



Aspectos físicos e biológicos de nanopartículas de ferritas magnéticas

Verusca Cristina Pizzatto Fontanive^{1,*}; Najeh Maissar Khalil²; Luiz Fernando Cotica³; Rubiana Mara Mainardes⁴

¹FADEP – Faculdade de Pato Branco.

²Universidade Estadual do Centro-Oeste.

³Universidade Estadual de Maringá.

⁴Universidade Estadual do Centro-Oeste-Unicentro, Department of Pharmacy, Guarapuava, PR, Brazil

RESUMO

Nanopartículas de óxidos magnéticos são compostas principalmente de Fe_3O_4 (magnetita) e Fe_2O_3 (maghemita). Também são muito utilizadas as de CoFe_2O_4 (ferrita de cobalto), NiFe_2O_4 (ferrita de níquel), entre outras. As nanopartículas de ferrita apresentam diversas aplicações na área biomédica, entre as quais a liberação controlada de fármacos, agentes de contraste para imagem de ressonância nuclear magnética, transportadores de fármacos guiados por campo magnético, tratamento de tumores via hipertermia, separação biomolecular magnética e diagnóstico. Para que as nanopartículas possam ser utilizadas devem possuir características magnéticas adequadas além de controle no tamanho e composição da superfície. Nesta revisão foi descrito um novo método de síntese e caracterização de nanopartículas de óxidos magnéticos os quais podem ser usados em aplicações biomédicas.

Palavras-chave: Nanopartículas magnéticas. Propriedades físicas. Aplicações biomédicas.

INTRODUÇÃO

A pesquisa na área farmacêutica apresenta um amplo leque de possibilidades, dentre estas possibilidades tem se destacado a habilidade de melhorar as características dos fármacos, especialmente através da busca de dispositivos ou formas farmacêuticas inovadoras, visando a ação mais específica e duradoura, contribuindo para a redução da toxicidade. Várias tecnologias são empregadas para controlar a liberação, prolongar o efeito do fármaco e, dessa forma, contribuir para a qualidade de vida das pessoas que necessitam fazer uso contínuo de fármacos.

Inserida no conjunto de inovações e possibilidades, a nanotecnologia é uma importante ferramenta para esse segmento. As estruturas nanométricas apresentam diversas vantagens farmacocinéticas e farmacodinâmicas, tornando-as eficientes sistemas de liberação controlada de fármacos. As nanopartículas (NPs) magnéticas, compostas por diferentes tipos de materiais, são muito promissoras para essa finalidade. Por serem biocompatíveis, além dos benefícios acima citados, possibilitam a incorporação de fármacos que poderão ser direcionados ao seu local de ação, por ação de um campo magnético. As NPs, magnéticas devido suas características físicas e químicas, são importantes carreadores que podem contribuir com a redução da dose do fármaco, direcionando este para seu local de ação, evitando que venha a atuar em outros órgãos ou tecidos, reduzindo assim os efeitos colaterais, menor risco de toxicidade, menor tempo de circulação no organismo, com controle adequado da dose, local de ação e tempo de eliminação.

Nanotecnologia

A nanotecnologia já apresenta 50 anos de história. Em 1969, o físico Richard Feynman proferiu uma palestra em que antecipou conceitos que hoje fazem parte da atividade experimental em nanotecnologia. Sua evolução, junto com a bioquímica, veio como uma nova ferramenta para auxiliar na visualização e detecção de reações biológicas nos organismos vivos em escala nanométrica (Vo-Dinh, 2007).

Os nanomateriais diferem significativamente de outros materiais por dois fatores principais: o aumento da área de superfície e os efeitos quânticos. Sendo assim, podem ter propriedades como reatividade, características elétricas e comportamentos *in vivo* modificados (Thassu *et al.*, 2007). As propriedades dependentes do tamanho e a proximidade das dimensões de macromoléculas biológicas levaram a uma aproximação entre nanotecnologia e biologia, trazendo grandes avanços em diagnósticos médicos, terapias específicas, bem como para biologia molecular e celular. A combinação de nanotecnologia molecular e biologia possibilitam a geração de novos dispositivos capazes de analisar as estruturas celulares a nível molecular de processos até então impossíveis de investigação (Vo-Dinh, 2007).

A faixa de tamanho dessas partículas, que possuem maior interesse no campo da biologia e da medicina, está entre alguns poucos nanômetros até algumas centenas de nanômetros, materiais que, neste intervalo, possuem diferentes propriedades. A área da superfície aumenta drasticamente, o que irá apresentar um novo produto químico com propriedades físicas melhoradas em comparação ao mesmo material em tamanho maior (Thassu *et al.*, 2007; Vo-Dinh, 2007).

Nanopartículas magnéticas

As nanopartículas de óxidos magnéticos são compostas normalmente por magnetita (Fe_3O_4), maghemita (Fe_2O_3), ferrita de cobalto (CoFe_2O_4), ferrita de níquel (NiFe_2O_4) e demais óxidos (Yang *et al.*, 2006). Na última década, nanoestruturas superparamagnéticas de ferritas, como as de cobalto, atraíram intenso interesse científico e tecnológico por possuírem vasta aplicação na área da saúde pela possibilidade de manipulação química de algumas de suas propriedades, como composição, tamanho, formato e comportamento magnético em nível atômico (Yuan *et al.*, 2010).

A primeira vantagem do uso das NPs de óxidos magnéticos para aplicações biomédicas reside no fato de se conseguir um controle do tamanho destas estruturas desde poucos nanômetros até centenas de nanômetros, o que as coloca em dimensões menores que as células ou em tamanhos comparáveis à vírus, proteínas ou genes (Figura 1). Isso significa que as nanopartículas são capazes de interagir com a entidade biológica de interesse. O tamanho da partícula influencia nas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas. Partículas maiores são usadas como agente de contraste para ressonância magnética do trato gastrointestinal, enquanto partículas menores (20 nm) são úteis como carreadores de fármacos para tratamento de tumores (Vo-Dinh, 2007). As NPs de óxidos magnéticos possuem excelente estabilidade química e física, controle preciso sobre composição e estrutura, sendo o sucesso de sua aplicação prática dependente dessas propriedades (Guglielmo *et al.*, 2010; Mattei *et al.*, 2009; Vendrame *et al.*, 2012).

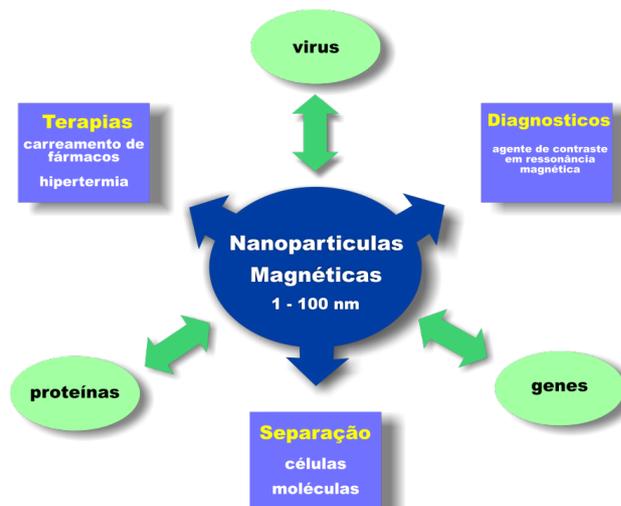


Figura 1 – Esquema demonstrando as interações entre nanopartículas e agentes biológicos (verde) e suas possíveis aplicações biomédicas.

A segunda vantagem é que essas partículas são magnéticas, ou seja, são capazes de responder à um gradiente externo de campo magnético. Como os tecidos humanos apresentam penetrabilidade ao campo magnético, estas NPs podem ser transportadas para tecidos de interesse, como tumores, por exemplo e apresentar ação específica. Na maioria dos casos, as partículas superparamagnéticas (geralmente $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ e Fe_3O_4), não retém qualquer magnetização remanescente, após remoção do campo magnético, sendo assim de interesse para as aplicações *in vivo* (Berry and Curtis, 2003). Esse fato é muito importante, pois partículas paramagnéticas se agregam após a exposição a um campo magnético e assim tornam-se maiores e podem provocar problemas como embolias (Wang *et al.*, 2001).

Com o objetivo do seu uso *in vivo*, o principal obstáculo é fazer com que as NPs alcancem um local particular no organismo. Como mencionado previamente, um dos benefícios da utilização de NPs magnéticas é o uso de gradientes de campo magnético localizados para atrair as partículas para um determinado local escolhido, onde as mesmas permanecem o tempo da terapia e, em seguida, podem ser removidas. Porém, isso envolve o desenvolvimento de sistemas avançados para gerarem esses campos (Berry and Curtis, 2003). Como uma alternativa aos campos magnéticos, pode-se explorar algumas propriedades das NPs, como o tamanho e a superfície, a fim de se conseguir um direcionamento tecidual.

Assim, a vetorização de NPs pode ser passiva ou ativa. Na vetorização passiva, as NPs não apresentam modificação superficial e a vetorização ocorre naturalmente devido ao diâmetro reduzido e morfologia esférica, que proporcionam melhor permeabilidade às membranas biológicas (Jain & Kumar, 2010). Já a vetorização ativa é possível através da modificação estrutural da superfície das NPs. A modificação pode ocorrer com o intuito de minimizar a rápida identificação e remoção da circulação pelo sistema fagocitário mononuclear (SFM),

promovendo tempo de circulação sanguínea prolongada e contribuindo para o aumento da biodistribuição do fármaco carregado, bem como a inserção de proteínas ou anticorpos direcionados para receptores ou antígenos presentes em tecidos específicos (Owens & Peppas, 2006).

De forma geral, as partículas que têm uma superfície hidrofóbica, são eficientemente opsonizadas por proteínas plasmáticas e deste modo rapidamente removidas da circulação, enquanto que as partículas que são mais hidrófilas podem resistir à opsonização, e são eliminadas mais lentamente (Gaur *et al*, 2000). Isto tem sido utilizado como uma estratégia para obter partículas capazes de vencer o SFM através da estabilização estérica das NPs através uma camada de cadeias de polímero hidrofílico (Allemann *et al*, 1993). Na literatura, os revestimentos mais comuns são os derivados de dextrano, polietilenoglicol (PEG) e óxido de polietileno (PEO), poloxamers e poloxaminas (Lacava *et al*, 2001). O papel dessa modificação é a de inibir a opsonização, permitindo assim tempos de circulação mais longos (Portlet *et al*, 2001).

Ainda, a superfície destas partículas pode ser modificada através da criação de algumas camadas atômicas compostas por polímeros orgânico (como o ácido polilático) ou inorgânico metálico (como o ouro) ou superfícies de óxidos (por exemplo, sílica ou alumina), adequadas para posterior funcionalização pela ligação de várias moléculas bioativas, como biotina, avidina, grupos carboxila, carbodiimida, anticorpos, hormônios, ácido fólico, entre outras. Além da modificação superficial promover a interação mais específica da partícula com o tecido, célula ou molécula, a cobertura superficial também contribui para o aumento da estabilidade coloidal do fluido magnético (Berry & Curtis, 2003).

De forma geral pode-se afirmar que a efetividade das NPs depende da alta susceptibilidade magnética, do tamanho das partículas (que devem ter uma faixa estreita - monodispersas), do comportamento superparamagnético e de que a superfície apresente modificação química adequada para aplicações biomédicas específicas (Gupta & Gupta, 2005).

As NPs convencionais como as de óxido de ferro demonstram sucesso em aplicações biomédicas, tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Figura 1). Porém existem limitações que incluem baixo momento magnético, baixa sensibilidade no diagnóstico por ressonância magnética nuclear e baixa capacidade de carregamento. A fim de superar essas limitações, novas formas de NPs magnéticas com alto momento magnético, multifuncionalidade e alta carga de droga foram desenvolvidas. O trabalho de Xu e Sun (2013) sumariza as novas formas de NPs superparamagnéticas para aplicações biomédicas.

Métodos de síntese de nanopartículas magnéticas

Dois tipos de processos podem ser utilizados na produção de NPs, o *top-down* e o *bottom-up*. O *top-down* envolve a redução de materiais de tamanho maior para micro e nanoescala, partindo da macroescala, reduzindo

todas as partículas numa escala tridimensional. A principal técnica envolvida neste tipo processamento é a moagem em altas energias (de Santanna, 2008; Cotica, 2004). Os principais processos *bottom-up* utilizados para fabricação de nanomateriais são processos sol-gel, deposição química a vapor, pirólise a laser, condensação molecular, processo hidrotermal e outras técnicas desenvolvidas recentemente. Estas técnicas constroem a nanoestrutura átomo por átomo, molécula por molécula (Thassu *et al*, 2007; Vo-Dinh, 2007).

A aplicação de NPs magnéticas é fortemente influenciada pelas suas propriedades magnéticas. Para seu uso biomédico, estas devem possuir uma faixa estreita de distribuição de tamanho, um alto valor de magnetização, além de forma esférica uniforme e comportamento superparamagnético em temperatura ambiente (Cabuil *et al*, 2011; Li *et al*, 2010). O sucesso da aplicação prática depende da capacidade de controle dessas características, fortemente afetadas pelo processo de síntese (Mattei *et al*, 2009; Vicente *et al*, 2002).

A maior dificuldade nos métodos tradicionais de síntese é a aglomeração dessas partículas e, na maioria dos casos, a dificuldade do controle do tamanho e forma, o que restringe muito sua aplicação (Kashevsky *et al*, 2008; Li *et al*, 2010). Com o intuito de resolução desse problema, a decomposição termal de precursores organometálicos em soluções orgânicas com altas temperaturas tem sido explorada na preparação de nanopartícula (NP) monodispersa de ferrita com controle de tamanho e forma. A maior desvantagem é que o método necessita de reagentes tóxicos e caros, alta temperatura de reação e uma operação complexa (Li *et al*, 2010).

Em nossos trabalhos, utilizamos um método de síntese que se baseia na decomposição térmica de uma solução de etileno glicol e nitratos dos íons de interesse (Vendrame, 2012). Para isso são misturadas quantidades adequadas de etileno glicol e nitrato (Figura 2) via agitador magnético. O é realizado sob aquecimento até mudar o aspecto líquido da mistura para um aspecto viscoso. O produto obtido é então colocado em um forno resistivo para calcinação (Figura 2). Após o resfriamento natural do composto, este é pulverizado para desaglomeração e posteriores testes físicos e biológicos. Esta técnica para síntese de NPs, que pode ser utilizada para a síntese de várias ferritas, é simples de ser executada, possui boa reprodutibilidade, baixo custo e estabilidade de NPs formadas, conforme demonstrado no trabalho de Vendrame e colaboradores (Vendrame, 2012).

Caracterização de nanopartículas magnéticas

O tamanho nanométrico é uma característica das NPs e, quantificar esta propriedade com precisão é de extrema importância para uma eficiente síntese. A forma das NPs também interfere, podendo ser esférica, retangular, entre outras, influenciando na área e no diâmetro. Resultados como forma de distribuição e tamanho podem depender do processo de obtenção da nanoestrutura (Gupta *et al*, 2006).

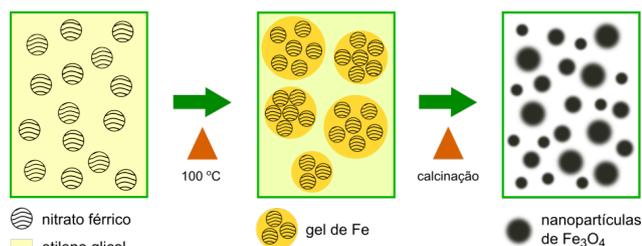


Figura 2 – Síntese de nanopartículas de Fe_3O_4 via decomposição térmica de uma solução de etileno glicol e nitrito férrico.

Há um grande número de métodos para a caracterização de NPs como: espalhamento de luz dinâmico (espectroscopia de correlação de fótons), ressonância magnética nuclear, difração de raios X (DRX), espalhamento de luz estático, microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), microscopia de força atômica, eletroforese, calorimetria diferencial de varredura, além de métodos acústicos como espectroscopia acústica.

A determinação das características das partículas pode sofrer variação no resultado conforme o método de análise escolhido (Gupta *et al*, 2006; Thassu *et al*, 2007).

Difração de raios X

A difração de raios X (DRX) é uma técnica analítica versátil e não destrutiva utilizada para avaliação de sólidos cristalinos, o que abrange materiais naturais e sintéticos, revelando informações sobre sua estrutura cristalina (Bedê, 2010).

Ocorre a difração sempre que uma frente de ondas passa através de fendas cuja separação é comparável ao comprimento de onda da radiação. A técnica de medida DRX é baseada na interação da radiação eletromagnética de comprimento de onda ($\sim 0,1$ nm) com planos de átomos do sólido cristalino (Schettino Júnior, 2009).

A estrutura cristalina é uma distribuição regular tridimensional de átomos no espaço. Estes átomos permanecem organizados formando, em uma direção, uma variedade de planos paralelos separados entre si por um espaçamento interplanar d , conforme as características do material (Figura 3). Para qualquer cristal, os planos existem em uma série de orientações diferentes, cada qual com seus próprios espaçamentos d particulares (Schettino Júnior, 2009).

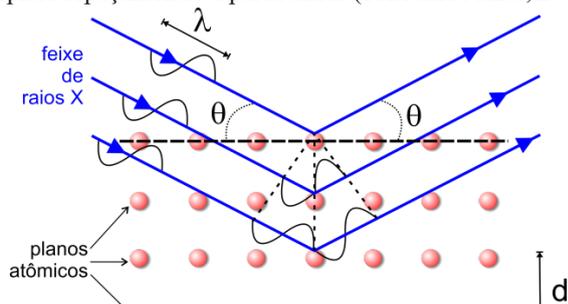


Figura 3 – Figura esquemática da difração de raios X.

Quando um feixe de raios X monocromático com comprimento de onda incide sobre um material cristalino em um ângulo θ (Figura 3), a difração ocorre somente quando a distância percorrida pelos raios refletidos de planos sucessivos difere por um número n inteiro de comprimento de onda (Bedê, 2010).

Um feixe difratado é produzido somente quando algumas condições geométricas, expressas pela lei de Bragg (equação 1), são satisfeitas.

$$n\lambda = 2d \sin\theta \quad (\text{eq. 1})$$

onde λ é comprimento de onda dos raios X incidentes.

O ângulo 2θ pode ser determinado sem dificuldade, pois 2θ é o ângulo formado pelo feixe incidente, ou pelo seu prolongamento, com o feixe difratado.

O uso de sistemas computacionais para a identificação dos difratogramas obtidos na DRX é bastante comum. Estes difratogramas, que são os gráficos de intensidade por ângulo de difração, identificam as amostras através da comparação desses com fichas catalogadas, como o arquivo ICDD-JCPDS (*International Centre for Diffraction Data - Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) (Freitas, 2009).

Microscopia eletrônica de varredura

Embora a DRX seja uma técnica de caracterização indispensável, em alguns casos ela depende de informações como a composição dos elementos químicos e a morfologia física da amostra. Essas informações podem ser obtidas, simultaneamente, pela espectroscopia de fluorescência de raios X e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Lima, 2010).

Fundamentalmente, o microscópio eletrônico de varredura é um microscópio que utiliza elétrons ao invés de luz para formar imagens tridimensionais da superfície (Figura 4 (a)). A versatilidade da MEV se encontra na possibilidade da captação e medida das diversas radiações provenientes das interações elétron-amostra. Estas interações podem revelar informações da natureza da amostra incluindo composição, topografia, morfologia (Lima, 2010).

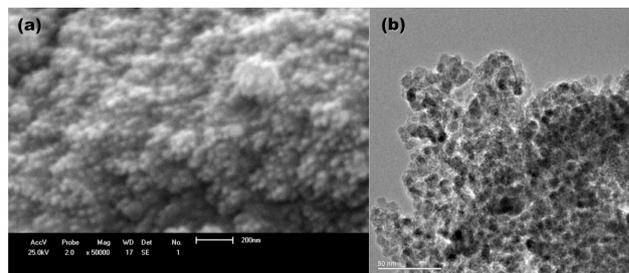


Figura 4 – (a) Imagem obtida via microscopia eletrônica de varredura em nanopartículas de Fe_3O_4 . (b) Imagem obtida via microscopia eletrônica de transmissão em nanopartículas de Fe_3O_4 .

A MEV produz imagens de uma amostra por varredura de um feixe de elétrons sobre a superfície da amostra que irá resultar em outras radiações como: elétrons secundários, elétrons retroespalhados, raios X. A captação dessas radiações gera sinais que contêm informações sobre a topografia da superfície da amostra, composição e outras propriedades (Dias, 2011; Viana, 2011).

A MEV é útil na análise microestrutural de materiais sólidos. Embora exista a complexidade dos mecanismos para a obtenção da imagem, o resultado é uma imagem de fácil interpretação.

A maior resolução conseguida pelo microscópio eletrônico de varredura fica entre o microscópio ótico (MO) e o microscópio eletrônico de transmissão. A grande vantagem do microscópio eletrônico de varredura em relação ao MO é sua resolução e perfil de profundidade, na ordem de 2 a 5 nm (20 - 50 Å). (Dias, 2011).

Microscopia eletrônica de transmissão

Na microscopia eletrônica de transmissão (MET) um canhão gera um feixe de elétrons de alta energia que, guiado por um conjunto de lentes magnéticas, incide sobre a amostra. Assim, os feixes transmitidos e difratados, são recombinados na construção da imagem que é projetada na tela do microscópio e capturada por uma única câmara digital, tendo projeções bidimensionais (Alves, 2007). Desta maneira fornece imagem com maior ampliação visualizando cada partícula (Figura 4 (b)).

A vantagem da MET frente às demais técnicas está na capacidade de observação de dois pontos separados por uma dada distância, e assim, quanto menor a distância que o microscópio conseguir distinguir entre dois pontos, maior será a resolução do equipamento, ou seja, o poder de resolução (Freitas, 2011). É uma das técnicas mais adequadas quando se deseja obter imagem direta das NPs (Bedê, 2010).

Comportamento magnético

Dentre todas as propriedades físicas da matéria, o comportamento magnético (magnetização de saturação, energia de anisotropia, temperatura de ordenamento magnético, transição de fases magnéticas e cristalinas) talvez seja o que desperta o maior interesse científico e tecnológico. Assim, por conta das peculiaridades que o comportamento magnético adquire quando observado nas NPs magnéticas, essas constituem uma classe de materiais que merecem uma especial atenção (Schettino Júnior, 2009).

As propriedades magnéticas dos materiais estão relacionadas principalmente ao comportamento dos spins. O comportamento magnético de diferentes materiais pode ser classificado como diamagnetismo, paramagnetismo, ferromagnetismo e superparamagnetismo, além do antiferromagnetismo e ferrimagnetismo. Materiais diamagnéticos não possuem um momento de spin, mas possuem um momento orbital. Esse comportamento se justifica pelo fato dos elétrons apresentarem uma tendência

a se agruparem em pares com spins orientados em direções opostas, sabendo que cada par tem um spin total nulo, consequentemente a maior parte dos átomos com número par de elétrons possui um spin total nulo fazendo com que o campo de indução magnética seja oposto ao campo externo, resultando em uma repulsão deste campo externo. Materiais paramagnéticos (Figura 5 (a)) possuem elétrons desemparelhados e ordenados aleatoriamente, alinham-se quando expostos a um campo magnético externo (Hafeli *et al*, 2006; Silva, 2008; Vendreamo, 2011; Vo-Dinh, 2007).

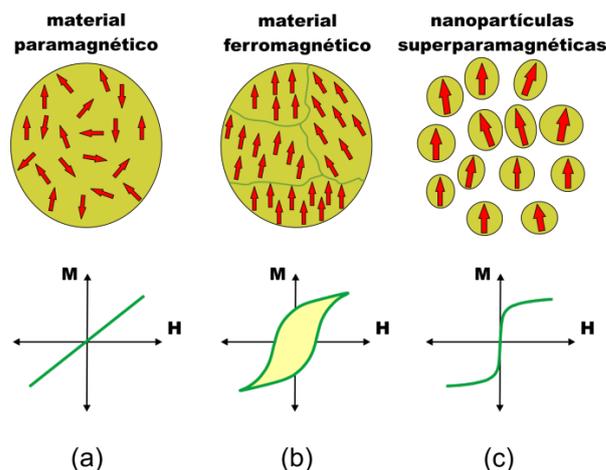


Figura 5 – Figura esquemática mostrando as orientações dos momentos magnéticos (setas vermelhas) em materiais com comportamento (a) paramagnético, (b) ferromagnético e (c) superparamagnético. Na parte inferior da figura são mostradas as respectivas curvas de histerese magnética esperadas para os diferentes comportamentos magnéticos.

Os ferromagnéticos têm seus elétrons desemparelhados e geralmente apresentam magnetização diferente de zero (Silva, 2008). Reagem fortemente a um campo magnético externo, possuem estrutura organizada de domínio magnético (Figura 5 (b)) e um estado de magnetização uniforme (Vo-Dinh, 2007). Sua orientação é aleatória, porém, quando expostos a um campo magnético tendem a se alinhar conforme este e, após a retirada do campo, observa-se uma magnetização remanescente. Novamente, para conseguir uma aleatoriedade, mais energia deve ser fornecida através de um campo magnético externo de direção oposta, um campo coercivo, voltando à magnetização nula (Hafeli *et al*, 2006).

Dependendo do tamanho da partícula, a energia térmica pode ser suficiente para que o momento magnético oscile em diferentes direções, assumindo um comportamento superparamagnético (Figura 5 (c)), com maior magnetização. Isso pode ser definido pela estrutura da partícula e forma da superfície (Hafeli *et al*, 2006; Lan *et al*, 2011; Vo-Dinh, 2007; Yuan *et al*, 2010).

Materiais abaixo de um determinado diâmetro não retêm a magnetização devido à falta da estrutura de domínios no entanto são responsivos a um campo magnético. O

tamanho crítico depende do material e da forma das partículas podendo ser de poucas dezenas de nanômetros para o material estar numa condição superparamagnética e não mais ferromagnética (Gupta *et al*, 2006; Xiao *et al*, 2010; Yuan *et al*, 2010).

O tamanho, a composição, via de síntese de NPs magnéticas é determinante para o uso da NP. Embora partículas superparamagnéticas, ferro e ferrimagnéticas, podem ser utilizadas para transporte de fármacos, NPs superparamagnéticas são favoráveis para aplicações biomédicas devido seu comportamento não magnético quando na ausência da aplicação de um campo magnético externo, evitando assim sua aglomeração (Hafeli *et al*, 2006).

Magnetômetro de amostra vibrante

O desempenho magnético de um sistema composto de NPs é condicionado às propriedades físicas individuais de cada partícula e do ambiente em que está inserida. Entre as mais importantes características físicas estão o tamanho, a distribuição de tamanho e a morfologia das partículas, parâmetros intrínsecos dos materiais (anisotropia magnetocristalina e magnetização de saturação, entre outras), interação superfície/interface, etc. (Schettino Júnior, 2009).

O magnetômetro de amostra vibrante é um instrumento científico que mede propriedades magnéticas sendo amplamente utilizado nos laboratórios de pesquisa devido seu bom desempenho, simplicidade funcional e baixo custo operacional (Dias, 2011; Freitas, 2009).

De forma geral, um magnetômetro é formado por um conjunto de equipamentos usados para medir o momento magnético de uma amostra para um determinado valor de campo aplicado.

Se uma amostra de qualquer material é submetida a um campo magnético uniforme, criado entre os polos de um eletroímã, um momento de dipolo será induzido. Se a amostra vibra senoidalmente, uma corrente elétrica senoidal pode ser induzida em bobinas adequadamente posicionadas. O sinal tem a mesma frequência da vibração e sua amplitude será proporcional ao momento magnético e posição relativa ao sistema de bobinas. Através da medição do campo, é possível obter a curva de histerese do material (Dias, 2011). Ou seja, a curva de histerese fornece o comportamento da magnetização do material (M) em função do campo magnético aplicado (H). Cada estado magnético possui uma “curva de histerese característica” (Figura 5).

Espectroscopia Mössbauer

Como já dito anteriormente, as nanopartículas de óxidos de ferro tem um comportamento magnético complexo, na maioria dos casos superparamagnético. Este comportamento é devido às partículas possuírem apenas alguns poucos nanômetros de diâmetro. Os tamanhos nanométricos levam as partículas a apresentar grandes áreas superficiais e, portanto, grandes contribuições

de anisotropia magnética de superfície na resposta magnética das mesmas. Devido a este comportamento estrutural e magnético complexo, geralmente, um estudo complementar às técnicas convencionais de caracterização (difração de raios X e medidas de magnetização, por exemplo) é necessário para se obter informações precisas das propriedades das nanopartículas. Dentre as técnicas experimentais conhecidas, uma alternativa conhecida no estudo de nanopartículas de óxidos de ferro é a Espectroscopia Mössbauer. A Espectroscopia Mössbauer (EM) é uma técnica que fornece informações importantes sobre o estado do núcleo de ferro. A interpretação dos parâmetros hiperfinos obtidos nas medidas fornece informações sobre as fases de óxido de ferro e sobre seu comportamento magnético. A EM tem sido amplamente aplicada para medir o campo magnético hiperfino de nanopartículas, seu comportamento dinâmico em flutuações térmicas, concentrações relativas de íons de ferro com diferentes estados de carga íons com carga diferente estado, etc (Dormann, 1997; Mørup, 1980; Fonseca, 2006). Esta técnica de caracterização é muito sensível em estudos de processos dinâmicos com a escala de tempo entre 10⁻⁷ e 10⁻⁹ s. Esta escala de tempo é característica do comportamento superparamagnético de nanopartículas monodomínio. Portanto, a EM é muito versátil no estudo de propriedades magnéticas de nanopartículas de óxidos de ferro em função da composição e da relação entre as valências dos íons ferro.

Aplicações das nanopartículas magnéticas

Com adequado revestimento de superfície, as NPs magnéticas podem ser dispersas em solventes adequados, formando suspensões homogêneas, chamados de fluidos magnéticos. Assim há oportunidade de várias aplicações biomédicas, tornando viável seu uso como agentes de contraste em ressonância magnética (Avdeev *et al*, 2010; Ferguson *et al*, 2009; Kim *et al*, 2008; Schlorf *et al*, 2011), como carreadores de fármacos guiados por campo magnético (Kim *et al*, 2008; Yuan *et al*, 2010) tratamento de tumores via hipertermia (Kim *et al*, 2008; Thassu *et al*, 2007; Vo-Dinh, 2007), separação biomolecular magnética e para diagnósticos (Ferguson *et al*, 2009).

NPs superparamagnéticas de óxido de ferro desempenham um papel importante como agentes de contraste para ressonância magnética, para melhor diferenciar os tecidos saudáveis dos patológicos. A inclusão de partículas magnéticas no interior do tecido permite um sinal muito grande para ser obtido a partir de um scanner de ressonância magnética. São utilizadas NPs de óxidos de ferro superparamagnéticas em que as partículas têm um tamanho maior do que 50 nm bem como partículas menores que 50 nm. O tamanho influencia a farmacocinética e a biodistribuição. Há diversas dessas partículas disponíveis comercialmente. O principal requisito para ressonância magnética é que as células capturem eficientemente as partículas magnéticas que estão expostas por mecanismos de endocitose (Brigger *et al.*, 2002).

Uma outra aplicação biomédica das NPs magnéticas é no tratamento de tumores por hipertermia. A hipertermia por indução magnética, uma das terapias para o tratamento do câncer, significa a exposição de tecidos tumorais à um campo magnético alternado. O campo magnético não é absorvido pelos tecidos vivos e pode ser aplicado em regiões profundas do organismo. Quando as partículas magnéticas são sujeitas a um campo magnético variável, certo calor é gerado devido à perda por histerese magnética. A quantidade de calor gerada depende da natureza do material magnético e dos parâmetros do campo magnético. Partículas magnéticas embebidas em torno de um local do tumor, e submetidas a um campo magnético oscilante aquecem a uma temperatura dependente das propriedades magnéticas do material, da intensidade do campo magnético, da frequência de oscilação e da capacidade de arrefecimento do fluxo de sangue no local do tumor. As células tumorais são destruídas a temperaturas superiores à 43°C, enquanto as células normais podem sobreviver à temperaturas mais elevadas (Gordon *et al.*, 1979; Hafeli *et al.*, 2006; Kashevsky *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2008; Thassu *et al.*, 2007). Na literatura se encontra diversos trabalhos utilizando NPs magnéticas para hipertermia, em diversos modelos de tumores em ratos e também em cultura de células (Lurderer *et al.*, 1983; Chan *et al.*, 1993; Jordan *et al.*, 1999; Wada *et al.*, 2003; Ito *et al.*, 2001; Kashevsky *et al.*, 2008).

A mais promissora aplicação de NPs magnéticas coloidais é no carreamento de fármacos para liberação em local específico. O fármaco pode estar ligado à superfície da partícula ou internamente na partícula (bulk). O tamanho, carga e a composição química da superfície das partículas magnéticas são fatores particularmente importantes que afetam tanto o tempo de circulação no sangue (conforme citado anteriormente), bem como a biodisponibilidade das partículas no organismo. Além disso, as propriedades magnéticas e de internalização das partículas dependem fortemente do tamanho das partículas magnéticas (Chouly *et al.*, 1996).

A utilização de NPs para carreamento de fármacos, com o intuito de melhorar a administração, a eficácia e reduzir os efeitos colaterais cresceu muito nos últimos anos, tanto na pesquisa farmacêutica quanto clínica. Um sistema ideal de liberação de fármacos deve possuir a capacidade de controle de direcionamento do dispositivo. Os parâmetros que trazem benefícios para sua utilização e eficácia terapêutica incluem intervalos prolongados de administração, redução da toxicidade, dosagem reduzida e maior adesão, além do aumento da atividade e estabilidade do fármaco (Ferrari, 2008; Gupta *et al.*, 2006; Thassu *et al.*, 2007).

Em contraste com as micropartículas, NPs são suficientemente pequenas para evitar embolia, podendo ser administradas via endovenosa (Gupta *et al.*, 2006). Os sistemas de entrega de fármacos por NPs devem ter algumas características como longa circulação no sangue, permanecendo assim por longo período no organismo,

direcionamento para alvos através de mecanismos específicos (como ligantes na superfície) e não específicos, uso de revestimentos, capacidade de penetrar no interior das células evitando degradação lisossomal, retenção nos tecidos, resposta a estímulos do sítio patológico específico (pH, temperatura, aplicação de um campo externo magnético ou ultrassom), liberação intracelular do medicamento, (Ferrari, 2008; Hafeli *et al.*, 2006; Thassu *et al.*, 2007). Ainda, as NPs superparamagnéticas são úteis no direcionamento da liberação de fármacos, utilizando pulsos eletromagnéticos (Gupta *et al.*, 2006).

Em se tratando do direcionamento das partículas através de um campo magnético, existem, no entanto, alguns problemas fundamentais, indicando que a terapia não é tão simples quanto parece. Por exemplo, o direcionamento para um tipo específico de célula, pode ser possível com revestimentos dirigidos (através de ligantes), porém o tempo que as partículas permanecem localizadas na membrana da célula pode ser curto, pois a célula tende a remover a partícula automaticamente por endocitose mediada por receptor. Além disso, a capacidade das partículas magnéticas se concentrarem no local dependerá tanto da velocidade do fluxo sanguíneo quanto da intensidade do campo magnético. O sucesso depende, portanto, em grande medida, da disponibilidade de campos magnéticos fortes, capazes de produzir elevados gradientes de campo magnético aos sítios alvo (Lubbe *et al.*, 2001), fato esse que ainda não vivenciamos.

Ainda, muitas considerações devem ser levadas em conta para compreender esta nova forma de aplicação farmacológica. Inicialmente há os parâmetros do fluido magnético, como o tamanho da NPs magnética, as características da superfície, a concentração, volume e força de ligação do fármaco na partícula. Também, deve-se levar em conta o acesso ao organismo, em que as considerações envolvem a duração e a velocidade da injeção. Finalmente, existem os parâmetros fisiológicos, que vão desde o peso do organismo, o volume de sangue, o débito cardíaco, o local do sítio / fluxo sanguíneo (Berry and Curtis, 2003).

Apesar de avanços na compreensão do metabolismo do câncer, a dificuldade no direcionamento de quimioterápicos, nos alvos específicos, continua sendo um grande desafio. Muitos agentes antineoplásicos possuem estreita margem terapêutica de segurança, causando efeitos colaterais sistêmicos. O uso de NPs no direcionamento desses fármacos, com maior especificidade para o tecido tumoral, através da aplicação de um campo magnético externo, contribui na redução da dose e dos efeitos indesejáveis, menos efeitos tóxicos, direcionamento eficaz e segurança do índice terapêutico (Hafeli *et al.*, 2006; Thassu *et al.*, 2007; Tomitaka *et al.*, 2009). Muitos artigos científicos estão disponíveis na literatura mostrando os avanços obtidos na aplicação de NPs magnéticas para um possível tratamento do câncer. Fazendo uma busca na base de dados do pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) utilizando como palavras chave “magnetic nanoparticles” and “câncer”, encontramos, até a presente

data, somente no ano 2013, o total de 260 artigos científicos sobre o assunto. Isso mostra a relevância do assunto e que tem havido muito interesse científico nas NPs magnéticas.

A inoculação intratumoral de fármacos antitumorais por NPs magnéticas possui a vantagem de atingirem maior concentração no tumor com menores doses de fármacos. Ainda, as NPs também podem dificultar o recebimento de nutrientes pelos transportadores de membrana e ocasionar lise celular, auxiliando na terapia contra o câncer. Porém, se o local for de difícil acesso, a administração de fármacos, ligados a transportadores magnéticos pela circulação sanguínea, requer aumento da dose para compensar a perda do material (fígado, baço, sistema de macrófagos), o que pode induzir um efeito tóxico (Sincai *et al*, 2001).

Por fim, o mais recente interesse de pesquisa na utilização de nanopartículas magnéticas direcionadas é no campo da terapia genética. A terapia genética ainda não conseguiu demonstrar seus potenciais benefícios uma vez que ainda não existe um carreador de material genético ideal. Denominada de “magnetofecção”, consiste em um método em que as NPs magnéticas associadas com DNA do vetor são transfectadas para células através da influência de um campo magnético externo. Para este propósito, as partículas magnéticas podem ser revestidas com o polímero polietilenimina. Estes complexos facilmente associam-se com o DNA negativamente uma vez que as partículas magnéticas encontram-se carregadas positivamente, devido à polietilenimina. A magnetofecção pode proporcionar especificidade adicional e eficácia que é necessária em muitas abordagens de terapia genética (Scherer *et al*, 2002).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação de NP's magnéticas no desenvolvimento de novas formas de tratamentos demonstra importantes resultados. Estes apresentam algumas vantagens que justificam a sua utilização, tais como, desempenho terapêutico superior em relação a fármacos veiculados através de formas farmacêuticas convencionais; em que a eficiência é aumentada por meio de concentrações locais, enquanto ao mesmo tempo os efeitos secundários gerais podem ser evitados. Apesar ainda da utilização de fluidos magnéticos seja apenas experimental, com exceção da aplicação na ressonância magnética, a busca por novas tecnologias de síntese e principalmente funcionalização, torna as NPs magnéticas promissoras sistemas para aplicações biomédicas.

ABSTRACT

Physical and biological aspects of ferrite magnetic nanoparticles

Nanoparticles of magnetic oxides are mainly composed of Fe₃O₄ (magnetite) and Fe₂O₃ (maghemite). However, CoFe₂O₄ (cobalt ferrite) and NiFe₂O₄ (Niguel

ferrite), among others, are highly used. These ferrite nanoparticles show many biomedical applications, among them the controlled drug-release, contrast agents for magnetic resonance imaging, magnetic field guided drug carriers to tumors treatment by hyperthermia, magnetic biomolecular separation and diagnostics. For these nanoparticles can be used, it should present adequate magnetic characteristics as well as controlled particle size and surface composition. In this review it was described a new method of synthesis and characterization of nanoparticles, as well as magnetic behavior and biomedical applications of nanoparticles.

Keywords: Magnetic nanoparticles. Physical properties. Biomedical applications.

REFERÊNCIAS

Allemann E, Leroux JC, Gurny R, Doelker E. *In vitro* extended-release properties of drug-loaded poly(DL-lactic acid) nanoparticles produced by a salting-out procedure. *Pharm Res.* 1993;10:1732–7.

Alves TM. Síntese e caracterização de nanopartículas de óxido de ferro para aplicações biomédicas. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Física, Universidade Estadual de Campinas, 2007.

Avdeev MV, Mucha B, Lamszus Z, Vékas L, Garamus VM, Feokzystov AV, Marinica O, Turcu R, Willumet R. Structure and *in vitro* biological testing of water-based ferrofluids stabilized by monocarboxylic acids. *Langmuir.* 2010;26(11):8503-9.

Bedê PM. Produção e caracterização de nanopartículas polimérico-magnéticas para utilização biomédica. Dissertação (Mestrado) - Ciência dos Materiais Instituto Militar de Engenharia. Rio de Janeiro, 2010.

Berryl CC, Curtis ASG. Functionalisation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J Phys D Appl Phys.* 2003;36:R198–R206.

Brigger I, Dubernet C, Couvreur P. Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv Drug Del Rev.* 2002;54:631–51.

Cabuil V, Dupuis V, Talbot D, Neveu S. Ionic magnetic fluid based on cobalt ferrite nanoparticles: Influence of hydrothermal treatment on the nanoparticle size. *J Magnetism Magnetic Materials.* 2011;323(10):1238-41.

Chan DCF, Kirpotin DB, Bunn Jr., PA. Synthesis and evaluation of colloidal magnetic iron oxides for the site specific radio- frequency-induced hyperthermia of cancer. *J Magn Mater.* 1993;122:374–8,

Chouly C, Pouliquen D, Lucet I, Jeune P, Pellet JJ. Development of superparamagnetic nanoparticles for MRI: effect of particles size, charge and surface nature on biodistribution. *J Micro-Encapsul.* 1996;13:245–55.

Cotica LF, Zanatta SC, Medeiros SN, Santos IA, Paesano A, Cunha JBM. Mechanical milling of the (alpha-Fe₂O₃)

- (x)(α -Al₂O₃)(1-x) system: an X-ray diffraction and Mossbauer spectral study. *Solid State Ionics*. 2004;171:283-8.
- Dias BL. Síntese, caracterização e nanoestruturação de esferas funcionais submicrométricas. Dissertação (Mestrado) – Física. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.
- Dormann JL, Fiorani D, Tronc E. Magnetic relaxation in fine particle systems. *Adv Chem Phys*. 1997;98:283–494.
- Ferguson RM, Minard KR, Krishnan KM. Optimization of nanoparticle core size for magnetic particle imaging. *J Magn Magn Mater*. 2009;321:1548-51.
- Ferrari M. Multifunctional pharmaceutical nanocarriers. Boston: Springer; 2008.484p.
- Fonseca LHM, Rinaldi AW, Rubira AF, Cotica LF, Medeiros SN, Paesano A, *et al*. Structural, magnetic, and electrochemical properties of poly(o-anisidine)/maghemite thin films. *Mater Chem Phys*. 2006;97:252-5.
- Freitas VF. Mecanosíntese e caracterizações ferríticas de cerâmicas de (1-x) BiFeO₃-(x)PbTiO₃. fl. 119. Dissertação (Mestrado) – Física. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2009.
- Freitas VF. O composto BiFeO₃- PbTiO₃ Dopado com La: Relações Propriedad/Estrutura. Tese (Doutorado) – Física. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2011.
- Gaur U, Sahoo SK, De TK, Ghosh PC, Maitra A, Ghosh PK. Biodistribution of fluoresceinated dextran using novel nanoparticles evading reticuloendothelial system. *Int J Pharm*. 2000;202:1–10.
- Gordon RT, Hines JR, Gordon D. Intracellular hyperthermia. A biophysical approach to cancer treatment via intracellular temperature and biophysical alterations. *Med Hypothesis*. 1979;5:83–102.
- Guglielmo CD, Lopez DR, Lapuente J, Mallafre JML, Suárez MB. Embryotoxicity of cobalt ferrite and gold nanoparticles: A first *in vitro* approach. *Reprod Toxicol*. 2010;30:271-6.
- Gupta AK, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*. 2005;26:3995–4021.
- Gupta RB, Kompella UB. Nanoparticle technology for drug delivery. New York: Taylor & Francis; 2006;159:1-18.
- Hafeli O, Chastellain M. Nanoparticulates as drug carriers. London: Imperial College Press; 2006:397-411.
- Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. Heat-inducible TNF- α gene therapy combined with hyperthermia using magnetic nanoparticles as a novel tumor-targeted therapy. *Cancer Gene Ther*. 2001;8(9):649–54.
- Jain JP, Kumar N. Development of amphotericin B loaded polymersomes based on (PEG)3-PLA co-polymers: Factors affecting size and *in vitro* evaluation. *European J Pharm Sci*. 2010;40:456-65.
- Jordan A, Scholz R, Wust P, Schirra H. Endocytosis of dextran and silan-coated magnetite nanoparticles and the effect of intracellular hyperthermia on human mammary carcinoma cells *in vitro*. *J Magn Magn Mater*. 1999;194(1–3):185–96.
- Kashevsky BE, Agabekov VE, Kashevsky SB, Kekalo KA, Manina EY, *et al*. Study of cobalt ferrite nanosuspensions for low-frequency ferromagnetic hyperthermia. *Particuology*. 2008;6:322-33.
- Kim DK, Nikles DE, Johnson DT, Brazel CS. Heat generation of aqueously dispersed C₀Fe₂O₄ nanoparticles as heating agents for magnetically activated drug delivery and hyperthermia. *J. of Magnetism and Magnetic Materials*. 2008;320:2390-6.
- Lacava LM, *et al*. Magnetic resonance of a dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice *Biophys J*. 2001;80:2483–6.
- Lan NT, Duong NP, Hien TD. Influences of cobalt substitution and size effects on magnetic properties of coprecipitated CoFe ferrite nanoparticles. *J Alloys Comp*. 2011;509:5919-25.
- Li X-H, Xu C-L, Han X-H, Qiao L, Wang T, Li F-S. Synthesis and magnetic properties of nearly monodisperse CoFe₂O₄ nanoparticles through a simple hydrothermal condition. *Nano Express*. 2010;5:1039-44.
- Lima DA. Quantificação de fases cristalinas de incrustações em colunas de produção de petróleo pelo método Rietveld. fl. 109. Dissertação (Mestrado) – Ciência e Engenharia do Petróleo. Natal - RN, 2010.
- Lu H, Liu G, Wang X, Zhang J, Chen Y, Shi J, Yang H, Hu H, Yang S. Solvothermal synthesis of cobalt ferrite nanoparticles loaded on multiwalled carbon nanotubes for magnetic resonance imaging and drug delivery. *Acta Biomater*. 2011;7:3496-3504.
- Lubbe AS, Alexiou C, Bergemann C. Clinical applications of magnetic drug targeting. *J Surg Res*. 2001;95:200–6.
- Luderer AA, Borrelli NF, Panzarino JN, Mansfield GR, Hess DM, Brown JL, Barnett EH. Glass-ceramic-mediated, magnetic- field-induced localized hyperthermia: response of a murine mammary carcinoma. *Radiat Res*. 1983;94:190–8.
- Marmorato P, Ceccone G, Gianoncelli A, Pascolo L, Ponti J, Rossi F, *et al*. Cellular distribution and degradation of cobalt ferrite nanoparticles in Balb/373 mouse fibroblasts. *Toxicol Lett*. 2011;207(2):128-36.
- Mattei YC, Perez OP. Synthesis of high-coercivity cobalt ferrite nanocrystals. *Microelectron J*. 2009;40:673-8.
- Miller O, Gonçalves RR. Laboratório para o clínico. 8. ed. São Paulo: Atheneu; 1999.
- Monteiro RNA, Tran CL. Nanotoxicology: characterization, dosing and health effects. New York: Informa Healthcare; 2007:450.

- Mørup S, Dumesic J, Topsøe H. Magnetic microcrystals. In: Cohen RC. (ed.) Applications of Mössbauer Spectroscopy II. New York: Academic; 1980:1-53.
- Naqvi S, Samim M, Abdin MZ, Ahmed FJ, Maitra AN, Prashant CK, Dinda AK. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *Internacional J Nanomed*. 2010;5:983-9.
- Nlebedim IC, Ranvah N, Williams PI, Melikhov Y, Snyder JE, Moses AJ, Jiles DC. Effect of heat treatment on the magnetic and magnetoelastic properties of cobalt ferrite. *J Magn Magn Mater*. 2010;322:1929-33.
- Oliveira JBA. Exames laboratoriais para o clínico. Rio de Janeiro: Medsi; 2003.
- Owens DE, Peppas NA. Opsonizations, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int J Pharm*. 2006;307:93-102.
- Portet D, Denoit B, Rump E, Lejeune JJ, Jallet P. Nonpolymeric coatings of iron oxide colloids for biological use as magnetic resonance imaging contrast agents. *J Coll Int. Sci*. 2001;238:37-42.
- Santana YVB, Melo MAC, Santos IA, Coelho AA, Gama S, Cótica LF. Structural, microstructural and magnetocaloric investigations in high-energy ball milled Ni₂.18Mn_{0.82}Ga powders. *Solid State Commun*. 2008;148:289-92.
- Santos DB. Avaliação dos efeitos de compostos orgânicos de selênio e de telúrio sobre a integridade estrutural e funcional de células sanguíneas humanas. Dissertação (Mestrado) - Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2009.
- Scherer F, Anton M, Schillinger U, Henke J, Bergemann C, Kruger A, *et al*. Magnetofection enhancing and targeting gene delivery by magnetic force *in vitro* and *in vivo*. *Gene Ther*. 2002;9: 102-9.
- Schettino Junior MA. Obtenção e caracterização de nanopartículas Magnéticas inseridas em materiais carbonosos porosos a partir da decomposição do pentacarbonil ferro. Tese (Doutorado) - Física. Centro de Ciências Exatas, Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2009.
- Schlorf T, Meincke M, Kossel E, Glüer CC, Jansen O, Mentlein R. Properties of iron oxide nanoparticles for cellular and molecular magnetic resonance imaging. *Internacional J Mol Sci*. 2011:12-23.
- Silva DO. Nanopartículas de cobalto preparada em líquidos iônicos: síntese, caracterização e aplicação em processo Fischer-Tropsch. 151f. Dissertação (Mestrado de Química)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre; 2008.
- Sincai M, Gânga D, Bica D, Vékás L. The antitumoral effect of loco regional magnetic cobalt ferrite in dog mamary adenocarcinoma. *J Magn Magn Mater*. 2001;225:235-40.
- Thassu D, Deleers M, Pathak Y. Nanoparticulate drug delivery systems. New York: Informa Healthcare; 2007. 382p.
- Tomitaka A, Hirukawa A, Yamada T, Morishita S, Takemura Y. Biocompatibility of various ferrite nanoparticles evaluated by *in vitro* cytotoxicity assays using HeLa cells. *J Magn Magn Mater*. 2009;321:1482-4.
- Vendrame SC, Cótica LF, Freitas VF, Dias GS, Santos IA, Khalil NM, *et al*. Simple and facile approach to synthesize magnetite nanoparticles and assessment of their effects on blood cells. *J Magn Magn Mater*. 2012;324:559-563.
- Viana DSF. Síntese e propriedades ferroicas do composto LUF₂O₄. Dissertação (Mestrado) – Física. Universidade Estadual de Maringá. Maringá, 2011.
- Vicente JD, Bossis G, Lacia S, Guyot M. Permeability measurements in cobalt ferrite and carbonyl iron powders and suspensions. *J Magn Magn Mater*. 2002;251:100-8.
- Vo-Dinh T. Nanotechnology in biology and medicine: methods, devices and applications. Boca Raton: Taylor & Francis; 2007. 762p.
- Wada S, Tazawa K, Furuta I, Nagae H. Antitumor effect of new local hyperthermia using dextran magnetite complex in hamster tongue carcinoma. *Oral Dis*. 2003;9(4):218-23.
- Wang YX, Hussain SM, Krestin GP. Superparamagnetic iron oxide contrast agents: physicochemical characteristics and applications in MR imaging *Eur Radiol*. 2001;11:2319-31.
- Xiao SH, Luo K, Zhang L. The structural and magnetic properties of cobalt ferrite nanoparticles formed in situ in silica matrix. *Mater Chem Phys*. 2010;123:385-9.
- Xu C, Sun S. New forms of superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications Review Article. *Adv Drug Deliv Rev*. 2013;65(5):732-43.
- Yang J, Park SB, Yoon HG, Huh YM, Haam S. Preparation of poly- ϵ -caprolactone nanoparticles containing magnetite for magnetic drug carrier. *Int J Pharm*. 2006;324:185-90.
- Yuan HL, Wang YQ, Shao MZ, Liu LS, Chen XL, Lou SY, *et al*. Low-temperature preparation of superparamagnetic CoFe₂O₄ microspheres with high saturation magnetization. *Nano Express*. 2010;5:1817-21.

Recebido em 14 de maio de 2013.

Aceito em 14 de outubro de 2013.