, No. 1: 8 (2013); <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2013.04.032>.
28. R. Jin, B. Lin, D. Li, and H. Ai, *Curr. Opin. Pharmacol.*, **18**: 18 (2014); <https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.08.002>.

29. Y. X. J. Wang, *Quant. Imaging Med. Surg.*, **1**, No. 1: 35 (2011); <https://dx.doi.org/10.3978%2Fj.issn.2223-4292.2011.08.03>.
30. M. H. Rosner and M. Auerbach, *Expert Rev. Hematol.*, **4**, No. 4: 399 (2011); <https://doi.org/10.1586/ehm.11.31>.
31. F. Roohi, J. Lohrke, A. Ide, G. Schutz, and K. Dassler, *Int. J. Nanomedicine*, **7**: 4447 (2012); <https://dx.doi.org/10.2147%2FIJN.S33120>.
32. F. Ni, L. Jiang, R. Yang, Z. Chen, X. Qi, and J. Wang, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **12**, No. 3: 2094 (2012); <https://doi.org/10.1166/jnn.2012.5753>.
33. K. C. Briley-Saebo, L. O. Johansson, S. O. Hustvedt, A. G. Haldorsen, A. Bjørnerud, Z. A. Fayad, and H. K. Ahlstrom, *Invest. Radiol.*, **41**, No. 7: 560 (2006); <https://doi.org/10.1097/01.rli.0000221321.90261.09>.
34. B. Ye. Paton, B. O. Movchan, Yu. A. Kurapov, and K. Yu. Yakovchuk, U.A. Pat. # 92556 from 10.11.2010, Bull. # 21/2010 (2010) (in Ukrainian); <http://base.ukrpatent.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=151646>.
35. A. D. Lebedev, Y. N. Levchuk, A. V. Lomakin, and V. A. Noskin, *Laser Correlation Spectroscopy in Biology* (Kiev: Naukova Dumka: 1987); <https://search.rsl.ru/ru/record/01001388286>.
36. H. G. Merkus, *Particle Size Measurements. Fundamentals, Practice, Quality*, (Springer: 2009); <http://www.springer.com/gp/book/9781402090158>.
37. *Doklinichni Doslidzhennya Likarskykh Zasobiv: Metodychni Rekomendatsii* (Ed. O. V. Stefanov) (Kyiv: Avitsena: 2001); *Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації* (Ред. О. В. Стефанов) (Київ: Авіцена: 2001); <https://www.twirpx.com/file/537410/>.
38. V. S. Antonov, N. V. Bogomolova, and A. S. Volkov, *Avtomatizatsiya Gematologicheskogo Analiza: Spravochnik Zaveduyushchego Kliniko-Diagnosticheskoy Laboratoriei* (2010); В. С. Антонов, Н. В. Богомолова и А. С. Волков, *Автоматизация гематологического анализа: Справочник заведующего клинико-диагностической лабораторией* (2010); <http://www.mefr.ru/journals/41/256/17837/21349>.
39. V. S. Kamyshnikov, O. A. Volotovskaya, and A. B. Khodyukova, *Metody Klinicheskikh Laboratornykh Issledovaniy* (Ed. V. S. Kamyshnikov) (Moscow: MEDpress-inform: 2013); В. С. Камышников, О. А. Вологовская, А. Б. Ходюкова, *Методы клинических лабораторных исследований* (Ред. В. С. Камышников) (Москва: МЕДпресс-информ: (2013); <http://www.medpress.ru/upload/iblock/7c7/7c74480a0c810516688f16c98f54ab0a.pdf>.
40. B. A. Movchan and A. V. Demchishin, *Fizika Metallov i Metallovedenie*, **28**, No. 4: 653 (1969); Б. А. Мовчан, А. В. Демчишин, *Физика металлов и металловедение*, **28**, № 4: 653 (1969); http://impo.imp.uran.ru/fmm/Electron/vol28_4/abstract10.pdf.
41. A. S. Kaygorodov, V. V. Ivanov, S. N. Pararin, and A. A. Nozdrin, *Nanotechnologies in Russia*, **2**: 112 (2007) (in Russian); <http://pleiades.online/ru/journals/search/?name=nanotech>
42. J. H. de Boer, *The Dynamic Character of Adsorption* (London: Oxford University Press: 1968); https://books.google.com.ua/books?id=e8N4AAAAIAAJ&hl=ru&source=gbs_book_other_versions.
43. E. Leibnitz und H. G. Struppe, *Handbuch der Gaschromatographie* (Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft Geest&Porting K.-G.: 1984);

- <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/food.19850290727/abstract>.
44. C. T. Nelson, J. W. Elam, M. A. Cameron, M. A. Tolbert, and S. M. George, *Surface Science*, **416**: 341 (1998); [https://doi.org/10.1016/S0039-6028\(98\)00439-7](https://doi.org/10.1016/S0039-6028(98)00439-7).
45. Lj. Kundacovic, D. R. Mullins, and S. H. Overbury, *Surface Science*, **457**: 51 (2000); [https://doi.org/10.1016/S0039-6028\(00\)00332-0](https://doi.org/10.1016/S0039-6028(00)00332-0).
46. K. Lind, M. Kresse, N. P. Debus, and R. H. Muller, *J. Drug Target.*, **10**, No 3: 221 (2002); <https://doi.org/10.1080/10611860290022651>.

¹*E. O. Paton Electric Welding Institute, N.A.S. of Ukraine,
11, Kazimir Malevich Str.,
UA-03150 Kyiv, Ukraine*

²*Ukrainian Medical Stomatological Academy,
23, Shevchenko Str.,
UA-36011 Poltava, Ukraine*

³*O. O. Chuiko Institute of Surface Chemistry, N.A.S. of Ukraine,
17, General Naumov Str.,
UA-03164 Kyiv, Ukraine*

¹ Fig. 1. Scheme of electron beam evaporation and condensation in vacuum from two independent sources onto a fixed water-cooled copper substrate during the synthesis of Fe (Fe₃O₄) nanoparticles in a porous NaCl matrix.

² Fig. 2. 3D image (a) and surface view (b) of the initial condensate 29 wt.% Fe + NaCl obtained by EB-PVD at a substrate temperature of 45°C.

³ Fig. 3. The microstructure of the transverse cleavage of the initial condensate 29 wt.% Fe + NaCl obtained by EB-PVD at a substrate temperature of 45°C (see Table 1).

⁴ TABLE 1. The elemental composition of the transverse cleavage of porous condensate 29 wt.% Fe + NaCl obtained at a substrate temperature of 45°C (see Fig. 2).

⁵ Fig. 4. Diffraction patterns of condensate samples 29 wt.% Fe + NaCl source (a) and after washing from NaCl (b). *g*-FeOOH—*γ*-phase FeOOH, *a*-FeOOH—*α*-phase FeOOH.

⁶ Table 2. The phase composition of the starting condensate 29 wt.% Fe + NaCl and after washing from NaCl.

⁷ Fig. 5. The microstructure processed in the Statgraphics program (a), the particle size distribution (b), and the volume distribution (c) of the powder particle size after grinding the condensate 29 wt.% Fe + NaCl in agate mortar.

⁸ Fig. 6. O/Fe ratio in Fe–NaCl condensates obtained at 45°C (1) and 400°C (2), depending on the Fe content.

⁹ Fig. 7. Change in the average particle size of Fe₃O₄ in Fe–NaCl condensates depending on the substrate temperature T_n . 1 — from TEM studies; 2 — from XRF.

¹⁰ Fig. 8. Microstructure (a), (c), (d) and X-ray diffraction patterns (b), (e), (f) of Fe₃O₄ nanoparticles in Fe–NaCl condensates depending on the substrate temperature T_n : (a), (b) — 30°C, (c), (d) — 100°C, (d), (e) — 220°C.

¹¹ Fig. 9. Kinetics of the relative change in the mass of NaCl (1) condensates and 29 wt.% Fe + NaCl (2) with a differential curve (3) during cyclic heating/cooling in air.

¹² TABLE 3. The effect of uncoated magnetite nanoparticles (6.75 mg Fe/kg) on haematological parameters 3 and 72 hours after blood removal ($M \pm m$).