

NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS: O COBALTO.

MAGNETIC NANOPARTICLES: THE COBALT

Vagner Sargentelli e Antonio P. Ferreira

*Laboratório de Materiais Fotônicos, Departamento de Química Geral e Inorgânica, Instituto de Química de Araraquara – UNESP.
Rua Prof. Francisco Degni, s/n, CEP: 14.801-970, C. P. 355, Araraquara – SP, Brasil.*

Resumo: O desenvolvimento de nanopartículas magnéticas tem sido levado a cabo devido à sua importância tecnológica. Os materiais nanoparticulados magnéticos exibem uma série de propriedades interessantes, entre as quais citam-se as propriedades elétricas, ópticas, magnéticas e químicas. As nanoestruturas podem ser utilizadas em microeletrônica e em medicina, como em: memória magnética, transporte magnético de complexos bioquímicos, imagem de ressonância magnética, entre outras. As propriedades magnéticas de nanopartículas são muito sensíveis aos seus tamanhos e às suas formas. Nesse sentido, muitos esforços têm sido realizados com o intuito de controlar a forma e a distribuição do tamanho das nanopartículas. Nas últimas décadas nanoestruturas constituídas por óxidos de ferro foram intensamente estudadas. Todavia, mais recentemente, o foco das pesquisas tem se voltado para outros metais de transição. Dentre estes, o cobalto vem sendo investigado em decorrência de sua alta susceptibilidade magnética. Neste contexto, o presente artigo tem o objetivo de apresentar e efetuar uma análise comparativa das mais significativas vias sintéticas empregadas até o presente momento para se obter nanopartículas de cobalto.

Palavras-chave: Nanopartículas, cobalto.

Introdução

As aplicações de nanopartículas magnéticas vêm permitindo avanços significativos na informação atual sobre esses materiais e nas tecnologias biológicas, as quais incluem o armazenamento de informações, sensores magnéticos, bio-separadores e desenvolvimento de novos medicamentos [1-2]. As nanopartículas magnéticas oferecem várias possibilidades de aplicação em biomedicina. Isto porque esses materiais apresentam tamanho na extensão de alguns a dezenas de nanômetros, os quais são menores ou comparáveis ao tamanho de uma célula (10 – 100 μm), de um vírus (20 – 450 nm), de uma proteína (5 – 50 nm) ou de um gene (2 nm de largura e 10 – 100 nm de comprimento) [3-4]. Isto significa que as nanopartículas podem ser empregadas como uma entidade biológica.

Certamente, esses materiais podem ser revestidos com moléculas biológicas para fazer com que os mesmos interajam com outras espécies biológicas e, desse modo, fornecendo um meio controlável de endereçamento dessas espécies no organismo [5]. Além disso, os materiais nanoestruturados são magnéticos, o que significa que os mesmos seguem as leis de Coulomb e podem, portanto, serem manipulados por um campo magnético externo [6-7]. Também, as nanopartículas magnéticas podem responder a uma variação magnética em função do tempo, o que conduz a um efeito de transferência de energia do campo magnético excitante para as nanopartículas [8]. Assim, as nanoestruturas podem sofrer aquecimento, o que propicia o seu uso como agentes epitérmicos ou como agentes quimioterápicos e radioterápicos, conduzindo a uma destruição das células malignas [9].

Pode-se dizer que muitas pesquisas realizadas nas últimas décadas foram enfocadas em óxidos de ferro. Estas estruturas foram identificadas como proeminentes para experimentação devido às suas habilidades para produzir um momento de dipolo sobre a aplicação de um campo magnético. Entretanto, mais recentemente, algumas pesquisas têm colocado ênfase sobre as nanoestruturas compostas por outros metais de transição (Ni e Co e suas ligas) [10]. Estes metais possuem várias propriedades que são mais ideais do que àquelas observadas para os óxidos de ferro. Metais de transição magnéticos nanoestruturados exibem comportamento ferromagnético, enquanto que àqueles de ferro exibem comportamento superparamagnético. As estruturas ferromagnéticas produzem um momento magnético maior do que as estruturas superparamagnéticas. Também, os metais de transição retêm suas propriedades magnéticas na ausência de um campo magnético, enquanto que as nanoestruturas de óxido de ferro não retêm. Nanopartículas de Fe_3O_4 apresentam uma definição magnética pobre e difícil controle das propriedades magnéticas. Muitas complicações são encontradas em seus procedimentos de síntese, a saber: uma mistura de muitas fases de óxidos de ferro, baixa cristalinidade e grande dispersão no tamanho das partículas. Todas essas confusas com a interpretação das propriedades magnéticas [10].

As propriedades magnéticas de nanoestruturas são muito sensíveis aos seus tamanhos e às suas formas. Geralmente, as pesquisas nas últimas décadas foram realizadas com nanoestruturas esféricas que apresentavam diâmetro menor do que 100 nm. Entretanto, atualmente, o desenvolvimento está centrado em nanohastes. Concernente ao interesse desse estudo, a forma das hastes é vantajosa porque, usando o mesmo volume de material do que uma nanoesfera correspondente, a nanohaste exibirá um momento de dipolo maior sob a aplicação de um mesmo campo magnético. A idéia central desse tipo de estudo é o de fazer nanoestruturas de cobalto na forma de hastes. O cobalto é ideal porque possui uma alta susceptibilidade magnética [10 - 17].

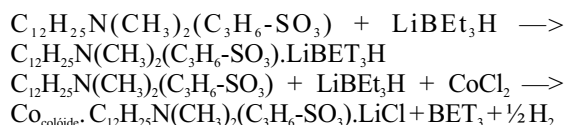
O cobalto é muito conhecido por apresentar duas estruturas cristalinas: hcp e hcc. Embora estas duas fases possam coexistir à temperatura ambiente, a estrutura hcc é termodinamicamente favorecida acima de 450 °C e a fase hcp é favorecida a baixas temperaturas [18]. A existência de estruturas hcc e hcp para o cobalto foi primeiramente reportada por Hull [19]. Krainer e Robitsch reportaram a observação de novos picos na difração de raios X de amostras

de cobalto, mas a estrutura nunca foi completamente esclarecida [20]. Kajwara e colaboradores observaram novas linhas no difratograma de raios X de nanoclusters do metal, porém atribuíram-nas a uma forma polimorfa das duas estruturas cristalinas até então conhecidas [21]. Resultados similares foram reportados por Leslie-Pelecky e colaboradores, com partículas de cobalto preparadas pela redução de solução de sais de cobalto com lítio metálico [22]. Com o desenvolvimento da nanotecnologia, alguns autores reportaram que o cobalto apresenta uma terceira forma cristalina, a forma ϵ , cuja obtenção está diretamente associada a metodologias de sínteses de nanoestruturas [10].

Neste contexto, este artigo tem o objetivo de apresentar e efetuar uma análise comparativa das mais significativas rotas sintéticas empregadas até o presente momento para se obter nanopartículas de cobalto.

Nanopartículas de Cobalto: Sínteses e Caracterizações

Song e colaboradores desenvolveram um método para a obtenção de nanopartículas de cobalto usando um reator microfluídico polimérico [23]. Os autores efetuaram uma variação nas condições experimentais tais como: velocidade do fluxo e tempo de reação. As nanopartículas de cobalto foram preparadas no micro-reator através da redução de CoCl_2 em tetrahidrofurano (THF) usando hidrotrietilborato de lítio ($\text{LiBH}(\text{C}_2\text{H}_5)_3$) como agente redutor e 3-(N,N-dimetildodecilamônio)-proprano-sulfonato (SB12) como estabilizador para a reação química mostrada abaixo:



A formação do óxido de cobalto foi evitada efetuando a reação, em THF, sob atmosfera inerte.

Nanopartículas de cobalto com estruturas fcc foram formadas nas condições de reação com alto nível de energia cinética (ou seja, alta velocidade de reação). Nas condições de reação com baixa velocidade, as nanopartículas de cobalto com estruturas hcp foram obtidas. Quando as nanopartículas foram obtidas à baixa velocidade e com crescimento por um longo período, a forma metaestável, ϵ , do cobalto foi

obtida. Os resultados mostraram, portanto, um potencial uso do reator para a obtenção das nanopartículas com diferentes estruturas, as quais acarretam diferenças nas propriedades observadas, como por exemplo, nas propriedades magnéticas. A caracterização por microscopia eletrônica de transmissão mostrou formas esféricas para as partículas e diâmetros da ordem de 3 – 5 nm, dependendo da estrutura obtida. As propriedades magnéticas das nanopartículas mostraram diferenças significativas entre as amostras que são consistentes com as três diferentes estruturas cristalinas obtidas [23].

Sun e Murray utilizaram alta temperatura e uma fase de solução redutora de cloreto de cobalto na presença de agentes estabilizantes para produzir colóides magnéticos de nanocristais de cobalto [24]. No experimento, cloreto de cobalto anidro, ácido oléico e éter dioctílico foram misturados sob nitrogênio e aquecidos a 100 °C. Então, tributilfosfina foi adicionada e a mistura reacional foi aquecida a 200 °C. Uma solução de éter dioctílico e super – hidreto foi injetada sob vigorosa agitação. Uma mudança de cor de azul escuro para preto foi observada, indicando a redução do complexo de cobalto (II) azul para formar partículas de cobalto metálico. A solução foi agitada a 200 °C por 20 minutos e, então, esfriada à temperatura ambiente. As partículas foram precipitadas pela adição de etanol à dispersão. O sobrenadante foi descartado por decantação ou centrifugação. As partículas magnéticas precipitadas foram redispersas em hexano contendo ácido oléico para promover a estabilidade [24]. O experimento foi conduzido com diferentes surfactantes. Verificou-se que o tamanho de partícula pode ser controlado pelo tamanho dos surfactantes. Pequenas cadeias de alquilfosfinas permitiram rápido crescimento e resultaram em grandes partículas de cobalto, enquanto que cadeias de alquilfosfinas maiores reduziram o crescimento da partícula e favoreceram a formação de nanopartículas menores [24].

O procedimento descrito no parágrafo precedente conduz à formação de nanopartículas de cobalto na forma ϵ que foi convertida à forma β por aquecimento a 300 °C sob uma mistura de argônio (95%) e hidrogênio (5%) ou sob vácuo (0,2 mmHg). Obtiveram-se duas séries de partículas de cobalto, com diâmetros de 6 e 9 nm. Os resultados das medidas magnéticas mostraram que as partículas estão bem abaixo do tamanho crítico no qual as nanopartículas tornam-se um único magneto e são pequenas o suficiente para indicar superparamagnetismo.

Dumestre e Chaudret descrevem um método simples que não requer um procedimento especial ou seleção de tamanho para a preparação de nanopartículas de cobalto, nanohastes e nanofios de diâmetros uniformes [25]. A variação dos parâmetros de síntese propiciou preparar nanopartículas esféricas de tamanho uniforme e nanohastes. O principal aspecto envolvido foi o de selecionar a cadeia alquila do ligante. Tipicamente, a reação de decomposição de $[\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})]$ foi conduzida a uma pressão de 3 bar de H_2 (com a pressão inicialmente à temperatura ambiente do reator) na presença dos ligantes. O uso de um ligante simples, tal como a hexadecilamina (relação molar de 1:1 Co/amina) conduziu à formação de nanopartículas pequenas e, inclusive, de aglomerados. De modo similar, o uso de oleilamina ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_8\text{NH}_2$ a 150 °C produziu nanopartículas com grande distribuição de tamanho. Todavia, com ácido oléico foram obtidas nanopartículas monodispersas com diâmetro médio de 5 nm. Quando ácido oléico e oleilamina foram usados conjuntamente como ligantes (1 equivalente de cada substância, 150 °C e 3 bar de H_2), a síntese inicialmente produz nanopartículas com dimensão média de aproximadamente 3 nm, as quais são as únicas espécies presentes após 3 horas de reação. Entretanto, após 48 horas, nanohastes regulares, de aproximadamente 9 x 40 nm, foram as únicas espécies em solução [25].

A importância do hidrogênio na obtenção de nanopartículas por esse método também foi verificada. Foram efetuados dois procedimentos idênticos em dois reatores diferentes. Após 3 horas de reação, os reatores foram evacuados. O primeiro reator foi pressurizado a 3 bar com H_2 e o segundo a 3 bar com argônio. Após 48 horas, nanohastes foram obtidas no primeiro e nanopartículas com diâmetro médio de 4 nm foram obtidas no segundo reator. Constatou-se também que a natureza do precursor foi importante. O uso de $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ no lugar de $[\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})]$ propiciou a formação de nanopartículas polidispersas com diâmetro médio de 10 nm. Verificou-se, também, que o tamanho da cadeia alquila do grupo amina afeta o tamanho e morfologia das nanopartículas obtidas [25].

Uma metodologia de síntese para a obtenção de nanoestruturas de metais de transição, entre as quais o cobalto, foi descrita por Murray e colaboradores [26]. Nesse método, denominado de processo polioli, álcool em ebulição é usado tanto como agente redutor como solvente. A obtenção de partículas de cobalto ocorreu pela combinação inicial de

$\text{Co}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ácido oléico e éter difenílico. A mistura reacional foi aquecida a 200°C sob atmosfera de nitrogênio. Então, trioctilfosfina foi adicionada. Em um frasco separado, 1,2-dodecanodiol foi dissolvido em éter difenílico seco. Esta solução foi aquecida a 80°C sob vácuo por 15 minutos e, em seguida, adicionada à mistura reacional a 200°C . Ao redor de 2 minutos houve a mudança de cor, o que evidenciou a redução do cobalto. A solução resultante foi aquecida a 250°C por 15 – 20 minutos, obtendo-se, após resfriamento e separação, nanopartículas de cobalto, na estrutura hcp, com diâmetro médio de 6 – 8 nm [26]. O tamanho de partícula foi controlado por alterações nas concentrações seletivas do precursor e estabilizador. Por exemplo, quando uma relação molar de 1:1 de acetato de cobalto e ácido oléico foi usada na síntese, nanopartículas de cobalto com diâmetros de 6 – 8 nm foram produzidas, enquanto que aumentando a concentração do surfactante por um fator de dois, produziu-se nanopartículas menores, de 3 – 6 nm de diâmetro. O tamanho de partícula pode também ser variado pelo controle do tamanho estérico dos estabilizantes fosfinas. Por exemplo, usando tributilfosfina foram geradas nanopartículas de cobalto com diâmetro de 10 – 13 nm [26, 27].

O processo poliol também foi utilizado por Cha e colaboradores [28]. Os autores efetuaram a síntese de nanopartículas de cobalto através da reação de acetilacetato de cobalto (III), $\text{Co}(\text{acac})_3$ e 1,2-hexadecanodiol. Repetiram a síntese usando ora a oleilamina e ora o ácido oléico como agentes surfactantes. O diâmetro médio das partículas foi de 30 nm sem a presença dos surfactantes, sendo que a adição de oleilamina como surfactante diminuiu o tamanho da partícula e a adição de ácido oléico alterou a forma das partículas, sem, contudo, afetar o tamanho das mesmas. O processo poliol também foi utilizado por outros autores para a obtenção de nanopartículas de cobalto [29, 30].

Nanopartículas monodispersas de cobalto foram preparadas por um método no qual foi utilizada a decomposição de um precursor organometálico sob H_2 , na presença de um polímero como estabilizador. Neste método, descrito por Respaud e colaboradores [31], a reação de $[\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})]$ com H_2 foi conduzida a 60°C na presença de polivinil-pirrolidona, com duas concentrações diferentes do organometálico de cobalto: 10 % de Co (Coll - I) e 20 % de Co (Coll - II) (% em peso). O produto formado, um material preto, foi separado por filtração e mantido novamente em THF ou CH_2Cl_2

para posterior uso. Os resultados obtidos com microscopia eletrônica de transmissão de alta resolução mostraram partículas de cobalto bem isoladas e regularmente dispersas no polímero e com distribuição de tamanho ao redor de 1,5 nm (Coll - I) e 2,0 nm (Coll - II) [31].

Uma reação semelhante usando o precursor organometálico $[\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})]$, todavia, com o reagente hidreto de diisobutil-alumínio foi descrita por Margeat e colaboradores [32]. Neste mesmo trabalho é descrita também a reação do hidreto de diisobutil-alumínio com outro precursor de cobalto, o $\text{Co}[\text{N}(\text{SiMe}_3)_2]_2$. Obtiveram-se nanopartículas esféricas de cobalto livres de óxido, nas três diferentes estruturas cristalinas, e com diâmetros médios da ordem de 2,5 – 3,0 nm. As diferenças nas estruturas do cobalto metálico e suas características magnéticas obtidas com cada síntese foram relacionadas aos diferentes ambientes químicos na superfície das nanopartículas obtidas.

A decomposição térmica de solução de octacarbonil de dicobalto, na presença de óxido de trioctilfosfano, foi o método empregado por Diniega e Bawendi para a obtenção de nanopartículas de cobalto com a estrutura ϵ [33]. No experimento, $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ foi dissolvido em tolueno seco sob condições de atmosfera inerte. A solução foi filtrada e transferida para uma seringa. Então, óxido de trioctilfosfano foi colocado em um frasco e seco sob vácuo a 150°C . A temperatura foi abaixada para 50°C e, em seguida, a solução de $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ foi rapidamente injetada no frasco sob agitação vigorosa e sob atmosfera de nitrogênio. A temperatura foi levemente elevada a 110°C . O produto formado foi isolado, lavado com hexano e metanol e seco sob nitrogênio [33]. A difração de raios X mostrou picos atribuídos à estrutura ϵ do cobalto. Esta estrutura é cúbica (grupo espacial P4_32) com parâmetro de célula unitária, a , igual a 60,97 nm. A unidade de célula unitária é similar àquela da fase β do manganês e consiste de 20 átomos de carbono, os quais são divididos em dois tipos: doze átomos do tipo I e oito átomos do tipo II. Estes dois tipos de átomos diferem entre si pelo local de coordenação. É interessante notar que o mesmo método de preparação sem o óxido de trioctilfosfano conduz à obtenção da fase fcc do cobalto.

Um método similar ao descrito no parágrafo anterior foi utilizado para obter nanocristais ϵ de cobalto [34]. A pirólise de octacarbonil de dicobalto em 1,2-diclorobenzeno, na presença de surfactantes tais como o ácido oléico e óxidos fosfônicos, em atmosfera inerte, propiciou a obtenção de nanopartí-

culas esféricas de cobalto com tamanho variando de 3 a 17 nm. A distribuição do tamanho e a forma dos nanocristais foram controladas pela variação dos surfactantes [34].

Em outro procedimento, também utilizando a decomposição térmica do precursor metálico $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$, Schällibaum e colaboradores obtiveram nanopartículas de cobalto, com a estrutura ϵ , em grande escala [35]. Na síntese, tal qual em [33], $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ foi dissolvido em tolueno. Então, ácido oléico foi adicionado a solução sob agitação e, na sequência, adicionou-se tolueno contendo óxido de trioctilfosfina. O sistema foi mantido sob atmosfera inerte e submetido a refluxo por 3 horas. Ao final, uma solução coloidal preta foi obtida. Para remover o excesso de ácido oléico e de óxido de trioctilfosfina foi adicionado etanol, ocorrendo a precipitação das nanopartículas de cobalto. O precipitado foi imediatamente redisperso em hexano. O procedimento com a adição de etanol foi repetido uma segunda vez no sobrenadante resultante da primeira adição. Igualmente, o precipitado formado foi redisperso em tolueno. As nanopartículas de ϵ -cobalto apresentaram diâmetro médio de 4,5 nm e comportamento superparamagnético [35].

As sínteses de nanopartículas de cobalto através da decomposição térmica do $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ foram refeitas por Shukla e colaboradores usando vários agentes surfactantes [36]. O procedimento sintético é análogo ao descrito em [33] e anteriormente mencionado. Os autores utilizaram uma mistura binária de surfactantes em cada síntese, a saber: octadecilamina e óxido de trifetilfosfina; octadecilamina e tridodecilamina; didodecilamina e óxido de trifetilfosfina e ácido 11-aminoundecanóico e óxido de trifetilfosfina.

A decomposição térmica do $[\text{Co}_2(\text{CO})_8]$ também foi o ponto de partida para outras sínteses utilizando outros reagentes, a saber: ácido oléico e dioctilamina [37], ácido oléico [38], resorcinareno [39], trifetilfosfina e ácido oléico [40], ácido eláidico e ácido esteárico [41]. Como se trata de decomposição térmica, a temperatura exerceu papel importante para a obtenção das formas das partículas. As propriedades dos surfactantes amins exerceram influência nas formas das nanopartículas e conduziram à formação, principalmente, de partículas esféricas. Os resultados sugeriram que o uso do óxido de trifetilfosfina como o segundo surfactante propiciou a obtenção de nanopartículas monodispersas [36]. A decomposição térmica do $(\text{Co}(\text{HCOO})_2)$ foi também utilizada por Matveev e colaboradores para a obtenção de nanopartículas de

cobalto com a estrutura hcp dispersas em politetrafluoroetileno [42].

A decomposição térmica do octacarbonil de dicobalto em tolueno também foi empregada por Yin e Wang, entretanto, utilizando o bis(2-etilexil)sulfocinato de sódio como agente para evitar a aglomeração das partículas. O procedimento sintético foi repetido aplicando um campo magnético externo à mistura reacional para promover a separação das nanopartículas de cobalto dos seus respectivos óxidos (CoO e Co_3O_4). Para o primeiro procedimento sintético, os resultados de microscopia eletrônica de transmissão mostraram que as nanopartículas de cobalto apresentaram diâmetro médio de 4 - 9 nm e estruturas cristalinas do tipo fcc. Com a aplicação do campo magnético externo, partículas com diâmetro médio de 8 nm e estruturas fcc foram obtidas [43]. A decomposição térmica de precursores de cobalto foi, inclusive, utilizada por outros autores, como por exemplo, em [44-50].

O emprego de polímeros e co-polímeros como agentes surfactantes na decomposição térmica do octacarbonil de dicobalto para a obtenção de nanopartículas de cobalto foram descritas [51-55]. Os polímeros e co-polímeros substituem o óxido de trifetilfosfina e o ácido oléico nos procedimentos sintéticos. De um modo geral, nanopartículas de cobalto com estrutura hcc e diâmetro médio de 20 nm foram obtidas.

Micelas reversas, as quais são gotas de água em óleo estabilizadas por uma monocamada de surfactante, têm sido aplicadas como reatores em nanoescala para a síntese de várias nanopartículas. Chen e colaboradores reportaram a síntese de partículas relativamente uniformes de cobalto pela redução de sais de cobalto dentro das micelas reversas. A obtenção das nanopartículas foi efetuada pela redução de CoCl_2 com NaBH_4 na micela reversa formada usando brometo de dimetildodecilamônio. Colisões seguidas pelas mudanças entre as gotas micelares induziram a reação química de íons de cobalto e borohidreto de sódio para gerar nanopartículas de cobalto com diâmetro médio da ordem de 1,8–4,4 nm [56].

O uso de cloreto de cobalto (II) também foi empregado por Petit, Taleb e Pileni para a obtenção de cobalto com a estrutura fcc, através do método de micelas reversas. O procedimento empregou princípios da química coloidal para a obtenção das nanopartículas que apresentaram diâmetros da ordem de 13 a 20 nm [57]. A síntese envolveu uma mistura de uma solução contendo bis(2-etil-

hexil)sufosuccinato de sódio com uma solução contendo bis(2-etil-hexil)sufosuccinato de sódio e borohidreto de sódio, NaBH_4 , como agente redutor. O procedimento sintético foi conduzido na presença de ar. As partículas coloidais obtidas foram extraídas, sob atmosfera inerte, pela ligação covalente de trioctilfosfina e, então, redispersas em piridina. Este último procedimento produz nanopartículas de cobalto estáveis ao ar por, aproximadamente, uma semana [57].

Também o cloreto de cobalto (II) foi utilizado como precursor de cobalto na síntese elaborada por Lin e colaboradores. No método, denominado de “crescimento de germe”, diferentes tamanhos de nanopartículas de cobalto foram obtidos em micelas reversas. A síntese envolveu a dissolução de brometo de didodecildimetilamônio e cloreto de cobalto (II) em tolueno. Na sequência, borohidreto de sódio (em solução aquosa) foi adicionado à solução para promover a redução dos íons de cobalto. A relação de $[\text{Co}^{2+}]:[\text{BH}_4^-]$ foi de 1:3. A reação foi promovida em atmosfera inerte e à temperatura abaixo de 15°C . Os diâmetros das nanopartículas foram da ordem de 3,8 – 8,8 nm [58].

Salavati – Niasari e colaboradores descreveram um método para a obtenção de nanopartículas de cobalto usando o complexo [bis(2-hidroxiacetofenato)cobalto (II)], $[\text{Co}(\text{aceto})_2]$, a partir da reação de termodecomposição. No experimento, o complexo $[\text{Co}(\text{aceto})_2]$ foi dissolvido em oleilamina a 140°C e a mistura foi adicionada à trifenilfosfina sob vigorosa agitação e sob atmosfera de argônio. A mistura reacional foi mantida a 240°C por 1 hora. Após o resfriamento à temperatura ambiente, adicionou-se etanol anidro e efetuou-se a centrifugação. As nanopartículas foram redispersas em tolueno ou hexano. O difratograma de raios X mostrou picos atribuídos à fase hcp do cobalto metálico. O diâmetro médio de partícula, estimado usando a equação de Scherrer, foi da ordem de 13 nm. Já a análise dos resultados fornecidos pela técnica de microscopia eletrônica de transmissão revelou um tamanho médio da ordem de 20 nm. As nanopartículas de cobalto exibem comportamento superparamagnético à temperatura ambiente. Após a exposição das nanopartículas ao ar, houve a formação de Co_3O_4 . Os autores afirmaram que o método proposto é não tóxico, de fácil execução e barato para a obtenção de nanopartículas de cobalto que são estáveis ao ar quando em solventes como hexano e tolueno [59].

Wang e colaboradores produziram nanocristais de cobalto a partir da irradiação γ da mistura

reacional homogênea e sob a aplicação de um campo magnético estático. No procedimento, acetato de sódio foi adicionado a uma solução de cloreto de cobalto (0,1 M; 0,05 M, respectivamente). Adicionou-se álcool isopropílico à mistura para limpar radicais oxidativos, tal como radicais hidroxilas, os quais são produzidos durante a irradiação. Então, a solução foi mantida sob condições redutoras. Gás nitrogênio foi borbulhado na solução final durante uma hora para promover a eliminação do oxigênio e, então, a solução foi irradiada com raios γ do ^{60}Co durante 27 horas. Ao término da irradiação, a solução foi colocada sob um campo magnético externo. Os precipitados produzidos foram lavados com água destilada e acetona por várias vezes para remover as impurezas e finalmente secos em ar. O procedimento foi repetido, todavia, sem a utilização do campo magnético externo. A difração de raios X mostrou picos atribuídos à estrutura hcp em ambos os casos, todavia, a mostra preparada com a presença do campo magnético apresentou nanocristais organizados longitudinalmente. Para esta mesma amostra, a microscopia eletrônica de transmissão mostrou que a morfologia é de nanofios, enquanto que a amostra preparada sem o campo magnético apresentou nanopartículas com formas irregulares [60].

O procedimento descrito por Liu e colaboradores envolveu a mistura de duas soluções. Uma, foi preparada pela dissolução de nitrato de cobalto em etanol anidro e a outra, pela dissolução de hidróxido de sódio em hidrato de hidrazina e etanol anidro. As duas soluções foram misturadas e mantidas sob agitação a 50°C , sendo obtidas partículas verde – escuras. O procedimento foi repetido utilizando – se diferentes alcoóis, a saber: metanol, etilenoglicol e 1,2-propanodiol. Para cada solução alcoólica, a reação também foi efetuada a outras três diferentes temperaturas: 0°C , 25°C e 80°C . Os autores efetuaram, ainda, a mesma reação com diferentes concentrações de nitrato (a 50°C e 10 mL de hidrato de hidrazina) e, em outros casos, variando a concentração de hidrato de hidrazina (5, 10, 20 e 30 mL) [61]. Os resultados de difração de raios X, das nanopartículas obtidas com concentração de nitrato de cobalto de $0,05\text{ g mL}^{-1}$ e com o volume de hidrazina de 20 mL, mostraram três estruturas cristalinas: hcc, hcp e ϵ . Não foram observados picos de óxidos de cobalto ou de $\text{Co}(\text{OH})_2$. Os resultados da microscopia eletrônica de varredura das amostras obtidas a diferentes temperaturas apresentaram várias morfologias para as nanopartículas. Os resultados de difração de raios X com a variação da concentração de

nitrito de cobalto mostraram que altas concentrações deste sal favorecem a formação da estrutura fcc para o cobalto metálico. A estrutura pura de hcp do cobalto metálico foi obtida com os volumes de 10 e 20 mL de hidrato de hidrazina. Nanopartículas de cobalto esféricas foram obtidas utilizando – se etilenoglicol e 1,2-propanodiol [61].

Utilizando uma solução de hidrazina à temperatura ambiente e sob o efeito de um campo magnético, Jia e colaboradores obtiveram partículas de cobalto na forma de nanofios com diâmetro médio de 80 nm e comprimento de 10 μ m [62].

Em um método semelhante ao descrito nos dois parágrafos precedentes, Guo e colaboradores obtiveram nanopartículas de cobalto nas estruturas hcc e hcp [63]. A redução por hidrato de hidrazina também foi o ponto de partida para a síntese de Zhu e colaboradores usando o agente quelante 2-hidroxi-4-(1-metilheptil) e cloreto de cobalto (II) [64].

A utilização do $\text{Co}(\eta^3\text{-C}_8\text{H}_{13})(\eta^4\text{-C}_8\text{H}_{12})$ como precursor organometálico de cobalto foi a base do procedimento descrito por Osuna e colaboradores. A reação envolveu a dissolução do precursor de cobalto em THF sob H_2 (3 bar) e na presença de polivinilpirrolidona. A reação foi conduzida em três temperaturas diferentes: 0, 20 e 60 °C. A proporção de cobalto foi de 10 % em massa em relação a de polivinilpirrolidona. Após o borbulhamento de hidrogênio por 10 horas, pentano foi adicionado à mistura reacional para precipitar as partículas, as quais foram redispersas em THF ou CH_2Cl_2 para posterior caracterização. Obtiveram – se nanopartículas de cobalto na estrutura fcc e com diâmetro médio de 1 nm (0 °C) e 1,5 nm (20 e 60 °C) [65].

A utilização de dimetilformamida (DMF) como solvente e como agente redutor para a obtenção de nanopartículas de cobalto com a estrutura hcp e estreita distribuição de tamanho foi descrita por Zhang e colaboradores. Na síntese, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ é solubilizado em DMF contendo $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (28% em massa) e a mistura reacional é aquecida a 160 °C por 12 horas [66].

Lu e colaboradores efetuaram a síntese de pós ultrafinos de cobalto usando a técnica de evaporação de plasma ativado. Encontraram que as condições adequadas para se obter cobalto com as duas estruturas cristalinas hcp e hcc foram: 50 – 60% de pressão parcial do hidrogênio para a pressão total de gás e 240 – 250 A para corrente do arco na pressão de gás quase atmosférica [67].

Aproveitando a versatilidade química e a estrutura regular de dendrímeros, Wu e colaborado-

res descreveram um procedimento sintético empregando essas moléculas para a obtenção de nanopartículas de cobalto. Justificaram o uso dessas macromoléculas pelo fato das mesmas, de modo diferente de polímeros, apresentarem pesos moleculares e tamanhos definidos e poderem, dentro de seus sítios de coordenação, incorporar substratos pequenos, como é o caso do cobalto. As sínteses envolveram a utilização de dendrímeros com pesos moleculares diferentes. Basicamente, determinada quantidade de cloreto de cobalto (II) foi dissolvida em água deionizada e a solução foi gotejada a outra solução aquosa contendo a macromolécula de dendrímero. A mistura reacional foi submetida à agitação por duas horas e, então, uma solução aquosa de borohidreto de sódio foi adicionada para promover a redução dos íons de cobalto (II). O sólido foi filtrado, lavado com água deionizada e seco sob vácuo. Os resultados mostraram que na medida em que os pesos moleculares dos dendrímeros aumentaram, o diâmetro médio das partículas de cobalto elevou-se de 4,5, 5,6, 7,1 a 9,4 nm (para os pesos moleculares de 2.388, 5.124, 10.596, 21.540, respectivamente). Os autores argumentaram que embora a existência dos dendrímeros pudesse prevenir a oxidação do cobalto metálico, a proteção foi deficiente e a oxidação das superfícies das nanopartículas de cobalto metálico pôde ter ocorrido durante o procedimento sintético ou durante a caracterização dos materiais. As medidas magnéticas mostraram que os materiais apresentam superparamagnetismo à temperatura ambiente e posteriores estudos sugeriram que os materiais obtidos podem vir a ser utilizados em imagem de ressonância magnética [68].

Li & Liao obtiveram nanopartículas de cobalto ultrafinas pelo método orgânico – coloidal, no qual, formato de sódio agiu como agente redutor, o etilenoglicol foi utilizado como solvente, e o citrato de sódio atuou tanto como agente complexante quanto como agente estabilizante. O diâmetro médio das partículas foi de 2 nm (com uma fina distribuição de tamanho) e a estrutura obtida foi hcp [69].

A síntese de nanopartículas de cobalto através da condensação de vapor químico foi descrita [70]. O precursor metálico foi o octacarbonil de dicobalto. Foram obtidas nanopartículas com várias morfologias e tamanhos através do uso dos gases de arraste Ar e He. Os pós de cobalto produzidos em atmosfera de argônio apresentaram-se na forma de esferas e com as estruturas hcc e hcp. Já as nanopartículas obtidas com o He sendo o gás de arraste apresentaram-se na forma de núcleos finos de cobalto distribuídos

homogeneamente em uma massa de óxido de cobalto e somente a estrutura fcc foi encontrada [70].

O desenvolvimento de um gerador de nanopartículas e a caracterização de nanopartículas de cobalto foram realizados por Landi. O gerador de nanopartículas foi uma adaptação ao sistema de "magnetron sputtering". As nanopartículas foram produzidas e codepositadas em matrizes dielétricas ou metálicas. A caracterização das nanopartículas de cobalto mostrou que o material obtido apresenta diâmetro médio de 10 nm com razoável dispersão [71].

Empregando de uma metodologia de síntese diferente, Reddy e colaboradores descreveram a obtenção de cobalto e do seu óxido empregando a eletroquímica. O processo de eletrólise foi investigado por voltametria cíclica que mostrou a formação de átomos de cobalto reduzidos, seguida pela formação de clusters. A redução eletroquímica de cátions de cobalto na presença de sais de tetra – alquilamônio produziu clusters metálicos estabilizados que não puderam ser oxidados reversivelmente durante o procedimento de voltametria cíclica. Uma posterior exposição do material ao oxigênio produziu nanopartículas de óxido de cobalto estabilizadas por sais de amônio [72].

Discussão

O princípio básico das sínteses químicas de nanopartículas de cobalto é iniciar a reação e controlar a nucleação e o crescimento das partículas. Este processo pode ser obtido pela condução dentro de ambiente confinado ou controlando o processo da reação através da dinâmica dos grupos que se ligam às superfícies dos materiais. Embora existam várias metodologias, duas aproximações gerais são mais utilizadas na obtenção de colóides estáveis com razoável dispersão de tamanho. Sínteses baseadas em micro-emulsão são comumente conduzidas a baixas temperaturas. Assim, possuem atrativos do ponto de vista industrial, contudo, sofrem a desvantagem de que as partículas são muitas vezes menos cristalinas e muito mais polidispersas por causa da lenta velocidade de nucleação. De outro modo, as sínteses baseadas em precursores organometálicos têm sido adaptadas para a obtenção de nanopartículas tanto com boa cristalinidade quanto dispersão. Estes métodos envolvem altas temperaturas de decomposição dos organometálicos contendo cobalto no estado de oxidação zero ou a redução de sais de cobalto em solventes em ebulição

na presença de agentes estabilizantes. As altas temperaturas facilitam a remoção dos defeitos de cristalinidade e resultam em nanopartículas magnéticas de alta qualidade.

As sínteses de nanopartículas magnéticas de cobalto vêm sendo realizadas com sucesso através de redução química por lítio, hidroboreto, decomposição de compostos organometálicos em solventes orgânicos na presença de estabilizadores tais como ácidos em combinação com aminas orgânicas ou fosfanos, polímeros ou surfactantes, bem como por meios eletroquímicos. Os ácidos agem como compostos estabilizantes enquanto que as aminas ou fosfanos controlam o crescimento da partícula. Surfactantes podem ser usados como estabilizantes para nanomateriais dispersos em solventes orgânicos ou como compostos formando micelas estáveis em sistemas heterogêneos água – óleo, por exemplo, dimetildodecilamônio. Outros surfactantes, por exemplo, bis(2-etil-hexil)sufosuccinato, formam uma emulsão estável em solventes hidrofóbicos (micelas reversíveis).

Metodologias usando vias químicas podem ser amplamente classificadas em co-precipitação e redução química, os quais podem ser conduzidos com técnicas tradicionais ou em processos microfluídicos. Entretanto, o desafio continua ser o controle do tamanho, distribuição do tamanho, forma, estrutura cristalina e modificações na superfície das nanopartículas. Estes diferentes parâmetros afetam ambas as propriedades físicas e químicas, tais como as propriedades elétricas, ópticas e magnéticas. Os parâmetros chave que determinam o tamanho das nanopartículas em sínteses químicas são a proporção do estabilizante – surfactante para o precursor metálico, natureza química do surfactante e o controle da cinética da reação através da rápida nucleação seguida pelo crescimento dos cristais. Por outro lado, muitos esforços têm sido realizados para controlar as estruturas das nanopartículas. O controle sobre as estruturas é importante em sínteses de materiais nanoestruturados porque as propriedades físicas e químicas também dependem diretamente da estrutura cristalina. Isto é muito importante quando existem várias estruturas cristalinas com pequenas diferenças de energia, como é o caso do cobalto em que três estruturas cristalinas são conhecidas.

Do exposto neste trabalho, pode ser constatado que a maioria das preparações envolve as reações de decomposições térmicas pelo motivo supra mencionado. As reações que envolvem macromoléculas (como por exemplo, os dendrímeros) visam

estabilizar o cobalto através da interação deste com âquelas. Os dendrímeros oferecem uma "cavidade" em suas estruturas que possibilitam a estabilização do cobalto. Pode-se dizer que a visualização da química com dendrímeros está para o cobalto assim como os criptatos estão para os metais alcalinos (na química de entidades de coordenação). A estabilização das nanopartículas de cobalto é importante devido à facilidade com que o cobalto se oxida, principalmente quando na forma de nanopartículas.

As sínteses precisam envolver agentes redutores. Acreditamos que a opção por agentes redutores mais brandos possa ser uma alternativa para a obtenção de nanopartículas com estreita distribuição de tamanho em decorrência da velocidade da reação de oxidação-redução.

Concernente a métodos que visem ser empregados industrialmente, é preciso que se mencione que a toxicidade dos solventes, dos ligantes e dos precursores são uma realidade que necessita ser considerada com cuidado. Tanto melhor a síntese quanto menos tóxicos forem as substâncias envolvidas para a sua execução. Isto não somente referente ao manuseio dos compostos, mas, inclusive, no que se refere ao descarte dos subprodutos das reações tendo em vista a preocupação com o meio ambiente. Tratar resíduo custa e encarece o produto final.

Apesar de diversos métodos sintéticos terem sido desenvolvidos, não há nenhum método de síntese que forneça uma possibilidade para preparar nanopartículas de cobalto sem que se recorra à variação significativa de circunstâncias experimentais ou de outras propriedades. Isto porque, de um modo geral, são raros os exemplos em que não se obtém nanopartículas esféricas. Além disso, a estrutura cristalina do cobalto é de fundamental importância e, nesse sentido, as preparações que conduzam a uma mistura de estruturas cristalinas levam desvantagem em comparação com os procedimentos que produzem somente uma estrutura. Outro fator importante é a distribuição das nanopartículas. A questão neste caso é que será raro obter nanopartículas com um tamanho homogêneo. Obtém-se na verdade uma distribuição de tamanhos, que, pode-se dizer, é uma distribuição gaussiana. Quanto mais estreita for a distribuição, melhor. Todavia, um método preparatório que permita obter sempre a mesma distribuição de partículas é difícil, o que acarreta dificuldades concernentes à sua aplicação em larga escala.

Embora os meios eletroquímicos possam ser utilizados para a obtenção de materiais de cobalto

nanoestruturados, acredita-se que um melhor controle das variáveis acima mencionadas pode ser feito satisfatoriamente através de rotas sintéticas via redução química que, inclusive, podem permitir a obtenção de nanopartículas em grande quantidade, o que é importante do ponto de vista de aplicação tecnológica.

Salienta-se aqui que o cobalto apresenta, em detrimento de sua alta susceptibilidade magnética, outras propriedades indesejáveis: oxida-se facilmente em condições ambientes (o que compromete seu uso em aplicações biomédicas e em gravações de dados) e é muito tóxico ao organismo humano (o que impede seu uso em aplicações *in vivo*). Assim, a superfície de uma nanopartícula de cobalto precisa ser modificada com outro tipo de material. Para a finalidade de cobrir a superfície do cobalto, o ouro é uma substância ideal, pois este metal é estável em condições ambientes (estabilidade que diminui na medida em que o tamanho das partículas de ouro diminui) e pode ser usado para estudos *in vivo*. Também, o ouro é o material nanoparticulado mais explorado e é comumente usado para efetuar ancoragens biomoleculares.

Outros metais podem atuar como escudo para o cobalto e, assim, obter sistemas com aplicações particulares, principalmente em processos catalíticos *in vitro*. É o caso, por exemplo, da platina, prata e do cobre.

De modo análogo ao ouro, a sílica pode atuar como escudo para o cobalto, evitando sua oxidação e propiciando a formação de um material que pode possuir aplicações biológicas.

Considerações Finais

Apesar de diversos métodos sintéticos terem sido desenvolvidos, não há nenhum método de síntese que forneça uma possibilidade para preparar nanopartículas de cobalto sem que se recorra à variação significativa de circunstâncias experimentais. Os métodos de sínteses através de redução química são mais promissores na obtenção de nanopartículas de cobalto, pois podem permitir a obtenção de nanocristais com propriedades e em quantidades adequadas para o emprego em nanotecnologia.

Agradecimentos

CAPES, FAPESP e CNPq.

Abstract: The development of nanoparticles has been intensively pursued because of their technological importance. The magnetic nanoparticulate materials exhibit a series of interesting properties between which are mentioned the electrical, optical, magnetic and chemical properties. Magnetic nanostructures can be used in microelectronic and in medicine as in: magnetic memory storage, magnetic transport of biochemical complexes, magnetic resonance imaging, among others. The magnetic properties of nanoparticles there are very sensitive to its size and form. In this direction, many efforts they have been carried through with the intention of to control the form and distribution of the size of the nanoparticles. In the last few decades nanoparticles constituted by iron oxides had been studied. However, more recently, the focus of the researches has come back to others transitions metals. Amongst these, the cobalt comes being investigated due to its high magnetic susceptibility. In this context, the present article has the aim of to presents and to effect a comparative analysis of the more significant synthetic ways utilized in the present moment to obtain cobalt nanoparticles.

Keywords: Nanoparticles, cobalt. .

Referências

- [1] Y-w Jun, J-s Choi, J. Cheon, Chem. Commun. (12) (2007) 1203.
- [2] M. Giersig, M. Hilgendorff, Eur. J. Inorg. Chem. (8) (2005) 3571.
- [3] Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson, J. Phys. D: Appl. Phys. 36 (13) (2003) R167.
- [4] T. Hyeon, Chem. Commun. (8) (2003) 927.
- [5] A. Hutten, D. Sudfeld, I. Ennen, G. Reiss, W. Hachmann, U. Heinzmann, K. Wojczykowski, P. Jutzi, W. Saikaly, G. Thomas, J. Biotechnol. 112 (1-2) (2004) 47.
- [6] S. Kajiwara, S. Ohno, K. Honna, M. Uda, Philosoph. Magaz. Lett. 55 (5) (1987) 215.
- [7] C. M. Lieber, Solid State Commun. 107 (11) (1998) 607.
- [8] S. J. Son, J. Reichel, B. He, M. Schuchman, S. B. Lee, J. Am. Chem. Soc. 127 (20) (2005) 7316.
- [9] A. Taleb, C. Petit, M. P. Pileni, J. Phys. Chem. B. 102 (12) (1998) 2214.
- [10] T. Hyeon, Chem. Commun. (8) (2003) 927.
- [11] J. M. Buriak, Science 304 (5671) (2004) 692.
- [12] S. Kapoor, H. G. Salunke, B. M. Pande, S. K. Kulshreshtha, J. P. Mittal, Mater. Res. Bull. 33 (10) (1998) 1555.
- [13] S. P. Gubin, Y. A. Koksharov, Inorg. Mater. 38 (11) (2002) 1085.
- [14] A. Hütten, D. Sudfeld, I. Ennen, G. Reiss, W. Hachmann, U. Heinzmann, K. Wojczykowski, P. Jutzi, W. Saikaly, G. Thomas, J. Biotechnol. 112 (1-2) (2004) 47.
- [15] R. D. Gomez, M. C. Shih, R. M. H. New, R. F. W. Pease, R. L. White, J. Appl. Phys. 80 (1) (1996) 342.
- [16] L. Chitu, Y. Chushkin, S. Luby, E. Majkova, A. Satka, J. Ivan, L. Smrcek, A. Buchal, M. Giersig, M. Hilgendorff, Mater. Science Eng. C27 (1) (2007) 23.
- [17] V. F. Puentes, D. Zanchet, C. K. Erdonmez, A. P. Alivisatos, J. Am. Chem. Soc. 124 (43) (2002) 12874.
- [18] Powder diffraction file PDF -2 database sets 1-44, 1994.
- [19] A. W. Hull, Phys. Rev. 17 (1921) 571.
- [20] E. Krainer, J. Robitich, Z. Metallkd. 65 (11) (1974) 729.
- [21] S. Kajawara, S. Ohno, K. Honna, M. Uda, Philosoph. Mag. Lett. 55 (5) (1987) 215.
- [22] D. L. Leslie – Pelecky, M. Bonder, T. Martin, E. M. Kirpatrick, Y. Liu, X. Q. Zhang, S. H. Kim, R. D. Rieke, Chem. Mater. 10 (11) (1998) 3732.
- [23] Y. Song, H. Modrow, L. L. Henry, C. K. Saw, E. E. Doomes, V. Palshin, J. Hornes, C. S. S. R. Kumar, Chem. Mater. 18 (12) (2006) 2817.
- [24] S. Sun, C. B. Murray, J. Appl. Phys. 85 (8) (1999) 4325.
- [25] F. Dumestre, B. Chaudret, C. Amiens, M-C. Fromen, M-J. Casanove, P. Renaud, P. Zurcher, Angew. Chem. Int. Ed. 41 (22) (2002) 4286.
- [26] C. B. Murray, S. Sun, H. Doyle, T. Betley, MRS Bull. 26 (12) (2001) 985.
- [27] C. B. Murray, S. Sun, W. Gaschler, H. Doyle, T. A. Bettley, C. R. Kagan, IBM J. Res. & Dev. 45 (1) (2001) 47.
- [28] S. I. Cha, C. B. Mo, K. T. K., S. H. Hong, J. Mater. Res. 20 (8) (2005) 2148.
- [29] R. J. Joseyphus, T. Matsumoto, H. Takahashi, D. Kodama, D. Tohji, B. Jeyadevan, J. Solid. State Chem. 18 (7) (2007) 3008.
- [30] F. Bozon-Verduraz, F. Fiévet, J.-Y. Piquemal, R. Brayner, K. El Kabouss, Y. Soumare, G. Viau, G. Shaféev, Braz. J. Phys. 39 (1A) (2009) 134.
- [31] M. Respaud, J. M. Broto, H. Rakoto, A. R. Fert, L. Thomas, B. Barbara, M. Verelst, E. Snoeck, P. Lecante, A. Mosset, J. Osuma, T. O. Ely, C. Amiens, B. Chaudret, Phys. Rev. 57 (5) 1998 2925.
- [32] O. Margeat, C. Amiens, B. Chaudret, P. Lecante, R. E. Benfield, Chem. Mater. 17 (1) (2005) 107.
- [33] D. P. Dinega, M. G. Bawendi, Angew. Chem. Int. Ed. 38 (12) (1999) 1788.
- [34] V. F. Puentes, K. M. Krishnan, P. Alivisatos, App. Phys. Lett. 78 (15) (2001) 2187.

- [35] J. Schällibaum, F. H. Dalla Torre, W. R. Caseri, J. F. Löffler, *Nanoscale* 1 (3) (2009) 374.
- [36] N. Shukla, E. B. Svedberg, J. Ell, A. J. Roy, *Mater. Lett.* 60 (16) (2006) 1950.
- [37] Y. Bao, A. B. Pakhomov, K. Krishnan, *J. Appl. Phys.* 97 (10) (2005) 10J317.
- [38] W-W. Ma, Y. Yang, C-T Chong, A. Eggeman, S. N. Piramanayagam, T-J Zhou, T. Song, J-P Wang, *J. Appl. Phys.* 95 (11) (2004) 6801.
- [39] S. L. Tripp, S. V. Pusztay, A. E. Ribbe, A. Wei, *J. Am. Chem. Soc.* 124 (43) (2002) 7914.
- [40] H. T. Yang, Y. K. Su, C. M. Shen, T. Z. Yang, H. J. Gao, *Surf. Interface Anal.* 36 (2) (2004) 155.
- [41] Y. Lu, X. Lu, B. T. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, *J. Solid State Chem.* 181 (7) (2008) 1530.
- [42] V. V. Matveev, D. A. Baranov, G. Y. Urkov, N. G. Akatiev, I. P. Dotsenko, S. P. Gubin, *Chem. Phys. Lett.* 422 (4-6) (2006) 402.
- [43] J. S. Yin, Z. L. Wang, *NanoStructured Mater.* 11 (7) (1999) 845.
- [44] A. Y. Khodakov, *Braz. J. Phys.* 39 (1A) (2009) 171.
- [45] F. Michalek, A. Lagunas, C. Jimeno, M. A. Pericàs, *J. Mater. Chem.* 18 (39) (2008) 4692.
- [46] G. Cheng, R. D. Shull, A. R. H. Walker, *J. Magn. Magn. Mater.* 321 (10) (2009) 1351.
- [47] G. Cheng, C. L. Dennis, R. D. Shull, A. R. H. Walker, *Langmuir*, 23 (2007) 11740.
- [48] H. Bönemann, W. Brijoux, R. Brinkmann, N. Matoussevitch, N. Waldöfner, N. Palina, H. Modrow, *Inorg. Chim. Acta*, 350 (2003) 617.
- [49] H. D. Jang, D. W. Hwang, D. P. Kim, H. C. Kim, B. Y. Lee, I. B. Jeong, *Mater. Res. Bull.* 39 (1) (2004) 63.
- [50] E. Papirer, P. Horny, H. Balard, R. Anthore, C. Petipas, A. Martinet, *J. Colloid Interf. Science*, 94 (1) (1983) 207.
- [51] X. M. Lin, C. M. Sorensen, K. J. Klabunde, G. C. Hajipanayis, *J. Mater. Res.* 14 (4) (1999) 1542.
- [52] O. A. Platonova, L. M. Bronstein, S. P. Yanovskaya, E. S. Obolonkova, P. M. Valetsky, E. Wenz, M. Antonietti, *Colloid. Polym. Sci.* 275 (5) (1997) 426.
- [53] M. Rutnakornpituk, M. S. Thompson, L. A. Harris, K. E. Farner, A. R. Esker, J. S. Riffe, J. Conolly, T. G. St. Pierre, *Polymer* 43 (8) (2002) 2337.
- [54] E. H. Tadd, J. Bradley, R. Tannenbaum, *Langmuir* 18 (6) (2002) 2378.
- [55] F. S. Diana, S-H. Lee, P. M. Petroff, E. J. Kramer, *Nano Lett.* 3 (7) (2003) 891.
- [56] G. Cheng, D. Romero, G. T. Fraser, A. R. H. Walker, *Langmuir* 21 (26) (2005) 12055.
- [57] C. Petit, A. Taleb, M. P. Pileni, *J. Phys. Chem. B* 103 (11) (1999) 1805. J. Legrand, C. Petit, M. P. Pileni, *J. Phys. Chem. B* 105 (24) (2001) 5643.
- [58] X. M. Lin, C. M. Sorensen, K. J. Klabunde, G. C. Hajipanayis, *J. Mater. Res.* 14 (4) (1999) 1542.
- [59] M. Salavati – Niasari, Z. Fereshteh, F. Daver, *Polyhedron* 28 (6) (2009) 1065.
- [60] F. Wang, H. Gu, Z. Zhang, *Mater. Res. Bull.* 38 (2) (2003) 347.
- [61] Z-T Liu, Z. Li, Z-W Liu, J. Lu, *Powder Technol.* 189 (3) (2009) 514.
- [62] Y. Jia, Q. Chen, M. Wu, *Int. J. Modern Phys.* 19 (15-17) (2005) 2728.
- [63] F. Guo, H. Zheng, Z. Yang, Y. Qian, *Mater. Lett.* 56 (6) (2002) 906.
- [64] Y. Zhu, Q. Yang, H. Zheng, W. Yu, Y. Qian, *Mater. Chem. Phys.* 91 (2-3) (2005) 293.
- [65] J. Osuna, D. Caro, C. Amiens, B. Chaudret, E. Snoeck, M. Respaud, J-M Broto, A. Fert, *J. Phys. Chem.* 100 (35) (1996) 14571.
- [66] Z. Zhang, X. Chen, X. Zhang, C. Shi, *Solid State Commun.* 139 (8) (2006) 403.
- [67] J. Lu, H. Yang, S. Yu, G. Zou, *Mater. Chem. Phys.* 45 (3) (1996) 197.
- [68] H.-X. Wu, C.-X. Zhang, L. Jin, H. Yang, S.-P. Yang, *Mater. Chem. Rev. in press* (2010), doi: 10.1016/j.matchemphys.2010.01.49.
- [69] H. Li, S. Liao, *Solid State Commun.* 145 (3) (2008) 118.
- [70] X. L. Dong, C. J. Choi, B. K. Kim, *Scripta Materialia* 47 (12) (2002) 857.
- [71] Landi, L. T. "Desenvolvimento de um gerador de nanopartículas e caracterização de nanopartículas de cobalto". Dissertação de Mestrado. Instituto de Física – USP, 2009.
- [72] E. P. Reddy, T. C. Rojas, J. C. Sánchez-Lopez, M. Dominguez, E. Róldan, J. Cámpora, P. Palma, A. Fernández, *NanoStructured Mater.* 12 (1) (1999) 61.

NANOCOMPÓSITOS MAGNÉTICOS: POTENCIALIDADES DE APLICAÇÕES EM BIOMEDICINA

Karynne Cristina de Souza e Neley Della Santana Mohallem*

Departamento de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627,
31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Edésia Martins Barros de Sousa

Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear/Comissão Nacional de Energia Nuclear,
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, 31270-901 Belo Horizonte – MG, Brasil

Recebido em 21/9/10; aceito em 17/2/11; publicado na web em 5/5/11

MAGNETIC NANOCOMPOSITES: POTENTIAL FOR APPLICATIONS IN BIOMEDICINE. The synthesis of magnetic materials such as nanostructured iron oxide has been intensively researched due to their broad applications in biomedicine. As these nanoparticles have high specific surface area, they are very reactive and can aggregate easily, and biodegrade when exposed to biological systems. Mesoporous silica is often employed as support matrix to protect the magnetic functional component, avoiding undesirable effects. In this context, this review describes various syntheses of silica-coated iron oxide nanoparticles, and their use in applications such as bioseparation, magnetic resonance imaging, hyperthermia and drug delivery systems showing the growing interest of these materials in biological area.

Keywords: magnetic nanoparticles; mesoporous silica; bioapplications.

INTRODUÇÃO

Biomateriais são materiais sintéticos ou naturais usados para substituir partes individuais do organismo ou utilizados em dispositivos médicos que ficam em contato com sistemas biológicos, objetivando o tratamento ou substituição de tecidos individuais, órgãos inteiros ou algumas funções exercidas por eles.¹ Outras definições incluem: “uma substância sistemática- e farmacologicamente inerte projetada para implantação ou incorporação em sistemas vivos”, ou “materiais de origem sintética ou natural em contacto com tecido, sangue e líquidos biológicos e destinados para uso em aplicações protéticas, diagnósticas, terapêuticas e de armazenamento, sem afetar o organismo vivo e seus componentes”. Podem também ser definidos como “toda a substância (à exceção de fármacos) ou combinação de substâncias, sintéticas ou naturais, que podem ser usadas por qualquer período de tempo, no conjunto ou como uma parte de um sistema que trate, aumente, ou substitua tecidos, órgãos, ou funções do corpo”.²

Vários tipos de materiais têm sido objeto de estudo para aplicações biológicas, cujo critério de seleção é baseado principalmente na aplicação a que se destinam. Estes materiais podem ser formados por polímeros sintéticos, metais, cerâmicas, macromoléculas naturais (ex.: biopolímeros) e compósitos que são manufaturados ou processados para se adequarem à utilização em dispositivos médicos que entram em contato íntimo com proteínas, células, tecidos, órgãos e sistemas orgânicos.

A combinação entre cerâmicas e polímeros tem sido muito usada nas últimas duas décadas para produzir compósitos de elevado desempenho. O grande objetivo por trás deste conceito é de se fazer uso de propriedades inerentes das entidades envolvidas, propriedades estas que estão fundamentalmente ligadas à estrutura básica destes materiais (como ligações químicas primárias e arranjo atômico). Dentro deste contexto, os materiais cerâmicos, híbridos cerâmico-

polímeros e compósitos cerâmico-cerâmicos apresentam grande versatilidade no desenvolvimento de novos materiais com aplicações biotecnológicas. Entretanto, uma das mais importantes características destes materiais é a sua aplicação em escala nanométrica para curar, diagnosticar ou prevenir doenças. A nanotecnologia biomédica, que se baseia na construção de nanopartículas puras ou na combinação de materiais inorgânicos e orgânicos, está assumindo um papel de grande importância para aplicações em diagnóstico, terapêutica, biologia molecular e bioengenharia.

Um dos materiais em destaque para aplicações biomédicas e que tem sido extensamente estudado é a sílica nanoestruturada, cuja química bem estabelecida permite a modificação de sua superfície por vários grupos funcionais como amina, tiol, carboxil e metacrilato.³ Este sistema também pode ser modificado com biomoléculas, como enzimas, proteínas e DNA, para aplicações biológicas. A superfície modificada com estas biomoléculas permite o reconhecimento específico entre as espécies livres e as imobilizadas, podendo proporcionar informações diagnósticas ou servir como um processo de separação ou purificação.⁴

Outros materiais que ganham destaque nas aplicações biológicas são as nanopartículas magnéticas. A aplicação de diferentes formas de óxido de ferro para procedimentos diagnósticos como ressonância magnética nuclear (RMN), carreador magnético de drogas e hipertermia magnética tem ganhado ampla aceitação em vários tipos de práticas, embora as aplicações terapêuticas ainda estejam sob investigação. Tais aplicações exploram as duas maiores vantagens dos óxidos de ferro: sua baixa toxicidade em seres humanos e a possibilidade de se controlar sua magnetização.^{5,6}

Neste trabalho, apresentamos os métodos de preparação de sílicas porosas utilizadas na confecção de nanocompósitos e as principais sínteses de nanocompósitos formados por óxidos magnéticos dispersos em matriz de sílica, além de suas diversas bioaplicações e efeitos no organismo, evidenciando o crescente interesse do uso destes materiais na área biológica.

*e-mail: nelcy@ufmg.br

SÍLICA POROSA: XEROGEIS E AEROGELS

O processo sol-gel⁷⁻¹⁵ permite a preparação de sílica porosa utilizada como matriz na obtenção de nanocompósitos, incluindo os nanocompósitos magnéticos, com várias aplicações biológicas. Os precursores utilizados no processo sol-gel consistem em alcóxidos metálicos que apresentam ligação do tipo metal-oxigênio-carbono ($M(OC_nO_{2n+1})_x$). A hidrólise de uma solução contendo um alcóxido de silício em um solvente orgânico, como o álcool, leva à formação de partículas com função silanol, as quais formam um sol. A condensação do grupo silanol, Si-OH, produz ligações Si-O-Si e subprodutos como H_2O ou ROH, onde R representa um grupo alquil.

Nesta fase do processo também podem ser adicionados compostos desejados para a obtenção dos compósitos magnéticos, geralmente na forma de nitratos, acetatos, etc. Em seguida é feito o vazamento em um molde onde ocorre a gelificação, que envolve o crescimento e agrupamento de unidades poliméricas para formar uma rede contínua através do líquido. Quando a rede polimérica cresce, devido às reações de condensação, as moléculas se unem para formar macromoléculas que se estendem por toda a solução. Este ponto representa a transição sol para gel. Após a formação do gel, ocorre um processo de mudanças conhecido como envelhecimento,^{7,16} onde as reações químicas que causam a gelificação continuam a ocorrer, produzindo resistência, dureza e contração na rede de sílica. O gel é então submetido à secagem, para a remoção do líquido contido em seus poros, formando o xerogel ou aerogel, dependendo do tipo de secagem utilizada. A diferença principal entre um xerogel e um aerogel está na porosidade destes materiais, que é determinada pelo método de secagem utilizado.

O xerogel é formado a partir da evaporação lenta do solvente, à pressão e temperatura ambientes, o que gera uma maior contração do material e diminuição do tamanho dos poros. O aerogel é formado a partir da secagem supercrítica, em que o gel úmido é colocado em uma autoclave onde a temperatura e pressão são elevadas acima do ponto crítico do solvente, levando à formação de materiais extremamente porosos.^{7,17-19} O princípio desta técnica é baseado no fato de que, acima de um ponto crítico de um sistema puro, não existe nenhuma descontinuidade entre a fase líquida e a fase gasosa. Assim, problemas ligados à aparição de forças capilares e interfaciais são eliminados, formando geis secos com grandes porosidades e sem trincas.

A Figura 1 mostra um esquema das diferentes estruturas dos aerogéis e xerogéis. Os aerogéis geralmente possuem grande quantidade de macroporos (diâmetros superiores a 50 nm) e apresentam altas áreas superficiais específicas, enquanto que os xerogéis geralmente possuem mesoporos (diâmetros entre 2 e 50 nm) ou microporos (diâmetros menores que 2 nm) com áreas superficiais específicas menores.¹⁹

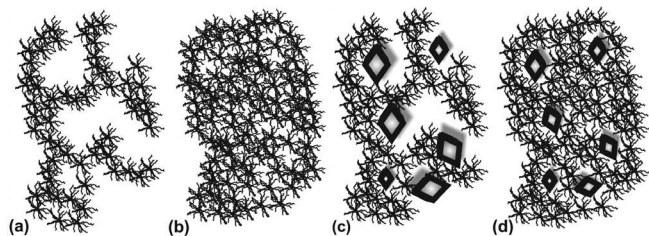


Figura 1. Esquema representativo das estruturas tipo aerogel (a), xerogel (b); em (c) e (d) a representação de um nanocompósito magnético do tipo aerogel e xerogel, respectivamente. Adaptada das refs. 7 e 19

Tanto o xerogel quanto o aerogel possuem grande porosidade e certa quantidade de água e radicais orgânicos. Um tratamento térmico posterior é usado para eliminar radicais indesejáveis e controlar a

porosidade, possibilitando o uso do material em temperaturas altas, sem que ocorram mudanças significativas na sua estrutura.⁷

SÍLICA MESOPOROSA ORDENADA

Em 1992, pesquisadores da *Mobil Corporation* descobriram a família M41S de peneiras moleculares mesoporosas silicato/aluminossilicato com estruturas de poros uniformes excepcionalmente largos.^{20,21} Estes materiais mesoporosos são preparados através do processo sol-gel^{22,23} em conjunto com agentes direcionadores responsáveis pela arquitetura do esqueleto inorgânico. Dependendo das condições de síntese, da fonte de sílica ou do tipo de surfactante usado, vários tipos de materiais mesoporosos podem ser sintetizados, pelo caminho da auto-organização cooperativa, em que a auto-organização do modelador é seguida da formação da rede mineral, depositada ao redor do substrato auto-organizado. A síntese também pode acontecer mediante formação de cristais líquidos do agente direcionador da estrutura, que serve como molde para o crescimento da rede inorgânica²⁴⁻²⁶ (Figura 2).

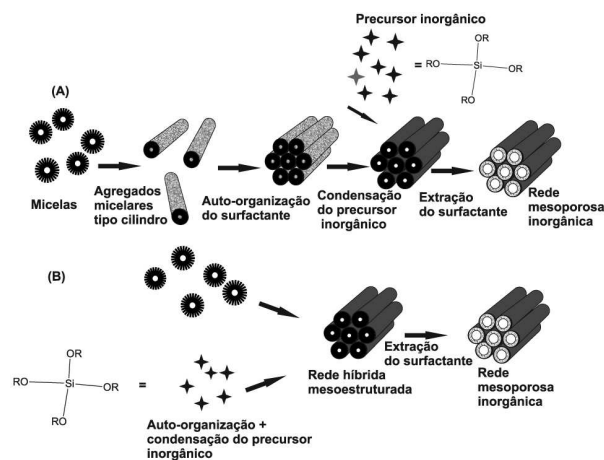


Figura 2. Esquema da formação da estrutura inorgânica mesoporosa mediada por agente direcionador de estrutura: (A) formação de cristal líquido do surfactante e (B) caminho de auto-organização cooperativa. Adaptada das refs. 24 e 25

Os agentes direcionadores podem ser surfactantes moleculares, copolímeros em bloco anfífilos, dendrímeros ou biomoléculas, que formam organizações micelares e mesofases de cristal líquido. Dependendo do agente direcionador da estrutura usado para síntese e das interações entre as espécies inorgânicas e a molécula do direcionador orgânico (*template*), os materiais mesoporosos são classificados de acordo com a Tabela 1.

O principal representante da família dos surfactantes catiônicos é o MCM-41, que significa *Mobil Composition of Matter* N° 41, que apresenta um arranjo hexagonal altamente ordenado de poros unidimensionais, com uma distribuição de tamanho de poros muito estreita e com poros variando de 20 a 100 Å.^{20,21} O material representado pela sigla AMS é um exemplo de sílica mesoporosa moldada por surfactante aniônico.

A sílica mesoporosa hexagonal é representada por HMS, e MSU é a sigla para *Michigan State University Material*. Ambos são formados a partir de interações inorgânica-orgânica não iônica, ou seja, são utilizados surfactantes neutros como aminas primárias (HMS)²⁷ e polioxietileno (MSU).²⁸ Comparados com o MCM-41, os materiais HMS e MSU apresentam área superficial e volume de poros similares, mas com distribuição de tamanho de poros um pouco mais

Tabela 1. Possíveis caminhos para a síntese de materiais mesoporosos. Adaptada da ref. 26

| Template | Interação | Condições sintéticas | | Exemplos |
|--------------------------------|--------------------------------------|--|---------------|---------------------------------------|
| Surfactante iônico | Interação direta (Iônica) | I-S ⁺ ~~~~~ | Básico | MCM-41, MCM-48, MCM-50, FSM-16 |
| | | I ⁺ S ⁻ ~~~~~ | Básico-neutro | Alumínio, ferro, óxido de chumbo, AMS |
| | Interação via intermediário (Iônica) | I ⁺ X ⁻ S ⁺ ~~~~~ | Ácido | SBA-1, SBA-2, SBA-3, |
| | | I ⁻ X ⁺ S ⁻ ~~~~~ | Básico | Alumínio, óxido de zinco |
| Surfactante não iônico | Não iônica | I ⁰ S ⁰ ~~~~~ | Ácido | HMS |
| | | I ⁰ N ⁰ ~~~~~ | Ácido | MSU, SBA-15 |
| Copolímero (ligante assistido) | Ligação covalente | I-S ~~~~~ | Ácido | Nb-TMS, Ta-TMS |
| Nanomolde | - | - | - | CMK-n |

I = espécies inorgânicas; S = surfactante iônico; N = surfactante não iônico; ^^^^^ = cadeia orgânica

ampla. A rede mesoporosa de óxido de metal de transição, cuja sigla é TMS, forma ligações covalentes entre os precursores inorgânicos e a molécula de surfactante orgânica, antes da auto-organização.

O processamento de cerâmicas com copolímeros é similar ao de moléculas de surfactante, mas em maior escala de tamanho. Um exemplo é o uso de copolímeros tribloco anfifílicos usados para direcionar a organização de espécies de sílica, resultando em uma rede de mesoporos com estrutura hexagonal e tamanho uniforme de poros de até 300 Å. Esses materiais tipo SBA (*Santa Barbara Amorphous*²⁹) são sintetizados sob condições ácidas e, subsequentemente, calcinados para formar os mesoporos da estrutura.³⁰ Um exemplo típico desses materiais é o SBA-15, que possui um arranjo hexagonal de mesoporos de aproximadamente 6,0 nm de diâmetro, maior que os poros característicos da estrutura do MCM-41, uma estreita distribuição de tamanho de poros, usualmente na faixa de 4,6 a 30 nm e áreas superficiais na faixa de 800 m² g⁻¹.

BIOCERÂMICAS MAGNÉTICAS E APLICAÇÕES BIOLÓGICAS

Diagnóstico e biosseparação

Em 1973, Robinson e colaboradores^{31,32} usaram separação magnética pela primeira vez no contexto biotecnológico. Óxidos de ferro magnéticos revestidos com sílica e, posteriormente, com celulose foram usados para imobilizar duas enzimas: -quimotripsina e -galactosina para aplicações em biorreatores. Desde então, a separação magnética se tornou uma ferramenta cada vez mais comum para separação de moléculas e células.

Jin *et al.*⁴ modificaram a superfície de partículas de sílica comercial (Aerosil 200 – Degusa-Hüls) com biomoléculas de maleimida, que são muitas vezes empregadas na conjugação de superfícies de biomoléculas que apresentam grupos tióis na superfície. As moléculas de DNA foram imobilizadas, envolvendo: a silanização da superfície do suporte sólido com APTES (aminopropiltriétoxissilano); a reação de ligação cruzada de um ligante heterobifuncional PMPI (isocianato de *p*-maleimidafenil) com o grupo APTES para introduzir uma superfície de maleimida e, a reação de grupos tióis terminais no DNA com a superfície da maleimida. O grupo isocianato do PMPI formou uma ligação tipo ureia com os grupos amina da molécula de APTES. Para ser aplicado em biosseparação, este processo seria mais efetivo se as biomoléculas estivessem ligadas a um suporte magnético formado por um núcleo magnético recoberto com uma superfície altamente funcionalizável. Neste contexto, a sílica parece promissora por causa de sua estabilidade química e física, protegendo as partículas magnéticas em seu interior contra defesas naturais do corpo ou de outros ambientes, além de possuir superfície funcionalizável.

Se a superfície do material magnético for seletiva para uma proteína específica, a proteína será capaz de se ligar a essa superfície e sua separação do meio biológico poderá ser feita pelo uso de um ímã (Figura 3).

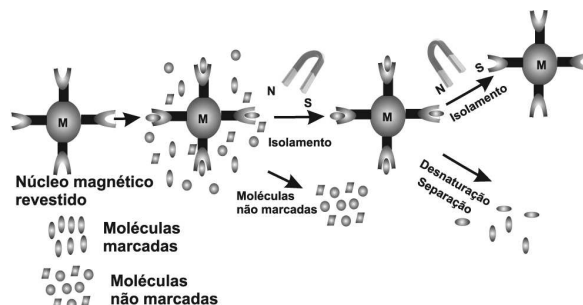


Figura 3. Esquema ilustrando as etapas envolvidas na extração de biomoléculas de uma amostra usando agentes magnéticos de biosseparação (NHAS). Adaptada da ref. 32

O primeiro trabalho de biosseparação em uma superfície de sílica funcionalizada foi realizado por Zhao e colaboradores, em 2003.³³ Uma coleta e posterior separação de moléculas de DNA/mRNA em uma matriz complexa é criticamente importante no diagnóstico de doenças humanas, estudos de expressão e proliferação de genes. Os autores desenvolveram um novo nanocaptador genomagnético (GMNC) para coleta, separação e detecção de quantidades traço de moléculas de DNA/mRNA que se diferenciam por uma única base. As nanopartículas magnéticas revestidas pela sílica foram sintetizadas pelo método de microemulsão reversa. A microemulsão foi preparada usando FeCl₂ e FeCl₃ como precursores das nanopartículas de óxido de ferro, tetraetilortossilicato (TEOS) como precursor da camada de sílica e o surfactante Triton X-100. O GMNC é construído pela bioconjugação de moléculas-sonda de DNA na superfície das nanopartículas magnéticas, através da ligação avidina-biotina. O método apresentou excelente habilidade para diferenciar amostras de DNA e mRNA pela combinação da especificidade das moléculas-sonda e posterior separação da molécula de interesse das nanopartículas magnéticas.

Posteriormente, Liu *et al.*³⁴ sintetizaram nanopartículas de magnetita e as recobriram com uma camada de sílica, obtendo esferas de 50 a 80 nm. As nanopartículas de magnetita foram preparadas pelo método de coprecipitação com algumas modificações: FeCl₃·6H₂O e FeCl₂·4H₂O foram dissolvidos em água deionizada em atmosfera de N₂ a 90 °C sob vigorosa agitação. Em seguida, NH₃·H₂O foi adicionado à solução. O precipitado de coloração preta, característica da magnetita, foi lavado duas vezes com água deionizada por decantação magnética. Silicato de sódio foi dissolvido em água e o valor do pH

foi ajustado para 12-13 pela adição de HCl. Essa solução juntamente com as nanopartículas de magnetita foram sonicadas por 30 min e o precipitado foi lavado com água deionizada várias vezes por decantação magnética. A superfície do compósito foi funcionalizada com um agente de acoplamento amino-silano, *N*-(2-aminoetil)-3-aminopropiltrimetoxissilano (AEAPS). O compósito funcionalizado passou por uma série de experimentos realizados para investigar a imobilização de proteínas nos suportes magnéticos. A albumina bovina (BSA) foi selecionada como proteína modelo e foi imobilizada covalentemente nesse suporte. Para isso, BSA foi dissolvido em uma solução tampão com as nanoesferas com superfície ativada. A mistura foi incubada a 30 °C por 4 h. Em seguida, o suporte magnético foi separado por um magneto de 2000 Oe. A influência do pH, da força iônica e concentração inicial da proteína na sua imobilização foi estudada. Os resultados mostraram que os compósitos modificados com aminossilano podem ser usados como suporte superparamagnético efetivo e bem disperso para a biosseparação, com capacidade de imobilização máxima de 86 mg/g de BSA, apresentando, desta forma, potencial aplicação como suporte imunomagnético para purificação de proteínas.

É possível combinar as vantagens da sílica mesoporosa ordenada e da partícula magnética para fabricar um nanocompósito adsorvente, com alta área superficial específica e boa separabilidade magnética.

Sem *et al.*³⁵ fabricaram nanocompósitos magnéticos à base de sílica mesoporosa e magnetita para aplicação em biosseparação, avaliando a habilidade destes nanocompósitos na ligação e eluição de DNA e na extração de RNA de células bacterianas. As nanopartículas de magnetita foram sintetizadas pelo método de Sugimoto (síntese de oxidação-precipitação), onde uma fonte de Fe^{2+} é oxidada de forma controlada para Fe^{3+} até atingir a proporção molar de 1:2 e posterior precipitação da magnetita. As nanopartículas obtidas foram usadas como núcleo para a fabricação do nanocompósito magnético mesoporoso. O surfactante brometo de cetiltrimetilamônio, CTAB, foi usado como direcionador (*template*) e tetraetilortossilicato (TEOS) como fonte de sílica, em uma síntese típica de obtenção de sílica mesoporosa ordenada. Tanto a magnetita quanto o nanocompósito sílica-magnetita demonstraram alta capacidade de ligação ao DNA. O nanocompósito recobriu quase a totalidade do DNA, enquanto a magnetita recobriu menos de 10%. Foi possível ligar e eluir aproximadamente a mesma quantidade de DNA usando metade da quantidade do compósito mesoporoso ordenado, comparado com materiais à base de magnetita e sílica amorfa clássica. O mecanismo provável de ligação de DNA na superfície do nanocompósito ocorre por meio de interações eletrostáticas entre a cadeia de fosfato carregada negativamente do DNA com a superfície das nanopartículas carregada positivamente no pH fisiológico.

Já a extração de RNA foi comparável com a obtida com um kit comercial. Além disso, a extração com o nanocompósito mesoporoso não prejudica a qualidade do RNA, mostrando que este tipo de nanocompósito pode ser eficientemente aplicado em biosseparação magnética.

Por causa da baixa carga de enzimas que aderem em esferas magnéticas convencionais, quando estas são utilizadas em imobilização de enzimas, mais atenção tem sido dada aos suportes magnéticos mesoporosos. Um suporte de sílica mesoporosa com magnetita foi sintetizada pela deposição de magnetita e nanopartículas de MCM-41 em gotas de poliestireno usando o método *layer-by-layer* (LBL).³⁶ Este método é baseado na adsorção alternada de polieletrólitos e/ou espécies inorgânicas com cargas opostas em sistemas coloidais carregados (*templates*) e posterior remoção do *template*, levando à formação de semiesferas ocas. A incorporação de magnetita forneceu uma propriedade magnética adicional às esferas de sílica mesoporosa, que resultou na perfeita combinação das propriedades do material mesoporoso com propriedades magnéticas para melhorar a imobilização de enzimas.

Além de diagnóstico e preparação, o uso desses sistemas magnéticos vem se destacando em estudos de liberação controlada de fármacos, que é outro campo de grande interesse na área biológica.

LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

A ideia de liberação controlada de substâncias biologicamente ativas começou a ser utilizada na década de 50 com o advento dos materiais poliméricos. As vantagens potenciais de sistemas de liberação controlada incluem: liberação localizada de drogas em um compartimento particular do corpo, diminuindo, dessa forma, o nível sistêmico da droga; manutenção de níveis constantes de droga no organismo, implicando em uma eficiência maior na utilização do agente (ou seja, é necessário menor teor de droga para produzir o mesmo efeito que os sistemas convencionais); preservação dos medicamentos que são rapidamente destruídos pelo corpo (isso é particularmente importante para moléculas biologicamente sensíveis, tais como proteínas) e, menor frequência de administração do agente ativo, aumentando o conforto do paciente e a eficácia do tratamento.³⁷⁻³⁹

Além das matrizes poliméricas, outros sistemas de liberação controlada baseados em diferentes materiais têm sido intensamente estudados nos últimos anos, tais como biocerâmicas e compósitos porosos. Alguns exemplos são antibióticos, tais como gentamicina, liberada a partir de cimentos de fosfato de cálcio⁴⁰ e de compósito hidroxiapatita/colágeno,⁴⁰ norfloxacin e ciprofloxacina, liberados a partir de compósito de hidroxiapatita/colágeno,³⁹ e agentes anti-neoplásicos como cisplatina, liberada a partir de fosfato de cálcio.⁴¹

Neste contexto, Lien e Wu⁴² sintetizaram nanopartículas contendo um polímero termossensitivo enxertado na superfície de nanopartículas de $\text{SiO}_2/\text{Fe}_3\text{O}_4$. As nanopartículas monodispersas de magnetita (Fe_3O_4) de 6 nm foram sintetizadas através da decomposição térmica de uma mistura de acetilacetato de ferro (III) e ácido oleico na presença de solventes de alto ponto de ebulição. Essas nanopartículas foram dispersas em cicloexano e revestidas com SiO_2 pela técnica de microemulsão reversa, que, por sua vez, foram revestidas pelo polímero PNIPAM (poli(*N*-isopropilacrilamida)). Um nanocompósito magnético e termossensível com estrutura *core-shell* foi produzido, com tamanho de partícula de cerca de 30 nm, sendo que cada nanopartícula contém somente um núcleo de Fe_3O_4 . O ponto de transição de fase obtido por calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi de 34-36 °C, que é próximo da temperatura do corpo. Além disso, as nanopartículas mostraram comportamento superparamagnético, apresentando grande potencial como carregadoras de drogas para liberação controlada (DDS/*Drug Delivery System*).

De acordo com o trabalho de Chen *et al.*,⁴³ nanopartículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ com estrutura *core-shell* foram preparadas a partir de uma solução de Fe_3O_4 diluído em água e isopropanol, e tetraetilortossilicato coprecipitada com amônia. As nanopartículas magnéticas obtidas foram separadas magneticamente para eliminar núcleos de sílica sem magnetita e, finalmente, foram funcionalizadas com anidrido glutárico e ligadas a um agente anticâncer, a doxorubicina (DOX), via ligação covalente, mais especificamente, uma ligação peptídica entre o grupo amina da DOX e o grupo carboxílico ancorado à superfície do sistema $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$. Isto possibilitou a estabilidade do sistema carreador, evitando que a droga se soltasse do sistema no processo de transporte.⁴³ Nessas condições, a DOX não é liberada da superfície das nanopartículas sob condições intravenosas. A clivagem da ligação amida ocorre a pH baixo e na presença de protease. Neste trabalho, os ensaios de liberação foram feitos em função da variação de pH e o perfil de liberação da droga mostrou um comportamento pH-dependente. A estrutura *core-shell* das nanopartículas ligadas à DOX mostrou comportamento superparamagnético, indicando o

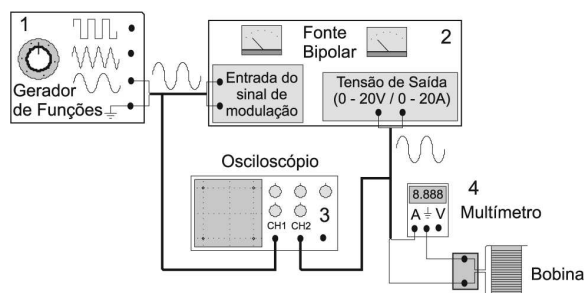
potencial de aplicação no tratamento do câncer usando a tecnologia de liberação de fármacos magneticamente marcados.

A porosidade das matrizes de sílica convencionais é altamente heterogênea, apresentando como grande desvantagem a dificuldade de garantir distribuição homogênea da droga através da matriz, afetando assim a taxa de liberação. Portanto, a necessidade de suprir essa desvantagem tem conduzido a melhoras nesse campo através da utilização de materiais mesoporosos ordenados, que possuem porosidade bem definida. Nanocompósitos formados por nanopartículas magnéticas dispersas em sílica mesoporosa ordenada (SMO), especialmente nanocompósitos de óxido de ferro magnético/SMO^{44,45} permitem elevada incorporação de fármacos/agentes ativos, bem como a facilidade para marcar seletivamente um tecido ou órgão desejado no corpo através de um campo magnético externo. Esses nanocompósitos, que combinam as vantagens das SMOs e das nanopartículas magnéticas geram um material multifuncional com aplicação na liberação controlada de drogas em sítios específicos.

Souza et al.⁴⁶ sintetizaram nanocompósitos com nanopartículas magnéticas encapsuladas em sílica mesoporosa (SBA-15). O nanocompósito foi preparado em duas etapas: a magnetita foi sintetizada pelo método de oxidação-precipitação e, em seguida, as nanopartículas magnéticas foram revestidas com sílica mesoporosa obtida a partir de tetraetilortossilicato (TEOS) em meio ácido e um surfactante não iônico copolímero em bloco como agente direcionador da estrutura. Souza e colaboradores⁴⁷ estudaram a influência das partículas magnéticas na cinética de liberação de fármacos-modelo: cisplatina, carboplatina e atenolol sob condições *in vitro*. A liberação foi estudada na ausência e na presença de um campo magnético externo, utilizando um magneto de NdFeB de 0,25 T. O ensaio de liberação foi realizado também usando um campo alternado em baixas frequências. Para isso, foi projetada e construída uma cavidade magnética, composta de bobina de Helmholtz, que foi conectada a uma fonte de corrente contínua (2) acoplada a um gerador de frequência (1) (Figura 4a) e uma sonda Hall (para medir valor do campo magnético).

O sistema foi construído para gerar um campo magnético uniforme alternado na região central, da ordem de 17 mT e baixas frequências. A frequência da corrente foi variada, fazendo-se um monitoramento com um osciloscópio (3). Foram utilizadas frequências entre 15 e 300 Hz e um campo magnético de 17 mT. O campo magnético oscilante mostrou uma influência significativa na liberação da cisplatina (Figura 4b), devido, provavelmente, a uma possível interação do fármaco com as nanopartículas de magnetita.

Seguindo a tendência de se buscar métodos de controle da liberação, Zhu et al.⁴⁸ sintetizaram um carreador termorresponsivo usando-se a sílica mesoporosa SBA-15 como matriz suporte para a síntese *in situ* de partículas magnéticas e posterior polimerização de um polímero termorresponsivo, o poli(*N*-isopropilacrilamida) (PNIPA), nos poros da sílica. A síntese da sílica mesoporosa seguiu uma metodologia bem estabelecida com TEOS como fonte de sílica em meio ácido e um copolímero em bloco anfifílico P123 (EO₂₀PO₇₀EO₂₀) como agente direcionador de estrutura. FeCl₂ foi adicionado lentamente a essa solução sob agitação a 45 °C por 20 h. Após envelhecimento a 80 °C por 1 dia, a amostra foi lavada com água, seca à temperatura ambiente e passada por tratamentos térmicos. Este sistema apresentou volume de poros suficiente para encapsular um fármaco modelo, no caso, o ibuprofeno (IBU). O fármaco foi incorporado nos poros desse material e foi realizado um teste de liberação *in vitro* modulado pela temperatura. A temperatura de transição de fases do gel nesse sistema foi 17 °C e quando a temperatura estava entre 7 e 11 °C, uma massa de ibuprofeno em torno de 40,5% foi liberada. À medida que a temperatura aumentou, até alcançar 17 °C, o polímero sofreu contração aumentando ainda mais a taxa de liberação do fármaco.



1. Gerador de Funções Hewlett-Packard modelo 3300A
2. Fonte Bipolar Kepco modelo BOP 20-20M
3. Osciloscópio Tektronix modelo TDS 1012B
4. Multímetro Minipa modelo ET 2082B

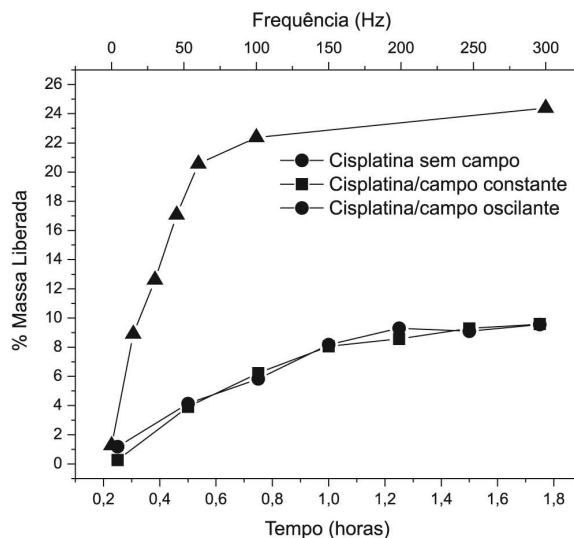


Figura 4. (a) Esquema da instrumentação usada para corrente de 2 A; (b) perfis de liberação do sistema nanocompósito/cisplatina sem campo, com campo fixo e com campo oscilante

Ruiz-Hernández e colaboradores^{49,50} sintetizaram microesferas mesoporosas com nanopartículas magnéticas, através do método de auto-organização induzida por evaporação (EISA – *Evaporation Induced Self-assembly*), com o objetivo de marcação magnética da matriz em um sítio específico para liberação de drogas *in situ*. Cloretos de Fe²⁺ e Fe³⁺ foram precipitados com hidróxido de amônio, dando origem a partículas de magnetita nanométrica, que foram dispersas em HNO₃ e oxidadas à maguemita pela adição de nitrato de ferro, sob aquecimento de 90 °C por 30 min. O material obtido foi lavado e disperso em água, formando um ferrofluido com partículas de 8 nm, que foi misturado ao surfactante P123 e ao TEOS. Desta solução foi obtido um aerogel que gerou as esferas mesoporosas por pirólise. Do ponto de vista clínico, as microesferas de morfologia homogênea apresentaram vantagens em relação à sílica mesoporosa convencional, cuja síntese leva a um material com morfologia irregular. As microesferas poderiam ser ingeridas e/ou injetadas no paciente. Por outro lado, as propriedades texturais dos materiais mesoporosos ordenados permitiram elevada incorporação da droga e controle da liberação. Contudo, neste trabalho, o tamanho das microesferas sintetizadas foi heterogêneo, com diâmetro variável de 0,3 a 3 µm, evidenciando um processo de formação de esferas sem um bom controle.

Os sistemas magnéticos apresentam, então, a vantagem de aliar as características de polímeros termossensíveis com o campo magnético externo para permitir uma forma adicional de controle da liberação de fármacos. Outra aplicação bastante promissora para estes materiais

é como agente de contraste em imagens por ressonância magnética, descrito a seguir.

IMAGENS POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA (IRM)

As imagens obtidas por ressonância magnética, IRM, possuem alta resolução espacial entre tecidos com diferentes contrastes. Para facilitar o processo de distinção entre os tecidos, foi necessário o desenvolvimento de agentes que aumentassem o contraste entre eles, facilitando o diagnóstico. Alguns agentes de contraste utilizados comercialmente são Feridex[®], Resovist[®], Sinerem[®], Supravist[®], que são óxidos de ferro superparamagnéticos revestidos com dextran ou carboxidextran. Estes polímeros são hidrofílicos e são utilizados para reduzir a biotoxicidade e aumentar a biocompatibilidade.⁵¹

Nanopartículas baseadas em óxido de ferro têm sido usadas como agentes de contraste em IMR por causa de suas propriedades de encurtamento de T_2 e T_2^* , que são o tempo de relaxação transversal (spin-spin), referente à componente do vetor magnetização, perpendicular ao campo magnético aplicado, e curto tempo de relaxação transversal, respectivamente. Em um procedimento para IMR, quando o núcleo atômico absorve energia pelas ondas de rádio aplicadas externamente, libera esta energia como um sinal, ao retornar ao seu estado de menor energia. A taxa com a qual um núcleo volta ao seu estado de energia mais baixa é chamada de relaxação. As nanopartículas distorcem o campo magnético local e alteram T_2 e T_2^* dos prótons da água nas moléculas de água da vizinhança. Essa propriedade faz com que sirvam como um agente de contraste negativo em IMR para aplicações biológicas.⁵² Duas classes de partículas são consideradas:

i) partículas volumosas (> 30 nm de volume hidrodinâmico – tamanho global compreendendo o revestimento orgânico e moléculas de água), chamadas de partículas de óxidos de ferro superparamagnéticos (SPIOs – *Superparamagnetic Iron Oxides*), usadas para imagens IMR do fígado. Elas apresentam meia-vida curta ($T_{1/2}$), que é o tempo característico para a eliminação de material estranho no sangue pelo sistema retículo endotelial (RES), que existe no fígado, baço e linfonodos. Este tempo é uma das propriedades mais importantes para aplicações de agentes de contraste para IMR;⁵⁰

ii) partículas menores (<30 nm de diâmetro hidrodinâmico), chamadas de ultrapequenas SPIOs (USPIOs), que apresentam longo $T_{1/2}$, sendo usadas, por exemplo, para angiografia por ressonância magnética (angio-RM) e imagens IMR de macrófagos e linfonodos, bem como agentes de marcação celular.^{53,54} As USPIOs têm um menor contraste negativo que as SPIOs, devido à baixa relaxação de T_2 .⁵¹

No caso de óxidos de ferro revestidos com polímeros orgânicos, como mostrado na Tabela 2, $T_{1/2}$ aumenta com o decréscimo do diâmetro da partícula e com revestimento polimérico não iônico. Agentes com um longo $T_{1/2}$, tais como um USPIO, que têm pequeno diâmetro hidrofílico abaixo de 50 nm, podem ser usados como agentes de contraste para hemorragias e para imageamento de macrófagos, em

comparação com o agente fígado-específico Ferumoxides (Feridex) com seu curto $T_{1/2}$ com SPIO, que tem tamanho de partícula acima de 50 nm.

Revestimentos com sílica ou por glicolação com polietileno conferem estabilidade adicional e biocompatibilidade às nanopartículas de óxido de ferro. Além disso, corantes orgânicos incorporados na camada de sílica permitem a detecção das nanopartículas por fluorescência através de microscopia confocal de varredura a laser (*Confocal Laser Scanning Microscopy* - CLSM).⁵²

Recentemente, nanopartículas de óxido de ferro revestidas com sílica e PEG, com propriedades magnéticas e fluorescentes, foram desenvolvidas e aplicadas para marcação celular e classificação de células, com vantagem multimodal em IMR e microscopia por fluorescência para uso *in vivo* e *ex vivo*.⁵⁵⁻⁵⁷

Lee *et al.*⁵¹ desenvolveram um material consistindo de nanopartículas magnéticas e fluorescentes revestidas com sílica onde incorporaram isotiocianato de rodamin B (RITC). As nanopartículas foram preparadas por coprecipitação de soluções aquosas de CoCl_2 - FeCl_3 em meio alcalino, e foi empregado um método de revestimento da sílica baseado no uso de polivinilpirrolidona (PVP). O PVP é usado quando as partículas possuem cargas iônicas na sua superfície para gerar um revestimento de sílica pelo processo sol-gel, com espessura variando de acordo com a quantidade de tetraetoxissilano (TEOS) usado. As nanopartículas magnéticas e fluorescentes revestidas com sílica (denominadas de MFSNs) tiveram sua superfície modificada com polietilenoglicol (PEG) para torná-las biocompatíveis e solúveis em água. As MFSNs apresentaram o mesmo tamanho das SPIOs (70 nm) e apresentaram alto valor de relaxação, porém, longa meia-vida ($T_{1/2}$) de ~2,5 h (Tabela 2), similar à das USPIOs, sendo o primeiro trabalho que mostrou uma longa circulação de SPIOs com um grande tamanho hidrofílico e uma longa meia-vida no sangue, característica de USPIOs. Essa propriedade surge da modificação da superfície com revestimento de sílica e PEG, que é conhecido como um inibidor contra a captação pelo fígado.⁵⁸

Trabalho semelhante foi realizado por Sung e colaboradores em 2009⁵⁹ (Tabela 3), que avaliaram a marcação de células-tronco mesenquimais humanas (hMSCs) com nanopartículas magnéticas de ferrita de cobalto bifuncionais para IMR e CLSM, com o objetivo de monitoramento de transplante das mesmas. Estas nanopartículas, de tamanho médio de cerca de 9 nm, foram sintetizadas por coprecipitação a partir de uma solução contendo $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, em uma solução aquecida de NaOH e estabilizadas com PVP. O TEOS foi polimerizado na superfície das nanopartículas. RITC foi incorporado no sistema e, por último, a superfície da sílica foi modificada com PEG para evitar uma adsorção não específica de proteínas às nanopartículas, formando um compósito dual funcionalizado ($\text{NPM}@\text{SiO}_2(\text{RITC})\text{-PEG}$).

A integração da sílica mesoporosa com nanocristais superparamagnéticos monodispersos para formar compósitos *core-shell*

Tabela 2. Propriedades primárias de nanopartículas de óxido de ferro. Adaptada da ref. 54

| Nomes | Tamanho hidrodinâmico (nm) | Agente de revestimento | $T_{1/2}$ em humanos (h) | $T_{1/2}$ em ratos (h) | Aplicações |
|------------------------|----------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|---|
| Feridex [®] | 120-180 | Dextran | 2 | 0,1 | IMR de fígado; marcação celular |
| Resovist [®] | 60 | Carboxidextran | 2,4-3,6 | - | IMR de fígado; marcação celular |
| Sinerem [®] | 15-30 | Dextran | 24-36 | 1,4-3 | IMR de linfonodos metastáticos; IMR de macrófagos; agente de contraste para hemorragias; marcação celular |
| Supravist [®] | 21 | Carboxidextran | 6 | - | Agente de contraste para hemorragias; marcação celular |
| MFSN | 70 | Polietilenoglicol | - | 2,5 | Marcação celular esperada para IMR de macrófagos e de tumores (ref. 50) |

Tabela 3. Características de NPM@SiO₂(RITC)-PEG

| | | |
|---------------------------------|--|--|
| NPM@SiO ₂ (RITC)-PEG | Ref. 51 | Ref. 59 |
| Recobrimento | PEG | PEG |
| Núcleo | Nanopartículas de ferrita de cobalto (CoFe ₂ O ₄) ⁶⁰ | Nanopartículas de ferrita de cobalto (CoFe ₂ O ₄) ⁵⁵ |
| Diâmetro do núcleo | 38 nm | 15 nm |
| Diâmetro da partícula | 70 nm | 50 nm |
| Corante fluorescente | Rodamina B | Rodamina B |
| Estudo | Imagens por RMN e teste preliminar de fluorescência | Imagens por RMN e CLSM |

uniformes tem mostrado grande potencial para bioimagem.⁶⁰ Nesse contexto, Lin *et al.*⁶¹ e Kim *et al.*⁶² desenvolveram nanopartículas de sílica mesoporosa magnética/luminescente por rotas similares. Foram sintetizadas nanopartículas monodispersas menores que 100 nm usando nanocristais de Fe₃O₄ como núcleos magnéticos (designadas como Fe₃O₄@mSiO₂). Em ambos os casos, CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) foi usado como agente modelador da estrutura inorgânica para a formação da sílica mesoporosa ordenada. Em seguida, os nanocompósitos foram funcionalizados com corantes e/ou PEG que foram usados primeiro para marcar células de fibroblatos NIH 3T3 e células MCF-7 e, segundo, para estudo *in vivo* de IRM e imagem fluorescente em camundongos. No primeiro trabalho (Lin *et al.*), foi demonstrado que o nanocompósito era capaz de internalizar células NIH 3T3 sem precisar de qualquer outra técnica de reforço. No segundo trabalho (Kim *et al.*), as células MCF-7 marcadas com Fe₃O₄@mSiO₂(corante)-PEG e células MCF-7 controle, sem marcação, foram injetadas subcutaneamente em cada lado do dorso de um rato. As células marcadas foram claramente detectadas nas imagens ponderadas por T₂. Ainda nesse trabalho, imagens de fluorescência foram obtidas e, para isso, dois corantes isotiocianato de fluoresceína (FITC) e isotiocianato de rodamina B (RITC) foram ligados covalentemente na parede da sílica (Tabela 4).

Marcação tumoral

Administração intravenosa (IV) é o método mais efetivo para liberar agentes de contraste para estudar órgãos e tecidos, pois todas as células vitais recebem suprimentos por meio da circulação san-

guínea.⁶³ Além disso, permite a liberação controlada de um fármaco adequado ao tratamento de órgãos doentes em local específico.

Para marcação de tumores com nanopartículas magnéticas (NPs), um aspecto importante que tem que ser levado em conta é a limitação de tamanho das nanopartículas para sistemas injetáveis. A maioria dos sítios é acessível através da microcirculação pelos capilares sanguíneos ou através de poros presentes em várias superfícies e membranas. A maioria das aberturas a níveis celulares e subcelulares é de tamanho nanométrico (Tabela 5); então, com o uso de nanopartículas é possível alcançar o nível subcelular.

Do ponto de vista da condução de drogas no organismo, não existe nenhuma limitação prática quando o diâmetro de NPs típicas tem uma dimensão menor do que o diâmetro da secção cruzada do capilar mais estreito, que é cerca de 2 µm. Na realidade, para um transporte eficiente as nanopartículas deveriam ser menores que 300 nm.^{64,65}

Um dos requisitos de qualquer sistema de liberação é sua habilidade para se movimentar livremente no sistema circulatório e atravessar várias barreiras que podem estar no caminho. No corpo humano, a maioria das passagens são os vasos sanguíneos através dos quais os materiais são transportados no corpo. Mas apenas o movimento nos vasos não supre o objetivo da condução de drogas. O sistema de liberação necessita alcançar o sítio no nível desejado. Isso requer atravessar as paredes dos capilares para alcançar o fluido extracelular do tecido e então atravessar outras células, se elas estão no caminho, e alcançar as células-alvo. Essas são as maiores barreiras no percurso.⁶⁵

No caso de tumores, esse transporte é facilitado devido ao extravasamento das NPs no local doente, pois a microvasculatura é hiperpermeável e a drenagem linfática do tumor é limitada. Isso leva

Tabela 4. Características de Fe₃O₄@mSiO₂(corante)-PEG

| | | |
|---|--|--|
| Fe ₃ O ₄ @mSiO ₂ | Ref. 62 | Ref. 61 |
| Recobrimento | PEG | - |
| Núcleo | Nanopartículas de Fe ₃ O ₄ | Nanopartículas de Fe ₃ O ₄ |
| Diâmetro do núcleo | 15 e 22 nm | - |
| Diâmetro da partícula | 53 e 45 nm | 154 nm |
| Corante fluorescente | FITC e RITC | FITC-APTMS* |
| Estudo | Imagens por RMN e imagem fluorescente | Imagens por RMN e CLSM |

* N-1-(3-trimethoxy-silylpropyl)-N-fluoresceyl thiourea

Tabela 5. Tamanho de poros versus distribuição de partículas nos capilares do sistema vascular humano. Adaptada da ref. 64

| | | Tamanho | Sistema/Órgão |
|--------------------------------------|---|---|---|
| a) No sistema circulatório | Raio de arteríolas Raio de artérias Raio de veias | 0,005-0,07 mm 0,08-7,5 mm 8-100 µm | Sistema circulatório. Partículas fornecidas por administração intravenosa. A eliminação envolve opsonização e remoção por monócitos no sangue. |
| b) Permeabilidade das nanopartículas | Capilares de junção estreita Capilares contínuos Capilares fenestrados Capilares sinusoidais | < 1 nm ~ 6 nm ~ 50-60 nm ~ 100-1000 nm | Sistema nervoso central, barreira sangue-cérebro Tecidos tais como músculo, pele e pulmão Rins, intestino e algumas glândulas endócrinas e exócrinas Fígado, baço e medula óssea |

a uma acumulação seletiva das NPs no tecido tumoral, num processo conhecido como marcação passiva.⁶⁴

A permeabilidade da parede é um fator crítico para liberação de agentes por administração intravenosa. Pelo fato da rápida liberação de moléculas ou partículas no sangue para o interstício dos tecidos ser baseada na difusão, o tamanho dos poros que fazem o revestimento do capilar endotelial regula a permeabilidade dos agentes. A estrutura dos capilares é diferente em diferentes órgãos e classificada em quatro tipos (Figura 5, Tabela 5).⁶³ No sistema nervoso central, por causa do revestimento endotelial ser conectado firmemente por uma junção íntima (Barreira Hematoencefálica - BHE), mesmo um pequeno agente de contraste molecular não difunde para o espaço extravascular (Figura 5a). Esses agentes então podem ser chamados de agentes de marcação específica para o sistema nervoso central, pois nos tecidos patológicos faltam BHE e o agente de contraste pode ser acumulado e distinguido dos tecidos normais vizinhos.

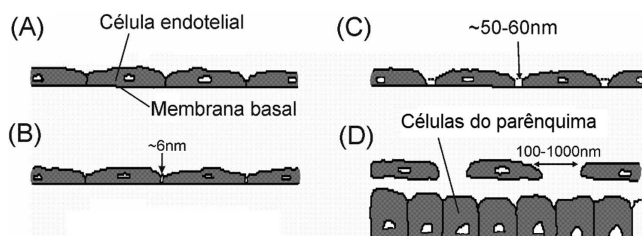


Figura 5. Ilustração esquemática de diferentes classes de capilares sanguíneos: (a) capilares de junção estreita do sistema nervoso central; (b) capilares contínuos incluindo a maioria dos tecidos, tais como, músculo, pulmão e pele; (c) capilares fenestrados, incluindo rins, intestino e algumas glândulas endócrinas e exócrinas; (d) capilares sinusoidais, incluindo fígado, baço e medula óssea. Adaptada da ref. 63

A maioria dos tecidos, tais como músculo, pele, pulmão e tecido conjuntivo apresentam capilares contínuos (Figura 5b). Partículas com um tamanho variando de 5 a 50 nm não podem difundir livremente nesses tecidos e são excretadas pelos rins que têm capilares fenestrados (Figura 5c), por excreção urinária. É claro que os efeitos do tamanho molecular na permeabilidade são complicados por diferenças na carga e configuração. Um agente de contraste neste intervalo pode ser específico para tecidos hemorrágicos e patológicos, pois os agentes são retidos no sangue por tempo suficiente para a produção da imagem de uma hemorragia contrastada e serem liberados passivamente para tecidos patológicos, cujos capilares são geralmente mais permeáveis. O tamanho mínimo de agentes macromoleculares para um tamanho de poros de aproximadamente 6 nm é ~20 kDa para partículas de forma globular e 50 kDa para partículas de forma linear.

Partículas de dezenas de nanômetros podem somente ser removidas pelo sistema retículo endotelial, tais como células de Kupffer no fígado e macrófagos no baço, medula óssea e linfonodos, pois esses capilares são sinusoidais e têm centenas de nanômetros de poros (Figura 5d). Baseada nessa estrutura de capilar, a liberação seletiva para o RES representado pelo fígado é alcançada por um dimensionamento preferencial. A magnetita revestida com dextran, por exemplo, no grupo das SPIOs, tem um tamanho médio de 80 nm e tem sido clinicamente provado que ela é um agente de contraste específico para o fígado.⁶³

Os sistemas SPIOs e USPIOs, além de possibilitarem a marcação de tecidos alvo que servem como agentes de contraste, podem ser guiados até um sítio específico pela aplicação de um campo magnético externo e lá serem aquecidos pela aplicação de um campo magnético oscilante, num processo conhecido como hipertermia magnética, discutido a seguir.

HIPERTERMIA

Hipócrates (460-370 a.C.) acreditava que qualquer doença poderia ser curada pelo aquecimento do corpo do paciente.⁶⁶ Dentro desta filosofia, desde 1957 a hipertermia,⁶⁷⁻⁷⁰ uma modalidade de tratamento de câncer com elevação de temperatura entre 41 e 45 °C com um tempo de tratamento de no mínimo 30 min, tem ganhado considerável atenção devido a sua eficácia clínica, tal como minimizar efeitos locais clínicos e a possibilidade de destruir seletivamente tumores malignos localizados ou profundamente enraizados.⁶⁷

As células cancerosas geralmente perecem em torno de 43 °C, pois sua fonte de oxigênio via vasos sanguíneos fica insuficiente nesta temperatura, enquanto células normais não são danificadas na mesma temperatura. Além disso, os tumores são mais facilmente aquecidos do que os tecidos normais vizinhos, já que os vasos sanguíneos e o sistema nervoso são pobremente desenvolvidos no tumor. Desta forma, a hipertermia é um tratamento de câncer útil com poucos efeitos locais. Várias técnicas para aquecimento dos tumores, tais como tratamento com água quente, radiação infravermelha, ultrassom e micro-ondas, têm sido testadas. Entretanto, tumores localizados em partes profundas do corpo não são efetivamente aquecidos usando-se essas técnicas.⁶⁸

Alguns pesquisadores propuseram o conceito de hipertermia intracelular, utilizando partículas magnéticas de tamanho submicrométrico para induzir a hipertermia. Esse conceito é baseado no fato de que sob um campo magnético alternado (AMF - *Alternating Magnetic Field*), partículas magnéticas podem gerar calor.

Existem no mínimo três mecanismos diferentes pelos quais materiais magnéticos podem gerar calor em um campo oscilante:⁶⁹ (i) circulação de correntes parasitas induzidas no material; (ii) perda de energia por histerese em materiais de multidomínio e, (iii) perda de energia por relaxação em materiais magnéticos superparamagnéticos de monodomínio.

Os mecanismos (i) e (ii) contribuem muito pouco para o aquecimento de partículas com regime de monodomínio. Então, o mecanismo significativo que contribui para o aquecimento dessas partículas é o mecanismo de relaxação (iii). A perda de energia por relaxação em nanopartículas magnéticas de monodomínio acontece de dois modos: modo rotacional (de Brown) e modo de Néel. O princípio de geração de calor devido a cada modo individual é mostrado na Figura 6 (b e c). No modo de Néel, o momento magnético inicialmente bloqueado ao longo do eixo de fácil magnetização do cristal rotaciona em direção ao campo externo. O mecanismo de Néel é análogo à perda de energia por histerese em partículas magnéticas de multidomínio, já que existe uma “fricção interna” devido ao movimento do momento magnético em um campo magnético externo que resulta na geração de calor. No modo Browniano, a geração de calor se dá através da oscilação das partículas como um todo em direção ao do campo magnético externo, sob o efeito de uma força térmica, contra a viscosidade em uma suspensão. Esse mecanismo representa essencialmente o componente de fricção mecânica das nanopartículas em uma suspensão.

Em 1979, Gordon e colaboradores⁶⁶ propuseram o conceito de indução de hipertermia intracelular usando nanopartículas de magnetita ligadas ao dextran. Administraram nanopartículas de magnetita intravenosamente em carcinoma mamário de ratos e mostraram que houve indução de calor por AMF em seus experimentos.

Kawashita e colaboradores⁶⁸ estudaram microesferas de magnetita com capacidade de produzir calor, principalmente em tumores localizados nas partes profundas do corpo. Dois tipos de microesferas foram sintetizados: de magnetita e de sílica/magnetita. No primeiro caso, as microesferas de magnetita foram obtidas pela fusão de um pó puro de Fe₃O₄ e posterior resfriamento à temperatura ambiente. Em um processo de indução de aquecimento por radiofrequência a

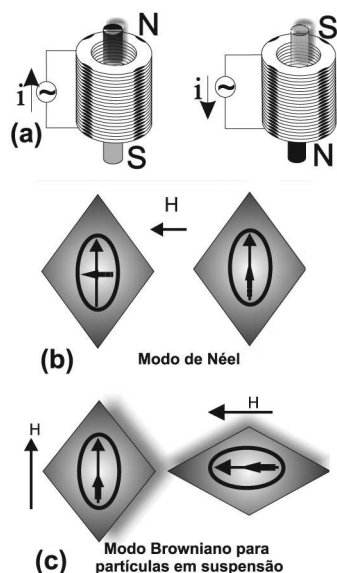


Figura 6. (a) Esquema da indução de campo para material magnético em uma bobina de corrente alternada; (b) e (c) perda de energia por relaxação, levando ao aquecimento em um campo magnético oscilante: (b) modo de Néel; (c) modo de relaxação Browniano. Adaptada da ref. 69

uma potência de 19,0 kW e uma frequência de 4 MHz, o gás argônio produziu um plasma de temperatura entre 12.000 a 13.000 °C. O pó de magnetita foi transportado por um fluxo de argônio até a chama de plasma para ser fundido na temperatura do plasma. Posteriormente, o material fundido foi gotejado em água ultrapura à temperatura ambiente, que estava localizada na base de uma câmara de 1 m de altura. No segundo caso, pós de Fe_3O_4 foram adicionados a uma solução aquosa de ácido fluorídrico e agitados a 30 °C por 24 h. O excesso de Fe_3O_4 foi filtrado para produzir uma solução de HF a 1% (p/p) contendo Fe_3O_4 a uma concentração saturada (Fe-HF solução). Microesferas de sílica vítrea de 12,4 μm de diâmetro foram mergulhadas na solução obtida por vários períodos até 24 dias para favorecer a precipitação de $\beta\text{-FeOOH}$ na sua superfície. Os produtos obtidos foram aquecidos a várias temperaturas entre 300 e 600 °C por 1 h e, então, resfriados em uma atmosfera de 70% de CO_2 + 30% de H_2 para obtenção de magnetita. O diâmetro das microesferas de magnetita foi de 20 a 30 μm , com capacidade para geração de 10 W/g a 300 Oe e 100 kHz; as microesferas de sílica vítrea recobertas com magnetita apresentaram tamanho médio de 25 μm , enquanto que o tamanho de cristalitos de magnetita depositados na superfície foi estimado em 50 nm. No último caso, a geração de calor foi de 41 W/g nas mesmas condições, mostrando que o sistema microesfera de sílica/magnetita é um sistema promissor para tratamento hipertérmico de câncer.

Existe uma segunda possível aplicação para este sistema, a liberação controlada de drogas, que pode ser desencadeada por ação termomagnética, ajustando-se o campo magnético e a frequência. Com esse pensamento, Hu *et al.*⁷¹ estudaram nanoesferas de sílica magnético-sensíveis para liberar o fármaco ibuprofeno de forma instantânea e controlada em uma concentração terapeuticamente efetiva por meio de um campo magnético de alta frequência (HFMF - *High Frequency Magnetic Field*). As nanoesferas foram sintetizadas por um processo *in situ*, onde a sílica foi preparada pelo método sol-gel, em meio ácido. À solução precursora das nanoesferas foi misturada uma solução de $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (usado como precursor para a fase magnética) em diferentes razões molares de Si:Fe, seguida pela adição de ibuprofeno, obtendo-se, assim, nanoesferas com tamanho de partículas de cerca de 50 nm, ideais para liberar quantidades específicas de droga em uma maneira “explosiva” via exposição curta a um HFMF.

Ao acelerar a rotação de nanopartículas magnéticas depositadas na matriz de sílica gerando energia na forma de calor, o HFMF leva ao alargamento da nanoestrutura da matriz de sílica produzindo canais porosos que fazem a droga ser facilmente liberada. Dessa forma, as nanoesferas apresentaram um perfil de liberação acentuada de ibuprofeno nos intervalos de 180 a 190 min de liberação, em que o sistema foi exposto por 10 min em HFMF. Esse perfil foi comparado com um grupo controle que não foi exposto ao campo magnético. Foi medido também o perfil de liberação cumulativo de ibuprofeno a partir das nanoesferas na razão Si:Fe = 1:1 sem estímulo magnético e com estímulo magnético de 50 kHz, aplicado por 4 intervalos específicos de tempo, mostrando que após a excitação magnética houve um aumento significativo da quantidade de fármaco liberada em cada intervalo.

Recentemente, Julian-Lopez *et al.*⁷² realizaram um estudo de sistemas sílica mesoporosa/partículas magnéticas em hipertermia magnética. As nanopartículas de maguemita, obtidas com um tamanho médio de 8 nm, resultaram da oxidação da magnetita estequiométrica (sintetizada pelo método de coprecipitação), através de seu tratamento com uma solução de ácido perclórico. Estas partículas foram recobertas com sílica mesoporosa pelo método *spray-drying*, dando origem a microesferas do tipo SBA-15/maguemita e MCM-41/maguemita. Além disso, funcionalizaram a superfície destes materiais para serem usados no transporte de moléculas bioativas em aplicações biomédicas. O efeito do aquecimento deste sistema após aplicação de um campo magnético oscilante de frequência 180 kHz e 70 kAm^{-1} (879,65 Oe) foi comparado com o efeito de nanopartículas de maguemita dispersas em solução aquosa, nas mesmas condições. Seu desempenho apresentou menor eficiência do que as nanopartículas dispersas em água, mas ainda assim, o novo sistema é uma fonte efetiva de aquecimento.

Souza e colaboradores⁷³ sintetizaram um nanocompósito SBA-15/nanopartículas de magnetita, impregnando a sílica mesoporosa com uma solução contendo $\text{Fe}_3(\text{SO}_4)_3$. Após um tratamento térmico a 550 °C por 2 h em atmosfera ambiente foi obtido um sistema que, por autorredução a 550 °C por 8 h em atmosfera inerte (N_2), gerou o nanocompósito SBA-15/ Fe_3O_4 . Foram realizados dois ensaios de hipertermia magnética, onde o nanocompósito se mostrou bastante promissor para o uso nesta aplicação (Figura 7).

No primeiro caso (Figura 7a) observa-se uma variação de temperatura (ΔT) de 21 °C para o nanocompósito submetido a 168 Oe e ΔT de apenas 3 °C a 105 Oe, mostrando que o aquecimento depende da intensidade do campo magnético. O segundo caso (Figura 7b) mostra que o meio de dispersão das nanopartículas também influencia no aquecimento. A amostra sonicada apresentou uma variação bem maior de temperatura ($\Delta T = 23$ °C) no tempo de 20 min do que a amostra dispersa em água pura ($\Delta T = 5$ °C).

METABOLISMO DAS NANOPARTÍCULAS

Nanopartículas magnéticas

Nanopartículas magnéticas (SPIOs)⁵⁰ permanecem em circulação no sangue por períodos de tempo que dependem do tamanho da partícula e da superfície de revestimento das mesmas. Isso porque essas partículas são capturadas pelo sistema fagocítico endotelial - SER (atualmente conhecido como sistema fagocítico mononuclear), que consiste principalmente de macrófagos e que está presente no fígado, baço, linfonodos e medula óssea.⁷⁴ Os macrófagos são vitais para a coordenação da resposta imune, eliminação de patógenos e controle da homeostase dos tecidos. Os macrófagos também têm um papel importante na reciclagem do ferro presente no corpo. Devido ao alto nível de expressão de proteínas específicas em estocar o ferro, os

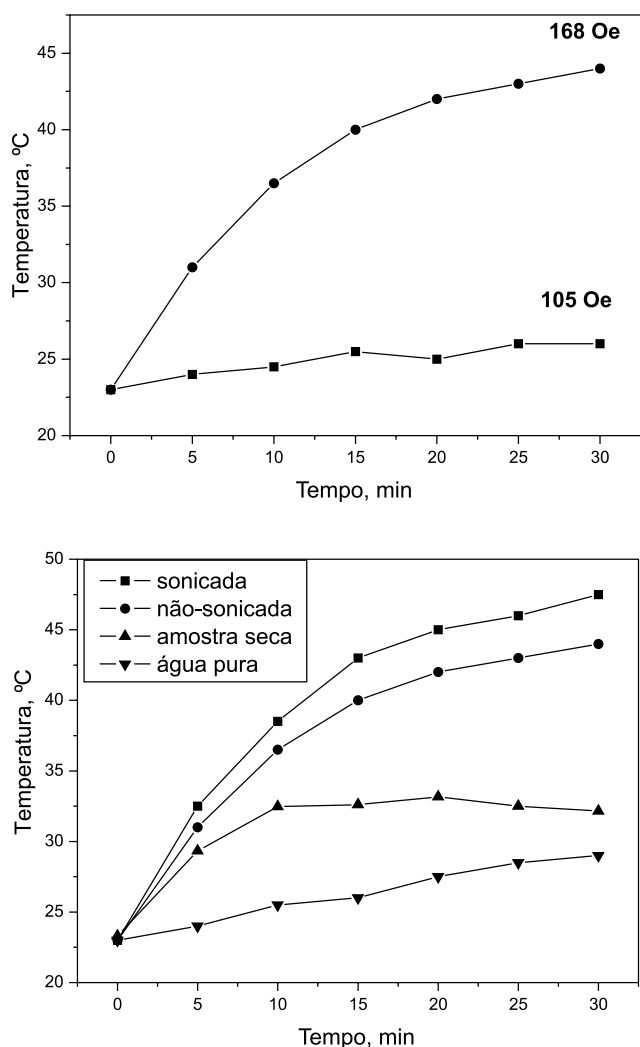


Figura 7. (a) Ensaio de hipertermia magnética para dispersão aquosa do nanocompósito a 198 kHz e campos magnéticos de 168 e 105 Oe; (b) aquecimento induzido por campo magnético do nanocompósito em diferentes situações a 168 Oe comparado com a água pura, usada como controle

macrófagos podem sustentar uma carga de ferro relativamente alta.⁷⁵

Uma vez injetadas no organismo, as nanopartículas são rapidamente capturadas pelos macrófagos circulantes ou residentes e internalizadas em seus lisossomos. No caminho da endocitose celular, as nanopartículas passam por um contínuo decréscimo do pH, desde o meio extracelular (pH = 7-7,5), passando pelo endossomo intracelular (pH = 5,5-6), até atingir o microambiente ácido dos lisossomos (pH = 4,5-4,8). A membrana lisossomal permite que enzimas digestivas trabalhem no pH 4,5 de que necessitam, bombeando prótons do citosol. As nanopartículas confinadas nos lisossomos são então expostas a efeitos combinados de pH ácido, hidrolases lipossomais e, eventualmente, quelantes de ferro envolvidos na regulação do ferro.⁷⁶ Devido ao pH fisiológico normal e ao oxigênio encontrado no plasma, o estado de oxidação preferencial do ferro é a forma férrica. Qualquer íon ferroso presente no plasma será rapidamente oxidado pelo oxigênio molecular endógeno, resultando na conversão de íon ferroso em férrico. Apesar do Fe^{3+} ser o estado de oxidação fisiológico preferencial do ferro, ele é altamente reativo e pode induzir atividade catalítica, resultando em severos danos celulares. Como resultado, proteínas e quelantes carreadores de ferro são usados para permitir sua segura transferência através das células e para garantir o estoque intracelular do excesso de ferro. Nos vertebrados, a transferrina é

a responsável pelo transporte seguro do ferro e a ferritina está envolvida no seu estoque. Ambas as proteínas se ligam fortemente ao ferro, limitando sua reatividade e reduzindo a formação de produtos hidrolíticos, que podem causar dano celular. Além disso, a ligação do ferro nessas proteínas é reversível, de modo que ele pode ser obtido quando necessário em processos metabólicos, síntese de enzimas e proteínas e/ou produção de heme.⁷⁷

Devido a essa condição biológica peculiar do ferro, nanopartículas de óxido de ferro são menos tóxicas do que outros nanocristais inorgânicos e têm a chance de ser transformadas pela homeostase celular. Sabe-se que os diferentes macrófagos não utilizam o mesmo tipo de reconhecimento de moléculas, por exemplo, macrófagos primários humanos não apresentaram nenhum efeito imunomodulatório quando as células foram expostas a nanopartículas de óxido de ferro revestidas com dextran (30 nm), mas os macrófagos peritoneais apresentaram secreção de citocinas anti-inflamatórias e redução na produção de citocinas pró-inflamatórias quando expostos a nanopartículas também revestidas com dextran (20 a 60 nm).⁷⁸

Raynal *et al.*⁷⁹ reportaram que a absorção de SPIOs revestidas com dextran (100 nm) pelos macrófagos peritoneais de ratos foi mediada via endocitose dependente de receptores (*scavenger receptor*-classe A (SR-A)). Partículas menores revestidas com dextran (20 nm) foram inicialmente absorvidas por pinocitose. As SPIOs internalizadas via caminho endocítico foram, então, sequestradas nos lisossomos. Essa absorção foi posteriormente influenciada por proteínas presentes no plasma que envolveram (opsonização) as nanopartículas de óxido de ferro.

Experimentos de biodistribuição demonstraram uma acumulação de 55% da dose de SPIOs revestidas com ácido oleico/surfactante (tamanho médio de 190 nm), injetadas intravenosamente em fígados de ratos, devido à eliminação das SPIOs pelo sistema mononuclear fagocitário. A eliminação via urina e fezes de aproximadamente 25% de SPIOs revestidas com dextran (tamanho médio de 80 nm) ocorreu em 19 dias em ratos, mas em outros modelos de animais, a eliminação de sistemas semelhantes ocorreu em 7 semanas.⁷⁸

Esses estudos mostram a importância de se usar diferentes sistemas celulares para o estudo toxicológico, uma vez que a absorção celular pode acontecer por diferentes caminhos, dependendo das propriedades das nanopartículas e do tipo específico de célula em questão.

Sílica porosa

O silício é abundante nos tecidos conjuntivos, cabelos, peles, tendões, músculos e ossos, sendo que espécies de silício livres dissolvidas na forma de ácido monossilícico podem difundir através do tecido celular em torno de um implante, entrar na corrente sanguínea ou linfa e, então, serem excretadas na urina. A sílica pode ser biodegradada em ácidos silícicos incluindo ácidos silícicos monoméricos e poliméricos. Os ácidos polissilícicos podem causar citotoxicidade via adsorção e ligação a enzimas e proteínas, enquanto o monomérico não se liga a proteínas, não provocando citotoxicidade.⁸⁰⁻⁸²

No caso de uma permanência da matriz de sílica a longo prazo *in vivo*, porções insolúveis poderão se acumular e necessitam ser removidas cirurgicamente. Desta forma, é essencial a investigação do comportamento de degradação destes materiais.⁸⁰

He *et al.*⁸⁰ mostraram os estudos de vários pesquisadores sobre a dissolução de matrizes de sílica derivadas do processo sol-gel, e concluíram que essa dissolução se passa em duas etapas: erosão da superfície seguida pela lenta degradação do material. Aparentemente, as matrizes de sílica derivadas do processo sol-gel, sílicas mesoporosas ordenadas e vidros mesoporosos bioativos mostram taxas de degradação da ordem de dias a meses.⁸¹⁻⁸⁴ Viitala *et al.*⁸⁴ estudaram a degradação da sílica cujo tempo variou de 4 dias (para os monólitos)

a aproximadamente 80 dias (para as micropartículas). Por outro lado, He *et al.*⁸⁰ observaram uma degradação *in vitro* extraordinariamente rápida (2 h) de sílica mesoporosa obtida a partir de tetraetilortossilicato, quando imerso em SBF (Fluido Corpóreo Simulado) à temperatura de 37 °C.

Em estudos *in vitro* com células de diferentes tipos, a absorção celular das nanopartículas mesoporosas se mostrou dependente do tamanho,⁸⁵ de sua carga superficial específica e do tipo celular.^{86,87} Nanopartículas de sílica mesoporosa com um tamanho de 50 nm acumularam-se na região perinuclear de células de carcinoma cervical. Kunzmann *et al.*⁷⁸ demonstraram que partículas mesoporosas foram capturadas pelos macrófagos primários humanos derivados de monócitos via processo ativo e a absorção celular foi independente da presença de plasma no meio de cultura, sugerindo que as partículas não opsonizadas estavam sendo reconhecidas pela células. Esses materiais foram, portanto, considerados não tóxicos para os macrófagos.

He *et al.*⁸⁸ fizeram um estudo da localização intracelular e da toxicidade de nano e micropartículas de sílica esférica mesoporosa, avaliando a influência do tamanho e concentração das matrizes, que forneceu evidências diretas da indução de dano ao lisossomo e morte celular. Os efeitos dos produtos da biodegradação, o surfactante residual e a remoção do surfactante por extração e calcinação na toxicidade também foram analisados. As partículas mesoporosas esféricas foram sintetizadas com três tamanhos diferentes (190, 420 e 1220 nm de diâmetro) para investigar sua toxicidade em células humanas de câncer de mama e células de rins de macaco africano. Os produtos de biodegradação das partículas esféricas não mostraram nenhuma toxicidade para as células sob um amplo intervalo de concentrações e todas as amostras investigadas mostraram baixa toxicidade. O surfactante residual CTAB, vinculado às partículas, apresentou uma contribuição muito menor à toxicidade do que o surfactante livre. A toxicidade foi correlacionada ao tamanho das partículas: partículas na nanoescala mostraram significante toxicidade a concentrações acima de 25 mg mL⁻¹, enquanto micropartículas mostraram ligeira toxicidade sobre o amplo intervalo de concentrações de 10 a 480 mg mL⁻¹.

Em trabalho recente, Hudson *et al.*⁸¹ testaram injeções subcutâneas de três tipos diferentes de sílica mesoporosa em ratos, observando que a quantidade residual dos materiais decresceu progressivamente após 3 meses, com boa biocompatibilidade e nenhuma toxicidade. Em contraste, injeções intraperitoneais e intravenosas em camundongos levaram à morte ou sofrimento dos animais, necessitando de eutanásia. Assim, apesar da reação local ter sido benigna, os materiais causaram severa toxicidade sistêmica, pelo menos com a administração de doses muito elevadas (30 mg por rato). Os estudos *in vitro* mostraram graus de toxicidade variáveis para os diferentes tipos de sílica mesoporosa em diferentes linhagens de células. As partículas sem surfactante foram altamente tóxicas para todas as três linhas de células testadas, presumivelmente devido ao surfactante catiônico residual presente nos poros, enquanto que o tamanho das partículas, neste caso, não apresentou influência significativa na toxicidade, cujo tamanho variou de 150-4000 nm.

COMENTÁRIOS FINAIS

O encapsulamento de nanopartículas magnéticas por sílica mesoporosa amorfa ou ordenada melhora sua dispersão, aumenta sua estabilidade química em meio biológico e reduz a toxicidade. Além disso, a sílica apresenta grupos silanóis em sua superfície que podem facilmente ser funcionalizados, servindo como matriz suporte para incorporar diversas moléculas de interesse farmacológico para uso na área biomédica, em diagnóstico e terapia.

Entretanto, apesar das significativas vantagens, já demonstradas, das propriedades destes nanocompósitos, os estudos envolvendo o uso

destes materiais ainda estão no início, já que alguns procedimentos de síntese ainda estão sendo modificados para aumentar o controle sobre sua morfologia e estrutura e, desta forma, melhorar seu desempenho em utilizações comerciais.

Estudos toxicológicos também estão sendo realizados, embora os resultados ainda pareçam conflitantes devido aos tipos de metodologias utilizadas. É muito importante estudar principalmente os efeitos de nanopartículas no organismo, magnéticas ou não, que são materiais muito reativos, e o efeito da degradação da sílica no organismo.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. William, D. F.; *The William Dictionary of Biomaterials*, Liverpool, 1999.
2. apud Dorozhkin, S. V.; *Glass and Ceramics* **2007**, 64, 11.
3. Park, J. B.; Bronzino, J. D.; *Biomaterials: principles and applications*, CRC PRESS: Boca Raton, 2002.
4. Smith, J. E.; Wang, L.; Tan, W. T.; *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2006**, 25, 848.
5. Jin, L.; Horgan, A.; Levicky, R.; *Langmuir* **2003**, 19, 6968.
6. Chastellain, M.; Petri, A.; Gupta, A.; Rao, K. V.; Hofmann, H.; *Adv. Eng. Mater.* **2004**, 6, 235.
7. Răcuciu, M.; *Analele Stiintifice ale Universitatii "Al. I. Cuza" Iasi Tomul II, s. Biofizică, Fizică medicală și Fizica mediului* **2006**, 67.
8. Brinker, C. J.; Scherer, G. W.; *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*, Academic Press Inc.: New York, 1990.
9. Hiratsuka, R. S.; Santilli, C. V.; Pulcinelli, S. H.; *Quim. Nova* **1995**, 18, 171.
10. Miranda, L. A.; Mohallem N. D. S.; Magalhães W. F.; *Appl. Surf. Sci.* **2006**, 253, 3466.
11. Dislich, H.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1971**, 10, 363.
12. Brinker, C. J.; Scherer, G. W.; Roth, E. P.; *J. Non-Cryst. Solids* **1985**, 72, 301.
13. Murherjee, S. P.; *J. Non-Cryst. Solids* **1982**, 48, 177.
14. Dislich, H.; Hinz, P.; *Thin Solids Films* **1982**, 48, 11.
15. Sakka, S.; Kamiya, K.; *J. Non-Cryst. Solids* **1982**, 48, 31.
16. Alfaya, A. A. S.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* **2002**, 25, 835.
17. Panjonk, G. M.; Venkateswara, A.; Sawant, B. M.; *J. Non-Cryst. Solids* **1997**, 209, 40.
18. Schneider, M.; Baiker, A.; *Catal. Rev. – Sci. Eng.* **1995**, 37, 515.
19. Silva, J. B.; Diniz, C. F.; Viana, A. P. P.; Mohallem, N. D. S.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2005**, 35, 115.
20. Silva, J. B.; Mohallem, N. D. S.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2010**, 55, 15.
21. Beck, J. S.; Vartuli, J. C.; Roth, W. J.; Leonowicz, M. E.; Kresge, C. T.; Schmitt, K. D.; Chu, C. T-W.; Oslon, D. H.; Sheppard, E. W.; McCullen, S. B.; Higgins, J. B.; Schlenker, J. L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 10834.
22. Kresge, C. T.; Leonowicz, M. E.; Roth, W. J.; Vartuli, J. C.; Beck, J. S.; *Nature* **1992**, 359, 710.
23. Chen, L. Y.; Ping, Z.; Chuah, G. K.; Jaenicke, S.; Simon G.; *Microporous Mesoporous Mater.* **1999**, 27, 231.
24. Choi, D. G.; Yang, S. M.; *J. Colloid Interface Sci.* **2003**, 261, 127.
25. Soler-Illia, G. J. A. A.; Sanchez, C.; Lebeau, B.; Patarin, J.; *Chem. Rev.* **2002**, 102, 4093.
26. Raman, N. K.; Anderson, M. T.; Brinker, C. J.; *Chem. Mater.* **1996**, 8, 1682.
27. Taguchi, A.; Schüth, F.; *Microporous Mesoporous Mater.* **2005**, 77, 1.
28. Tanev, P. T.; Pinnavaia, T. J.; *Science* **1995**, 267, 865.
29. Boissière, C.; van der Lee, A.; El Mansouri, A.; Larbot, A.; Prouzet, E.; *Chem. Commun.* **1999**, 2047.

29. Jung, J. S.; Choi, K. H.; Jung, Y. K.; Lee, S. H.; Golub, V. O.; Malkinski L.; O'Connor, C. J.; *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, 272-276, 1157.
30. Zhao, D.; Feng, J.; Huo, Q.; Melosh, N.; Fredrickson, G. H.; Chmelka, B. F.; Stucky, G. D.; *Science* **1998**, 279, 548.
31. Bruce, I. J.; Taylor, J.; Todd, M.; Davies, M. J.; Borioni, E.; Sangregorio, C.; Sem, T.; *J. Magn. Magn. Mater.* **2004**, 284, 145.
32. De, M.; Ghosh, P. S.; Rotello, V. M.; *Adv. Mater.* **2008**, 20, 4225.
33. Zhao, X. J.; Tapecc-Dytioco, R.; Wang, K. M.; Tan, W. H.; *Anal. Chem.* **2003**, 75, 3476.
34. Liu, X.; Xing, J.; Guan, Y.; Guobin, S.; Liu, H.; *Colloids Surf., A* **2004**, 238, 127.
35. Sen, T.; Sebastianelli, A.; Bruce, I. J.; *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7130.
36. Xie, T.; Wang, A.; Huang, L.; Li, H.; Chen, Z.; Wang, Q.; Yin, X.; *African J. Biotechnol.* **2009**, 8, 4724.
37. Langer R.; *Science* **1990**, 249, 1527.
38. Ogawa, C. A.; Plepis, A. M. G.; *Polímeros: Ciência e Tecnologia* **2002**, 12, 115.
39. Baro, M.; Sánchez, E.; Delgado, A.; Perera, A.; Évora, C.; *J. Controlled Release* **2002**, 83, 353.
40. Martins, V. C. A.; Goissis, G.; *Artificial Organs* **2000**, 24, 224.
41. Barroug, A.; Kuhn, L. T.; Gerstenfeld, L. C.; Glimcher, M. J.; *J. Orthop. Reserc.* **2004**, 22, 703.
42. Lien, Y. H.; Wu, T. M.; *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, 326, 517.
43. Chen, F. H.; Gao, Q.; Ni, J. Z.; *Nanotechnology* **2008**, 19, 165103.
44. Wang, Y. G.; Ren, J. W.; Liu, X. H.; Wang, Y. Q.; Guo, Y.; Guo, Y. L.; Lu, G. Z.; *J. Colloid Interface Sci.* **2008**, 326, 158.
45. Huang, S. S.; Yang, P. P.; Cheng, Z. Y.; Li, C.; Fan, Y.; Kong, D.; Lin, J.; *J. Phys. Chem. C* **2008**, 112, 7130.
46. Souza, K. C.; Salazar-Alvarez, G.; Ardisson, J. D.; Macedo, W. A. A.; Sousa, E. M. B.; *Nanotechnology* **2008**, 19, 185603.
47. Souza, K. C.; Ardisson, J. D.; Sousa, E. M. B.; *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2009**, 20, 507.
48. Zhu, S.; Zhou, Z.; Zhang, D.; Jin, C.; Li, Z.; *Microporous Mesoporous Mater.* **2007**, 106, 56.
49. Ruiz-Hernandez, E.; Lopez-Noriega, A.; Arcos, D.; Izquierdo-Barba, I.; Terasaki, O.; Vallet-Regí, M.; *Chem. Mater.* **2007**, 19, 3455.
50. Ruiz-Hernandez, E.; López-Noriega, A.; Arcos, D.; Vallet-Regí, M.; *Sol. State Sci.* **2008**, 10, 421.
51. Lee, K.; Cheong, C.; Hong, K. S.; Koh, E. K.; Kim, M.; Shin, H. S.; Kim, Y.-N.; Lee, S. H.; *J. Korean Phys. Soc.* **2008**, 53, 2535.
52. Lee, K.; Park, C.; Moona, H.-Y.; Ahn, E.; Park, H. E.; Ihm, S.-H.; Seung, K.-B.; Yoon, T.-J.; Chang, K.; Lee, C.; Cheong, C.; Hong, K. S.; *Curr. Appl. Phys.* **2009**, 9, S12.
53. Lawaczeck, R.; Menzel, M.; Pietsch, H.; *Appl. Organomet. Chem.* **2004**, 18, 506.
54. Corot, C.; Robert, P.; Idée, J. M.; Port, M.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, 58, 1471.
55. Yoon, T. J.; Kim, J. S.; Kim, B. G.; Yu, K. N.; Cho, M. H.; Lee, J. K.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2005**, 44, 1068.
56. Kim, J. S.; Yoon, T.-J.; Yu, K.-N.; Noh, M. S.; Woo, M.; Kim, B.-G.; Lee, K.-H.; Sohn, B.-H.; Park, S.-B.; Lee, J.-K.; Cho, M.-H.; *J. Veterinary Sci.* **2006**, 7, 321.
57. Lu, C. W.; Hung, Y.; Hsiao, J.-K.; Yao, M.; Chung, T.-H.; Lin, Y.-S.; Wu, S.-H.; Hsu, S.-C.; Liu, H.-M.; Mou, C.-Y.; Yang, C.-S.; Huang, D.-M.; Chen, Y.-C.; *Nano Lett.* **2007**, 7, 149.
58. Lukyanov, A. N.; Sawant, R. M.; Hartner, W. C.; Torchilin, V. P.; *J. Biomater. Sci.* **2004**, 15, 621.
59. Sung, C. K.; Hong, K. A.; Lin, S.; Lee, Y.; Cha, J.; Lee, J.-K.; Hong, C. P.; Han, B. S.; Jung, S. I.; Kim, S. H.; Yoon, K. S.; *Korean J. Radiology* **2009**, 10, 613.
60. Sousa, M. H.; Tourinho, F. A.; Depeyrot, J.; Silva, G. J.; Lara, M. C. F. L.; *J. Phys. Chem. B* **2001**, 105, 1168.
61. Lin, Y. S.; Wu, S. H.; Hung, Y.; Chou, Y. H.; Chang, C.; Lin, M. L.; Tsai, C. P.; Mou, C. Y.; *Chem. Mater.* **2006**, 18, 5170.
62. Kim, J.; Kim, H. S.; Lee, N.; Kim, T.; Kim, H.; Yu, T.; Song, I. C.; Moon, W. K.; Hyeon, T.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, 47, 8438.
63. Okuhata, Y.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **1999**, 37, 121.
64. Arruebo, M.; Galan, M.; Navascues, N.; Tellez, C.; Marquina, C.; Ibarra, M. R. Santamaria, J.; *Chem. Mater.* **2006**, 18, 1911.
65. Gupta, R. B.; Kompella, U. B.; *Nanoparticle Technology for Drug Delivery*, Ed. Taylor & Francis: New York, 2006, vol. 159.
66. Ito, A.; Shinkai, M.; Honda, H.; Kobayashi, T.; *J. Biosci. Bioeng.* **2005**, 100, 1.
67. Bae, S.; Lee, S. W.; Hirukawa, A.; Takemura, Y.; Jo, Y. H.; Lee, S. G.; *IEEE Transactions on Nanotechnology* **2009**, 8, 86.
68. Kawashita, M.; Tanaka, M.; Kokubo, T.; Inoue, Y.; Yao, T.; Hamada, S.; Shinjo, T.; *Biomaterials* **2005**, 26, 2231.
69. Kalambur, V. S.; Han, B.; Hammer, B. E.; Shield, T. W.; Bischof, J. C.; *Nanotechnology* **2005**, 16, 1221.
70. Hergt, R.; Andra, W.; d'Ambly, C. G.; Hilger, I.; Kaiser, W. A.; Richter, U.; Schmidt, H. G.; *IEEE Trans. on Magn.* **1998**, 34, 3745.
71. Hu, S. H.; Liu, T. Y.; Huang, H. Y.; Liu, D. M.; Chen, S. Y.; *Langmuir* **2008**, 24, 239.
72. Julian-Lopez, B.; Boissiere, C.; Chaneac, C.; Grosso, D.; Vasseur, S.; Miraux, S.; Duguet, E.; Sanchez, C.; *J. Mater. Chem.* **2007**, 17, 1563.
73. Souza, K. C.; Mohallem, N. D. S.; Sousa, E. M. B.; *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **2010**, 53, 418.
74. Brille-Saebo, K.; Bjornerud, A.; Grant, D.; Ahlstrom, H.; Berg, T.; Kindberg, G. M.; *Cell Tissue Res* **2004**, 316, 315.
75. Lunov, O.; Syrovets, T.; Röcker, C.; Tron, K.; Nienhaus, G. U.; Rasche, V.; Mailänder, V.; Landfester, K.; Simmet, T.; *Biomaterials* **2010**, 31, 9015.
76. Lévy, M.; Lagarde, F.; Maralioi, V. A.; Blanchin, M. G.; Gendron, F.; Wilhelm, C.; Gazeau, F.; *Nanotechnology* **2010**, 21, 395103.
77. Beard, J. L.; Dawson, H.; Pinero, D. J.; *Nutr. Rev.* **1996**, 54, 295.
78. Kunzmann, A.; Andersson, B.; Thurnherr, T.; Krug, H.; Scheynius, A.; Fadeel, B.; *Biochim. Biophys. Acta* **2011**, 1810, 361.
79. Raynal, I.; Prigent, P.; Peyramaure, S.; Najid, A.; Rebuzzi, C.; Corot, C.; *Invest. Radiol.* **2004**, 39, 56.
80. He, Q.; Shi, J.; Zhu, M.; Chen, Y.; Chen, F.; *Microporous Mesoporous Mater.* **2010**, 131, 314.
81. Hudson, S. P.; Padera, R. F.; Langer, R.; Kohane, D. S.; *Biomaterials* **2008**, 29, 4045.
82. He, Q.; Zhang, Z.; Gao, F.; Li, Y.; Shi, J.; *Small* **2011**, 7, 271.
83. Li, X.; Zhang, L.; Dong, X.; Liang, J.; Shi, J.; *Microporous Mesoporous Mater.* **2007**, 102, 151.
84. Viitala, R.; Jokinen, M.; Rosenholm, J. B.; *Int. J. Pharm.* **2007**, 336, 382.
85. Vallhov, H.; Gabrielsson, S.; Stromme, M.; Scheynius, A.; Garcia-Bennett, A. E.; *Nano Lett.* **2007**, 7, 3576.
86. Chung, T. H.; Wu, S. H.; Yao, M.; Lu, C. W.; Lin, Y. S.; Hung, Y.; Mou, C. Y.; Chen, Y. C.; Huang, D. M.; *Biomaterials* **2007**, 28, 2959.
87. Tao, Z.; Toms, B. B.; Goodman, J.; Asefa, T.; *Chem. Res. Toxicol.* **2009**, 22, 1869.
88. He, Q.; Zhang, Z.; Gao, Y.; Shi, J.; Li, Y.; *Small* **2009**, 5, 2722.



Review

From iron oxide nanoparticles towards advanced iron-based inorganic materials designed for biomedical applications

Albert Figuerola^a, Riccardo Di Corato^b, Liberato Manna^a, Teresa Pellegrino^{a,b,*}

^a Istituto Italiano di Tecnologia, via Morego 30, 16163 Genova, Italy

^b National Nanotechnology Laboratory of CNR-INFM, via per Arnesano km 5, 73100 Lecce, Italy

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 December 2009

Accepted 21 December 2009

Keywords:

Magnetic nanoparticles
Multifunctional hybrid materials
Inorganic nanostructures
Iron oxide nanoparticles

ABSTRACT

In the last decade the progress achieved on the synthesis of inorganic nanostructures has been accompanied by the parallel exploitation of these systems in various fields, among them are biology and medicine. We provide here an overview of the iron-based inorganic nanostructured materials that have been developed and tested in these fields. We will highlight the major concepts on the preparation, physical properties and applications of such nanostructures, starting from the most investigated iron oxide nanoparticles. We will describe then the new generation of inorganic hybrid nanostructures, which are structures that integrate in each nano-object multiple inorganic nanocrystals of different materials. In our discussion we will focus on those works that have provided a sound proof of concept on the potential of the various systems as diagnostic and therapeutic agents.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

| | |
|---|-----|
| 1. Introduction | 126 |
| 2. Iron oxide nanoparticles | 127 |
| 2.1. Synthesis of magnetic nanoparticles | 128 |
| 2.2. Generalities of magnetic nanoparticles | 128 |
| 3. Engineering magnetic nanoparticles for magnetic resonance imaging techniques | 129 |
| 3.1. Ongoing research of iron oxide nanoparticles as contrast agents for MRI | 131 |
| 3.1.1. Stem cell tracking | 131 |
| 3.1.2. Transplant monitoring | 132 |
| 4. Engineering the magnetic nanoparticles for hyperthermia treatment | 132 |
| 4.1. Clinical studies of iron oxide nanoparticles as hyperthermia mediators | 135 |
| 5. Engineering iron oxide nanoparticles for medical purposes | 136 |
| 5.1. Biocompatibility of iron oxide nanoparticles | 136 |
| 5.2. Specific targeting of iron oxide nanoparticles | 137 |
| 5.3. Iron oxide nanoparticles as smart delivery systems for therapeutic agents | 137 |
| 5.4. Multimodal iron oxide based composites | 138 |
| 6. Inorganic iron-based materials as diagnostic and therapeutic tools | 138 |
| 6.1. Iron-based inorganic nanoparticles of chemical composition different from iron oxide | 138 |
| 6.2. Core-shell nanostructures | 139 |
| 6.3. Hollow nanostructures | 139 |
| 6.4. Dumbbell-like heterostructures | 140 |
| 7. Conclusions and perspectives | 141 |
| References | 141 |

1. Introduction

Iron oxide nanoparticles, due to their magnetic properties, can be used as magnetic resonance imaging agents in diagnostic, as heat mediators in hyperthermia treatments, and additionally as

* Corresponding author at: National Nanotechnology Laboratory of CNR-INFM, via per Arnesano km 5, 73100 Lecce, Italy.

E-mail address: teresa.pellegrino@unile.it (T. Pellegrino).

magnetic guidance in drug delivery applications. Many iron oxide-based formulations (both based on bare nanoparticles and on nanoparticles coupled to different carriers like polymers, liposome, micelles matrix) are in clinical trials and few of them have reached the market [1]. These achievements clearly demonstrate that the investigation on these nanostructures is quickly progressing from basic research to the development of viable pharmaceutical products, although there is still an intense research focused on these materials. The aim of these studies is to improve the magnetic performance of the iron oxide nanoparticles in order to obtain more efficient systems that would allow reducing the doses of nanoparticles needed. Further engineering of these nanoparticles and of their formulation will allow to improve their delivery, making them more selective and thus more efficient. In addition, further miniaturization of the nanoparticles will help to improve their colloidal stability and at the same time will provide them with more overall surface area for functionalization.

In this scenario, new synthetic chemistry approaches continue to uncover more elaborate nanocrystal structures, which is expected to expand further the range of biomedical applications of iron-based nanomaterials. The main challenge of these chemical approaches is the controlled synthesis of nanostructures such that they are uniform in size, shape, chemical composition, they are produced in high yields, and they are stable in biological environments. As one example, it is now possible by colloidal methods to synthesize in the solution phase inorganic nanostructures in which various domains, each made of a distinct material, are joined together in a variety of possibilities (see Fig. 1 for a set of examples). The main interest in these nanocrystals is that each of these domains will be capable in principle to accomplish a specific task.

It is expected that these completely inorganic nanostructures will offer several advantages. As one material is grown directly on top of the other, the overall size of the nano-object is still small (i.e. in the range of a few nm or of a few tens of nm). A possible advantage here is the higher surface per volume ratio compared to that of nanoparticles-based on the encapsulation of the different building blocks, which is expected to provide higher sensitivity.

In addition, the huge surface available could allow for: (i) higher loading capacity of the drug that could be attached at the nanoparticles, thus improving the dose of nanostructures needed as shuttle for the delivery; (ii) a larger number of targeting biomolecules that could be associated with the surface of the nanostructures, which would provide a more efficient system for the recognition towards targeted cells or tissues. Also, the small size could suggest the easier task to improve the colloidal stability of the nanostructures as compared to much denser nanoparticle-based therapeutics. Additionally, interesting features might arise from the merging of different inorganic nanoparticles at their interface, which might be translated into new applications.

This review is organized as follows: after introducing the most popular synthesis methods of the nanoparticles, their magnetic properties will be discussed. The aim is to highlight the physical parameters of the magnetic nanoparticles that could be manipulated in order to prepare a second generation of nanoparticles having better performance than those currently investigated for hyperthermia and for MRI applications. Also, relevant aspects related to the engineering of the nanoparticles surface will be considered, and we will underline the challenges and the limitations that have been faced up to date. We will then describe iron-based nanostructures made of one or more completely inorganic building blocks fabricated by colloidal methods and will provide examples of inorganic nanostructures as therapeutic tools and imaging systems.

2. Iron oxide nanoparticles

Iron oxide is the material that is investigated the most in biomedical techniques, due to its superior biocompatibility with respect to other magnetic materials, both based on oxides or on pure metals. Several types of iron oxides exist in nature and can be prepared in the laboratory, but nowadays only maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) and magnetite (Fe_3O_4) are able to fulfill the necessary requirements for biomedical applications. These requirements include sufficiently high magnetic moments, chemical stability in physiological conditions and low toxicity, not to mention the easy

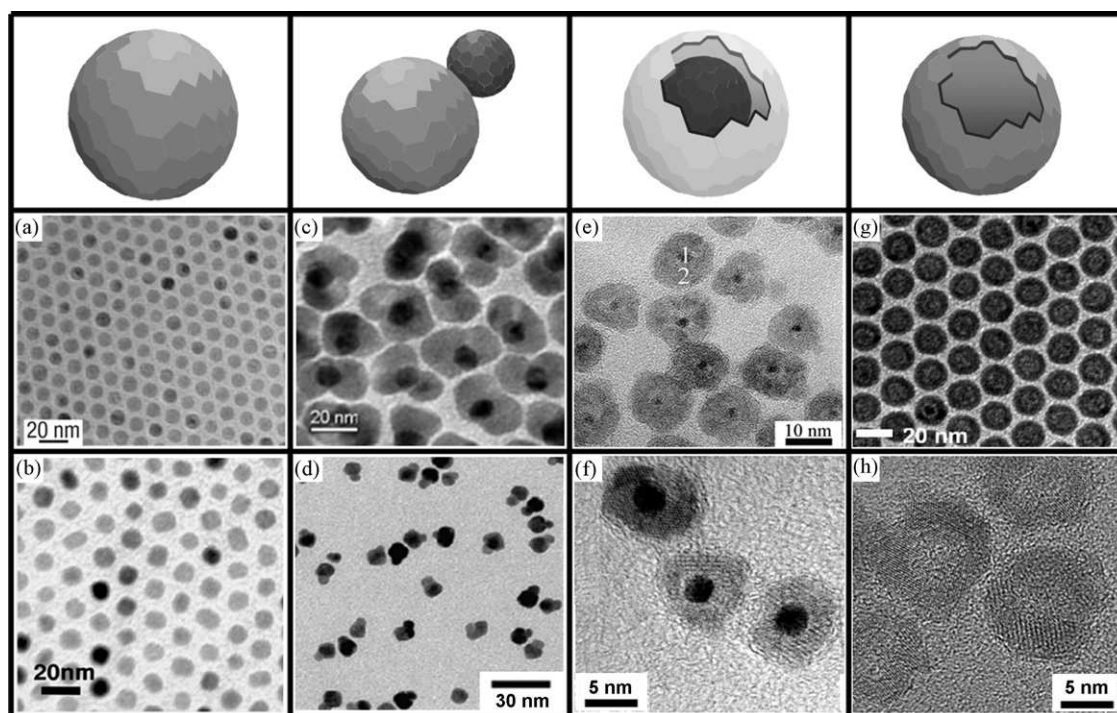


Fig. 1. Example of iron-based inorganic nanostructures now available. Fe_3O_4 nanoparticles (a, [2]), FePt alloy (b, [3]), heterodimers based on $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ (c, [4]) or FePt-Au (d, [5]), yolk-shell nanostructures composed by FePt core and CoS_2 shell (e, [6]) or Pt- Fe_2O_3 (f, [7]), hollow nanocrystals based on Fe_3O_4 (g, [8]) or $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (h, [7]).

and economical synthetic procedures available for the preparation of these materials. The degree of atomic order in the iron oxide lattice, or in other words its degree of crystallinity, as well as the dispersity in terms of size and shape of the nanoparticles are critical parameters that affect their performance in therapeutic and diagnostic techniques, such as MRI and hyperthermia. These parameters are strongly correlated to the approach followed for their preparation.

2.1. Synthesis of magnetic nanoparticles

Several synthetic procedures have been developed to synthesize iron oxide nanoparticles [9]. The simplest, cheapest and most environmentally-friendly procedure is based on the co-precipitation method, which involves the simultaneous precipitation of Fe^{2+} and Fe^{3+} ions in basic aqueous media [10–12]. Indeed the commercially available T_2 contrast agents have been synthesized following this method. During or after their preparation, the nanoparticles are usually coated with hydrophilic polymers such as dextran in order to guarantee their stability under physiological conditions. Elmore et al. and Cox et al. reported independently the first examples of polymer stabilization that later allowed for the preparation of the stable iron oxide contrast agents that are commercialized nowadays [13,14].

In the co-precipitation method the reaction temperature is limited by the boiling point of water, and iron oxide nanoparticles synthesized under these conditions exhibit usually a low degree of crystallinity and large polydispersity. An improvement in this direction was represented by the synthesis routes employing water-in-oil microemulsions [15]. In these approaches, a certain amount of water is added to a large amount of non-polar solvent (oil) and, in the presence of appropriate amphiphilic surfactant molecules, homogeneously distributed droplets of water stabilized by the surfactant molecules act as micro or nano-reactors for the nucleation and controlled growth of iron oxide nanoparticles. In these syntheses an improvement in the dispersity of the particles was reported, due to the size confinement offered by the water pool inside each micelle. Even in these cases however the limited reaction temperature achievable leads to a low crystallinity of the material and additionally the products are obtained in low yields.

Hydrothermal synthesis techniques are an alternative method for the preparation of highly crystalline iron oxide nanoparticles [16]. In this case a mixture of iron salts dissolved in aqueous media is introduced in a sealed teflon container and heated above the boiling temperature of water, and consequently the reaction pressure is increased much above atmospheric pressure. The synergistic effect of high temperatures and pressures strongly improves the quality of the nanocrystals and hence their magnetic features. Unfortunately, and in contrast to the microemulsion technique, there is no straightforward way to control the size and the shape of the final particles and usually polydisperse samples are obtained.

In the last decade, significant advances have been made on the colloidal synthesis of nanocrystals in high-boiling point organic solvents [2]. This procedure relies usually on the high temperature decomposition of organometallic precursors in presence of an appropriate mixture of surfactant molecules that regulate the nucleation and growth kinetics of the particles. Airless synthetic techniques are often required in these cases due to the use of air-sensitive molecular precursors, and the method cannot be regarded as the most environmentally-friendly one because of the use of often toxic chemicals in the synthesis. On the other hand, the high temperatures at which the reactions take place and the presence of amphiphilic surfactant molecules in a non-polar medium yield high quality samples, in terms of crystallinity and size dispersion. In addition, reasonable amounts of product are produced and the approach can be up-scalable. This method offers also one more

unique feature: so far it is the only preparation route that can deliver high quality inorganic hybrid nanocrystals in which at least two different materials are confined in a single nanoparticle, as we shall describe later [17,18]. Indeed, a wide range of protocols have been developed for the preparation of nanocrystals that were then exploited in multimodal imaging or in multifunctional biomedical techniques (these will be described later). Together with an easier engineering of the magnetic core, this thermal decomposition method introduces also new problems to face: due to the presence of a hydrophobic coating on the surface of the nanoparticles, a surface manipulation step is required in order to render the nanoparticles water-soluble, biocompatible and target-specific (thus suitable for biomedical applications). In this review article we will discuss procedures for engineering both the core and the surface of the magnetic nanostructures which are already in use or which can be potentially used in biomedicine.

2.2. Generalities of magnetic nanoparticles

Magnetic materials are characterized by the presence of magnetic dipoles generated by the spinning of some of their electrons. Each of these polarized electrons can be aligned in a parallel or antiparallel fashion with respect to the neighboring ones in the crystal lattice and this type of interaction is what gives rise to the macroscopic magnetic effect that we can measure. Depending on the magnetic response observed, we can classify magnetic materials as paramagnets, ferromagnets, ferrimagnets or antiferromagnets. However, such behaviors are strongly size-dependent and consequently one should keep in mind that, at a particular temperature, the magnetic behavior of any material can be altered by tuning its size [19].

A material in a paramagnetic phase is characterized by randomly oriented (or uncoupled) magnetic dipoles, which can be aligned only in the presence of an external magnetic field and along its direction. This type of material has no coercivity nor remanence, which means that when the external magnetic field is switched off, the internal magnetic dipoles randomize again, no extra energy is required to demagnetize the material and hence the initial zero net magnetic moment is spontaneously recovered, see Fig. 2. A nanoparticle with such magnetic behavior is *superparamagnetic* (SPM).

Alternatively, the individual magnetic dipoles in a crystal can align parallel one to the other, hence exhibiting an enhanced collective response even in the absence of an external magnetic field. This is what is known as *ferromagnetism*. In this case three main parameters can describe the strength and magnetization of the material and are: the coercive field, H_C , the external field of opposite sign required to reduce the magnetization back to zero; this parameter represents also the minimum energy required for the reversal

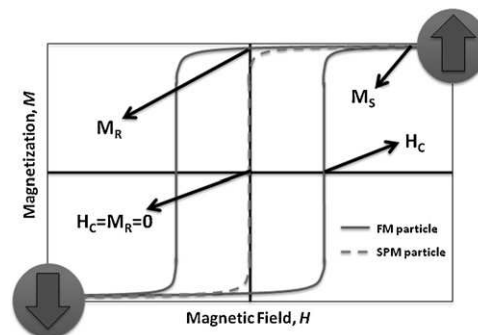


Fig. 2. Theoretical magnetization versus magnetic field curve for superparamagnetic (SPM) and ferro- or ferromagnetic nanoparticles (FM) where the coercive field (H_C), the saturation magnetization (M_S) and the remanent magnetization (M_R) parameters are indicated.

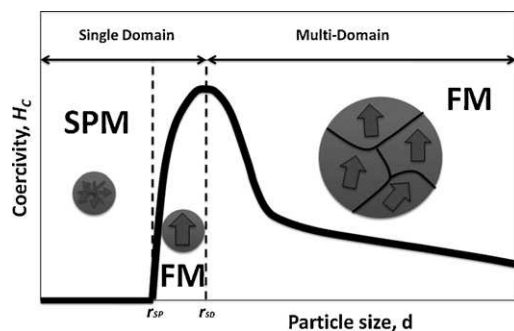


Fig. 3. Variation of the coercivity (H_c) of magnetic nanoparticles with size.

of the magnetization of the material. H_c is strictly related to the *magnetic anisotropy constant* (K_u) that determines the energy to be overcome in order to invert the direction of the magnetic dipoles of the material. K_u can have different contributions, which arise from the symmetry of the crystal lattice, the surface contribution with respect to the core of the nanoparticle, and from the shape of the nanoparticle. The second parameter is the saturation magnetization, M_s , which is the maximum value of magnetization that the material can reach under the effect of sufficiently high magnetic fields. The third is the remanent magnetization, M_R , which indicates the residual magnetization at zero applied field. These three parameters can be easily identified in the hysteresis loop generated in field-dependent magnetization measurements, see Fig. 2. Bulk metals such as Fe, Co or Ni as well as some of their alloys (FePt, FeCo) are ferromagnetic materials. In contrast to the ferromagnetic situation, neighboring magnetic dipoles can align antiparallel in the lattice, which means that they will cancel each other (repulsion of magnetic dipoles). This type of magnetic exchange can lead to two different situations, namely *antiferromagnetism*, when the magnetic dipoles or interacting spins have the same value and hence the material shows a net zero magnetization, and *ferrimagnetism* when the two coupled spins show different values and in that case a net magnetic dipole different than zero will still magnetize the material, even in the absence of an external magnetic field. The former case lacks of interest for biomedical applications due to the zero net magnetic moment arising in such materials. The latter instead is much more interesting and actually iron oxide (both bulk magnetite and maghemite) belongs to the *ferrimagnetic* class of materials.

The size reduction of magnetic materials shows interesting advantages that make them more suitable for therapeutic and diagnostic techniques compared to their bulk counterparts. Magnetic parameters such as the coercivity of the nanoparticles can be finely tuned by decreasing their size. Consequently the biomedical performance of the sample can be optimized to the practical requirements. Moreover, a further reduction of the size below a certain value of the radius, the so-called *superparamagnetic radius* (r_{SP}), induces a magnetic transition in particles where both *ferro-* and *ferrimagnetic* nanoparticles (FM) become *superparamagnetic* and, as previously said, high magnetic moments are observed under the effect of a magnetic field, but no remanent magnetic moment will be present when the external magnetic field is removed. This property translates into a significant advantage, especially in *in vivo* experiments: the absence of coercivity, or in other words the zero net magnetic moment of the nanoparticles after concluding the diagnostic measurement or the therapy will prevent the potential aggregation of the particles that could easily cause the formation of embolisms in the blood vessels. *Superparamagnetism* is a property strictly associated to nanostructured magnetic materials and arises when the thermal energy is sufficiently high to overcome the magnetic stabilization energy of the particle. Fig. 3 explains how the

coercivity of the nanoparticles varies when their size is decreased, until the superparamagnetic state is reached.

3. Engineering magnetic nanoparticles for magnetic resonance imaging techniques

Magnetic nanoparticles have been extensively used as contrast agents in magnetic resonance imaging techniques (MRI). The signal recorded during the MRI scan is related to the magnetic relaxation processes of the nuclear spins of the protons in the water molecules, in the area of interest. Under a given external magnetic field (B_0), the nuclear spins of the protons align with the field, giving rise to a net magnetic moment, m . If a resonant radio frequency transverse pulse (RF) is perpendicularly applied to B_0 , the nuclear spins are excited and start precessing in the plane perpendicular to B_0 . Upon removal of the RF transverse pulse, the nuclear spins gradually recover to their equilibrium state parallel to B_0 . The recovery of the equilibrium takes place via two different relaxation mechanisms: the longitudinal relaxation process (T_1) or in other words the recovery of the magnetic moment along the B_0 direction, and the transverse relaxation process (T_2), i.e. the loss of signal in the perpendicular plane, as shown in Fig. 4c and d. The presence of SPM nanoparticles in the organ or tissue creates an additional magnetic field (B_1) which induces local field inhomogeneities that significantly increase the speed of proton transverse relaxation (decrease of T_2), leading to a negative contrast or a darkening of the image [20] (Fig. 4e). This is why magnetic nanoparticles such as iron oxide are predominantly considered T_2 -contrast agents [1]. Relaxation times (T_i) are also expressed as their inverse values, called relaxivities ($r_i = 1/T_i$) and are expressed in s^{-1} or in the normalized units $s^{-1} \text{ mM}^{-1}$.

The ability of SPM nanoparticles to enhance image contrast increases with increasing magnetic moment of the nanoparticle. For one particular material, the maximum magnetization achievable corresponds to the bulk saturation magnetization and in principle such value could be reached irrespective of the size of the particle. In reality the atoms at the surface of a nanoparticle have incomplete coordination with respect to those in the bulk of the nanoparticle, hence their magnetic moments are oriented differently than those of the inner atoms. Consequently, the global magnetization of a nanocrystal is smaller than that of a larger particle or of the corresponding bulk solid. It is easy therefore to understand that the magnetization of a sample of nanoparticles increases with the increase in their average size and so does the T_2 -weighted image contrast.

This is actually what has been experimentally observed by Cheon and co-workers [21]. Various samples of nearly monodispersed SPM Fe_3O_4 nanoparticles, with sizes ranging from 4 to 12 nm, were prepared by the thermal decomposition method in organic solvents described above. By surfactant exchange reactions, the initial hydrophobic capping ligands were replaced by ligands that were able to stabilize the nanoparticles both in water and in phosphate-buffered saline solution (PBS) without any observable aggregation. Magnetic and relaxivity measurements (r_2) unambiguously indicated how the increase in size of the nanoparticles entailed an increase in magnetization and hence a higher contrast was achieved, see Fig. 5. The choice of the material is a critical aspect if one wants to prepare highly efficient nanostructured contrast agents based on small particles. Nanoparticles made of materials with magnetization and magnetic anisotropy values larger than those of iron oxide (both magnetite and maghemite) would allow for a contrast comparable to that obtainable with iron oxide, but with reduced doses of material. With such alternative materials, smaller nanoparticles could be used, which could probably prolong their circulation times compared to the larger iron oxide particles used nowadays. This could enable the imaging of areas of difficult

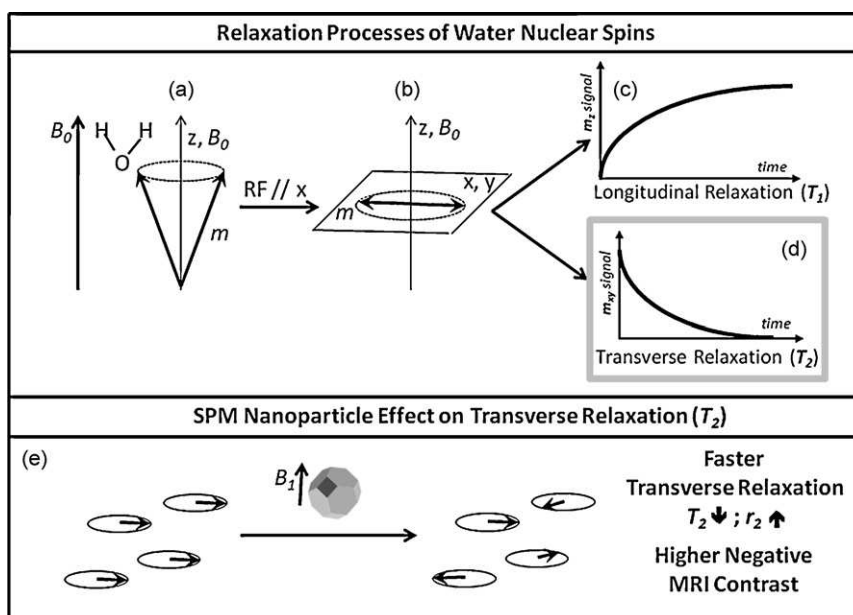


Fig. 4. Illustration of the magnetic resonance (MR) principle and the role of magnetic nanoparticles as a contrast agent: Above: (a) net magnetic spins (m) of water protons precess around the direction of the applied external magnetic field (B_0); (b) upon application of a RF pulse, m begins precessing perpendicularly to B_0 ; (c) m relaxes back to its original equilibrium states through longitudinal (T_1) and (d) transverse (T_2) modes; (e) in the presence of magnetic nanoparticles, the spins of the water protons start precessing non-homogeneously under the additional effect of the local dipolar field (B_1) originated by the nanoparticles. Consequently they relax faster and induce a strong MRI signal, which produces strong MR contrast effects.

access for longer periods of time, without requiring potential posterior doses. In the search for alternative materials to iron oxide, Lee et al. reported on the synthesis of monodisperse nanoparticles of equal size (12 nm) of several ferrite materials of general formula, MFe_2O_4 where M is a +2 cation of Mn, Fe, Co or Ni [22]. The differences in crystallographic and magnetic structures between the various nanostructured materials were evident in the different magnetization behaviors of the samples.

The lowest magnetization was recorded on the 12 nm-sized Ni ferrite particles (85 emu/g), followed by Co and Fe ferrites and then by the 12 nm-sized $MnFe_2O_4$ nanoparticles, which showed both the highest magnetization value (110 emu/g) and the highest relaxivity values (hence the highest contrast). In another work instead Kim et al. found higher T_2 -weighted image contrasts when using 7 nm- $CoFe_2O_4$ nanoparticles than $MnFe_2O_4$ nanoparticles of similar sizes [23].

It is important to notice that while in all materials the magnetization decreases with decreasing nanoparticle size, the correlation between magnetization and size depends on the magnetic anisotropy constant (K_u) which is unique for each material. Hence the lowest the constant, the fastest the decrease of magnetization with size will be. $MnFe_2O_4$ for example is characterized by a low value of K_u , and consequently its magnetization will be more dependent on the size than that of $CoFe_2O_4$, which is characterized by a high value of K_u . Another important remark is that materials with high magnetic anisotropies can possess a non-negligible magnetization even at very small sizes, which can be useful in many applications.

Metal alloys usually show higher magnetization values compared to their oxidized counterparts and for this reason they are considered as potential highly efficient contrast agents for MRI techniques. It was found recently that FePt nanoparticles exhibit significantly short T_2 relaxation times and values of r_2 around 300–400 s^{-1} were measured for a 1 mM solution of nanoparticles [25], close to the values observed for $MnFe_2O_4$ in the work of Lee et al. [22]. Seo et al. reported on 7 nm FeCo nanoparticles coated with a graphitic shell that were characterized by ultra high values of magnetization and excellent values of r_2 , which were around 600–700 s^{-1} for a 1 mM solution of nanoparticles [24]. A high image contrast was achieved by using nanoparticle concentrations much lower than those required with commercially available iron oxide-based contrast agents (see Fig. 6). The authors showed additionally that these FeCo core-graphitic shell nanoparticles were also efficient T_1 contrast agents even when particles smaller than 4 nm were employed. Such dual contrast agent capability is hard to achieve with iron oxide nanoparticles.

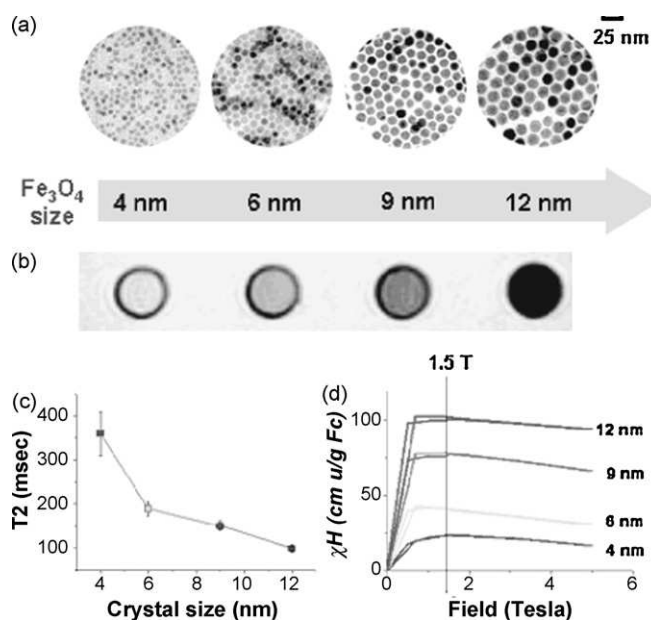


Fig. 5. Nanoscale size effect of Fe_3O_4 nanocrystals on magnetism and induced MR signals. (a) TEM images of Fe_3O_4 nanocrystals of 4, 6, 9, and 12 nm diameter. (b) Size-dependent T_2 -weighted MR images of Fe_3O_4 nanocrystals in aqueous solution at 1.5 T. (c) Graph of T_2 value versus Fe_3O_4 nanocrystal size. (d) Magnetization of Fe_3O_4 nanocrystals measured by a SQUID magnetometer (adapted with permission from Jun et al.) [21].

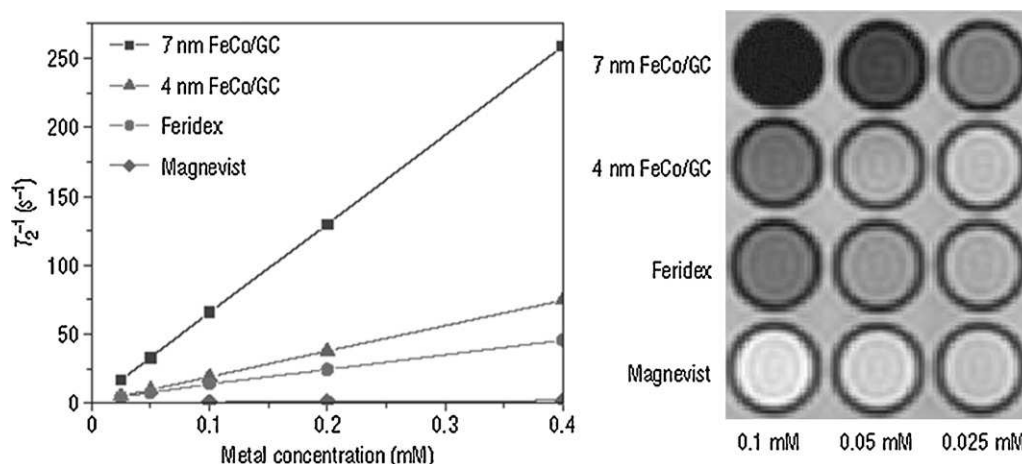


Fig. 6. MR measurements and imaging of functionalized FeCo/graphitic shell nanocrystals, Feridex and Magnevist commercial available solutions. (left) T_2^{-1} versus metal concentration for the various solutions. (right) MR images of various contrast agents at three metal concentrations generated on a T_2 -weighted spin-echo sequence with an echo time (TE) of 60 ms and pulse repetition time (TR) of 3000 ms (adapted with permission of: Seo et al.) [24].

3.1. Ongoing research of iron oxide nanoparticles as contrast agents for MRI

It is worth to notice that most of the iron-based nanoparticles highlighted above have not been exploited yet for biomedical applications and ongoing research should address their feasibility for such purposes. On the other hand to date several iron oxide-based nanoparticles formulations had been approved by FDA for clinical investigations, mainly for application as contrast agents in MRI [1]. In nearly all the clinical studies the iron oxide nanoparticles were synthesized via hydrolytic routes, since these are easy to prepare with such approaches. Hence they were characterized by broad particle size distributions and low crystallinity. Those studies have also underlined that for any medical application the behavior of the nanoparticles in physiological medium is as crucial as the choice of the magnetic material itself.

It is generally accepted that when introduced in aqueous environment, iron oxide nanoparticles with an overall hydrodynamic size larger than 40 nm are called SPIO (SuperParamagnetic Iron Oxide), while those with hydrodynamic size smaller than 40 nm are called USPIO (UltraSmall SuperParamagnetic Iron Oxide). Currently, most of the iron oxide preparations on sale are composed of SPIO in a size range from 60 nm to some micrometers. When these types of nanocrystals are intravenously injected, they are quickly up-taken by the reticulo-endothelial system (RES) and consequently they accumulate in the liver and in the spleen, since those are the organs in charge of blood purification. Due to such accumulation effect SPIO nanoparticles have been exploited for the detection of lesions and tumors in the liver [26]. The short blood half-life of these SPIO, ranging from a few minutes to some hours, prevents their application in tissue specific tumor targeting [27]. On the other hand the USPIO nanoparticles, primarily because they are much smaller than the SPIO, do not accumulate in the RES system and thus are characterized by longer blood circulating times [1].

In addition to cancer imaging, the use of iron oxide nanoparticles as MRI contrast agents has been exploited in two additional interesting applications in medicine: the *in vivo* tracking of iron oxide doped stem cells and the *in vivo* monitoring of transplanted tissues. These two applications require a system being able to be examined over a long term (even for weeks or months). Iron oxide nanoparticles, due to their low cytotoxicity and negligible interference with normal cellular physiology, offer this possibility.

3.1.1. Stem cell tracking

In the emergent field of regenerative medicine, an important challenge is to understand the fate of stem cells after their introduction in the body. MRI should be a suitable tool for following this fate, because of its non-invasive aspect. To achieve this goal, it is important to develop a non-immunogenic system compatible with cell pathways. In one of the first reports Weissleder et al. [28] used 5 nm USPIO coated with a cross-linked dextran layer that acted as tracking agent. The outer surface of the particles was derivatized with a modified version of TAT sequence, namely a membrane translocation signal derived from HIV-1 virus, in order to enhance the cellular uptake of the CD34+ progenitor cell line. The labeled cells were injected into immunodeficient NOD/SCID mice and after 24 h the main cell portions were recorded in liver and spleen, while about 4% of the initial cells were homed in the bone marrow of the animal, where they could be successfully detected by MRI.

In a more recent study performed on mice, the tracking of transplanted cells has allowed to follow the cell differentiation process. Bone marrow-derived endothelial precursor cells were incorporated into neovasculature and were successfully used as vehicles for gene delivery to brain tumors. Anderson et al. [29] investigated the fate of SPIO-labeled Sca1⁺ bone marrow cells systemically administered into glioma-bearing severe combined immunodeficient (SCID) mice. Magnetic resonance imaging (MRI) was performed during tumor growth. Mice that had received labeled cells demonstrated hypointense regions within the tumor that evolved over time and developed a continuous dark hypointense ring at a consistent time point. Further histological analysis revealed that transplanted cells detected in the tumor had differentiated into endothelial-like cells, which contribute to tumor vasculature as part of ongoing angiogenesis and neovascularization.

Huang et al. [30] synthesized core-shell nanoparticles composed of iron oxide nanoparticles and FITC-doped silica shells. The iron oxide nanoparticles, prepared by the thermal decomposition method, had a diameter of 10 nm, and the final core-shell nanoparticles had a diameter of 50 nm. The authors were able to include a single nanoparticle in each silica shell, via a reverse microemulsion system and reported a preliminary study on labeling of stem cells for *in vivo* tracking. It was found that the probes were easily internalized into human mesenchymal stem cells (hMSCs) without affecting cell viability, growth and differentiation. These labeled stem cells were injected subcutaneously into the dorsal flank of a mouse and could be visualized in a clinical 1.5 T MRI imager. The authors observed that the high uniformity of core-shell nanocom-

posites allowed the detection of a low number of labeled cells (10^4 for in vitro and 1.2×10^5 for in vivo experiments) using a fast labeling protocol (30 min) and a low concentration of nanoparticles.

3.1.2. Transplant monitoring

In the last years iron oxide nanoparticles have been tested for in vivo monitoring of tissue transplantation, starting from pancreatic islets for the therapy of diabetes. The first study was reported by Moore et al. [31] who employed Cy5.5-modified iron oxide nanoparticles covered with a dextran coating. Preliminary MRI on islet phantoms revealed the possibility to detect a signal drop in the analysis. After implantation under kidney capsules, several MRI examinations were performed in six months, with no significant change in the T_2 relaxation time in the labeled graft. Both implantation under kidney capsules and administration by intraportal infusion into diabetic mice models resulted in restoration of normoglycemia. Ex vivo microscopy studies confirmed the ability of the transplanted islets to secrete insulin.

Wu et al. [32] reported a study on the monitoring of pancreatic islets that compared commercial iron oxide nanoparticles (Feridex formulation) with iron oxide nanoparticles (of 5–8 nm diameter) synthesized by non-hydrolytic methods (via thermal decomposition in the presence of polyvinylpyrrolidone, PVP). The PVP-SPIO nanoparticles were used to label pancreatic islets and no changes in viability or in morphology were observed. In comparison with the commercial Feridex formulation, higher iron accumulation was proven for the PVP-SPIO nanoparticles (by Prussian Blue staining), most likely because of the smaller size and the biocompatibility of the coating on the PVP-SPIO nanoparticles. This study has revealed the possibility to detect very low levels of transplanted islets in vivo by MRI analysis.

4. Engineering the magnetic nanoparticles for hyperthermia treatment

Hyperthermia based on magnetic nanoparticle is a promising therapy for the selective apoptosis of tumor cells through controlled heating of the damaged tissue [33]. The procedure involves initially the dispersion of magnetic nanoparticles throughout the target tissue. The application of an external static magnetic field (B_0) of sufficient strength induces a magnetization in the nanoparticles and then, by applying a field alternating with high enough frequency (f), the magnetization of the particles is continuously reversed, which translates into a conversion from magnetic to thermal energy. This heat is released to the immediately surrounding diseased tissue. If the temperature can be maintained above the

therapeutic threshold of 42°C for 30 min or more, the cancer is destroyed. Fig. 7 describes the physical phenomena and the specific heating mechanisms observed in nanoparticles during hyperthermia. Compared to previous hyperthermia approaches, magnetic particle hyperthermia is appealing because it offers a way to ensure that only the intended target tissue is heated. Magnetic nanoparticles that are stable under physiological conditions can easily circulate through the blood stream and can reach target organs that could not be treated otherwise. Moreover the vast available choice of nanoparticle surface biofunctionalization protocols can be exploited to tune their chemical recognition capabilities and hence their specificity for tumoral cells. Enhanced specificity is responsible for the minimization of overheating in healthy cells; thus fewer side effects are observed. The heating capacity of magnetic nanoparticles is expressed by the specific absorption rate (SAR), also called specific power loss (SPL), which can be calculated based on Eq. (1):

$$\text{SAR} = C(\Delta T/\Delta t)(1/m) \quad (1)$$

where C represents the sample specific heat capacity (both the nanoparticle material and the dispersion medium are considered), $(\Delta T/\Delta t)$ is the increase in temperature with time and m is the amount of magnetic material used in the experiment. SAR values are usually expressed in watts per gram of magnetic material (W/g) even if they can also be expressed in volumetric units (W/m³).

When exposed to an alternating magnetic field, FM nanoparticles release heat by the so-called *hysteresis loss* mechanism. The amount of heat generated by this mechanism is proportional to the frequency applied and to the area of the magnetic hysteresis cycle, as showed in Fig. 7 (left). That means that nanoparticles with the highest saturation magnetization and coercive field values generate heat more efficiently. Ma et al. clearly showed how the SAR values of Fe₃O₄ nanoparticles varied following the same trend as the coercivity of the samples [34]. Nanoparticles between 7 and 400 nm in size (Fig. 8a–f) were tested under a B_0 of 32.5 kA m^{-1} and a f of 80 kHz. Fig. 8g shows in the same graphic the dependence of both the SAR values and the coercive field of the particles on their size. Both parameters seem to be fairly correlated and they follow the trend described in Fig. 3. In order to exploit the maximum heating capacity of FM nanoparticles, the sample should reach magnetic saturation, which usually implies the application of high B_0 fields. There are however some physiological constraints that limit the values of B_0 and f during in vivo treatments, since the application of intense alternating magnetic fields can lead to the appearance of side effects in healthy parts of the body. As a general agreement, B_0 should not be higher than 15 kA m^{-1} and the applied

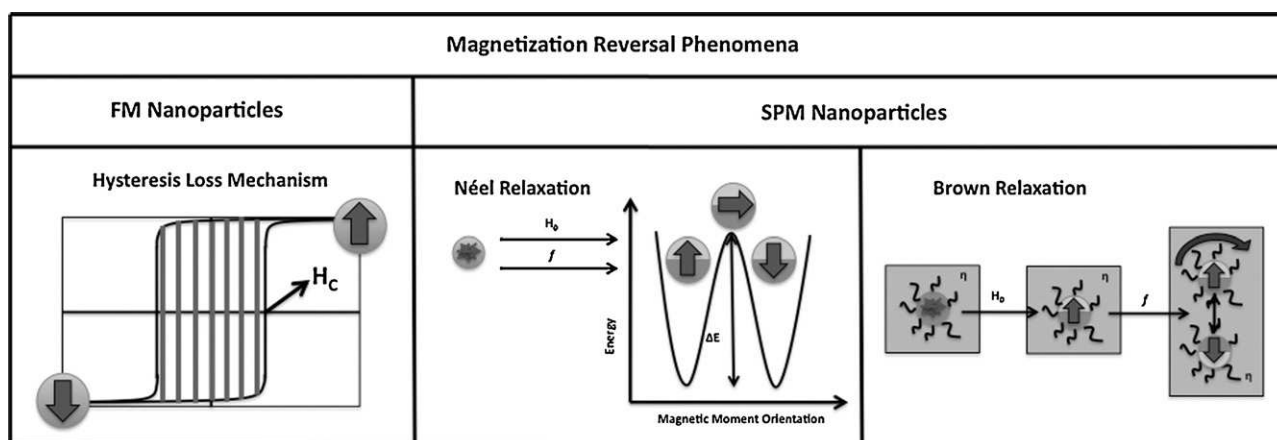


Fig. 7. Magnetization reversal phenomena for heat generation under the effect of an alternating magnetic field (H_0 , f), (left). Hysteresis loss mechanism of heat generation by ferro- and ferrimagnetic nanoparticles, (center) Néel and (right) Brown relaxation mechanisms of heat generation by superparamagnetic nanoparticles.

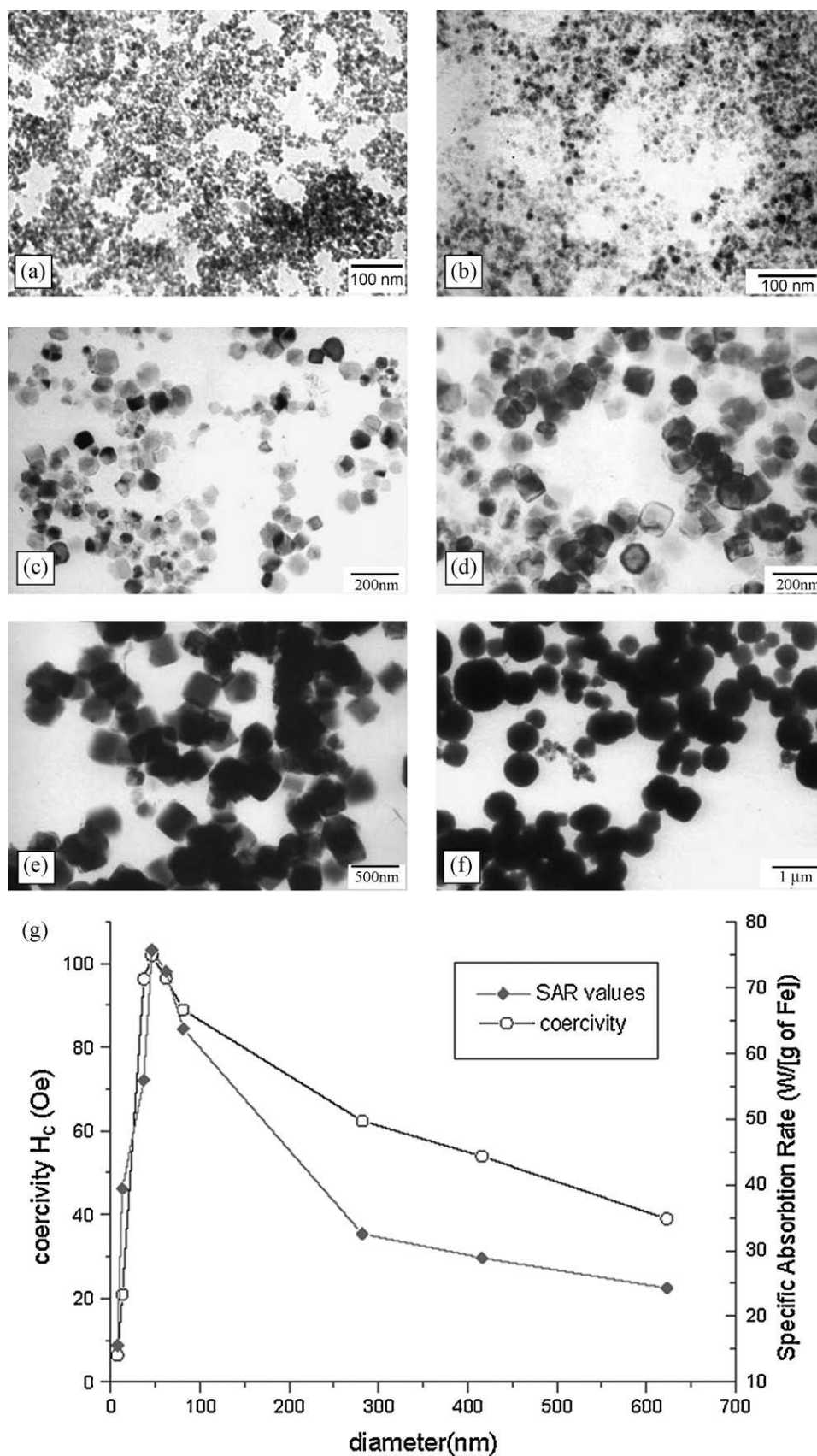


Fig. 8. . Transmission electron micrographs (TEM) of different-sized Fe₃O₄ nanoparticles (a–f) and their corresponding coercive fields (H_c) and SAR values measured at; $H_0 = 32.5 \text{ kAm}^{-1}$ and, $f = 80 \text{ kHz}$ (g) (with permission of Copyright: Ma et al.) [34].

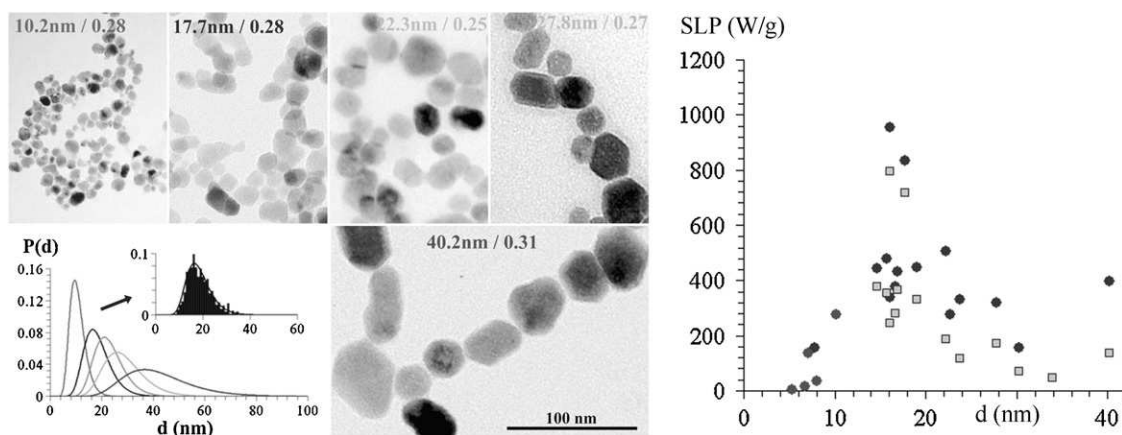


Fig. 9. Transmission electron micrographs (TEM) of different-sized γ - Fe_2O_3 nanoparticles, their corresponding size distributions (left) and their corresponding SPL values measured at $H_0 = 27 \text{ kAm}^{-1}$ and $f = 700 \text{ kHz}$ (right). Dark blue and red spots are SPL values of samples measured in water, while light blue spots are SPL values of samples measured in glycerol (with permission of Copyright: M. Levy et al.). (For the color information, please refer to the web version of the article.) [39].

frequency f should not go beyond 1.2 MHz. In addition the product of $B_0 \times f$ should always be lower than $5 \times 10^9 \text{ Am}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [35]. This constraint, together with the risk associated to the residual magnetization of FM iron oxide particles after the treatment, represents at the moment a serious drawback for their use as heating agents in hyperthermia treatments.

Taking a close look at the report of Ma et al. [34], one sees that the 13 nm Fe_3O_4 nanoparticles show actually higher SAR values than samples of nanoparticles with average dimensions close to 300 or 400 nm, even if their coercivities are definitely lower than the ones of the larger samples. As stated by Ma and co-workers, magnetic nanoparticles in the SPM regime can follow other mechanisms to release heat, and therefore their heating efficiency can be high even if their coercivity is equal or very close to zero. The use of SPM nanoparticles solves several problems associated with FM heating agents: no residual magnetization is left after the therapy and lower B_0 values are required for an effective and significant heating of the tissue. Current FM materials can require applied field strengths of ca 100 kAm^{-1} or more before they approach a fully saturated state, and therefore only minor hysteresis loops can be utilized, given the operational constraint of ca 15 kAm^{-1} , therefore resulting in low SAR values. In contrast, SPM materials are capable of generating impressive levels of heat at lower fields. As an example, the best SPM particles reported by Hergt et al. [36] had a SAR of 45 Wg^{-1} at 6.5 kAm^{-1} and 300 kHz which extrapolates to 209 Wg^{-1} for 14 kAm^{-1} , compared to 75 Wg^{-1} at 14 kAm^{-1} for the best FM magnetite sample. While all these samples would be adequate for magnetic particle hyperthermia, it appears that SPM particles are more likely to exhibit a higher heating power while using lower magnetic field strengths.

Superparamagnetic nanoparticles show two different mechanisms of heat generation: the so-called Néel relaxation mechanism and the Brown relaxation mechanism, shown in Fig. 7 (center) and (right) respectively. The Néel relaxation mechanism depends strictly on the value of the magnetic anisotropy energy barrier (ΔE) that needs to be overcome for the reversal of the magnetization of the particle during the application of the alternated magnetic field (B_0, f). Such value depends on two main parameters: the intrinsic anisotropy of the particle (material, surface and shape) and the volume of the particle. On the other hand, the Brown relaxation mechanism depends on the capacity of the particle to reverse its magnetization by physically rotating in the physiological medium where it is immersed. The ability to rotate in the medium depends on two additional parameters: the viscosity of the medium (η) and the global diameter of the particle, the so-called *hydrodynamic diameter*, which includes in addition to the inorganic core

any type of organic or inorganic capping [37,38]. Both mechanisms take place simultaneously in the nanoparticles and consequently the variation of their heating capacity with their diameter shows a particular dependence with a maximum SAR value for a particular size, below and above which the heating power decreases significantly. As an example, for SPM γ - Fe_2O_3 nanoparticles between 5 and 50 nm the optimal diameter for reaching such maximum value of SAR has been experimentally observed to be close to 16 nm (see Fig. 9) [39].

This non-monotonous dependence of the heating power on the size of the particle indicates that a peak in sensitivity of the SAR values is reached for a monodisperse sample of a particular size (which depends on the material). Gonzales-Weimuller et al. recently predicted a drop of about 50% of the heating capacity of iron oxide nanoparticles when the polydispersity of the sample increased to 15% (starting from an ideal monodisperse sample). The experimental data of the authors fitted well with their predictions [40].

Assuming a high monodispersity of the sample (polydispersity lower than 5%), and based on the previous descriptions, there are two different parameters that one can tune in order to optimize hyperthermia by means of magnetic nanoparticles, namely the maximum amount of heat that can be released and the optimal size at which one magnetic nanoparticle can release it. The maximum heat achievable from a nanoparticle scales roughly with its saturation magnetization. As already mentioned earlier, SPM nanoparticles show high surface-to-volume ratios, and hence their saturation magnetization can be significantly smaller than in the bulk. An appropriate surface modification of the nanoparticles can somehow reconstruct the symmetry of the atoms and increase the saturation magnetization of the nanoparticles, resulting into better heating agents [41]. Alternatively, other materials could be used which show higher saturation magnetization values compared to iron oxide. Habib et al. predicted higher values of SAR for materials such as FeCo and FePt alloys or metallic Fe and Co nanoparticles compared to classical iron oxide [42]. Obviously serious toxicity issues should be solved in order for these nanoparticles to be commercialized.

Another factor to be carefully controlled is the optimal size of the nanoparticle such that the maximum heating efficiency is achieved. Considering the increasing demand of miniaturization of the active nano-drugs for biomedical applications, it would be highly desirable to synthesize the smallest possible nanoparticles that would still show the highest capacity to release heat under the effect of an alternated magnetic field. The ability to efficiently heat smaller nanoparticles would lead to a significant reduction of the therapeutic dose (in terms of grams of magnetic material injected). This

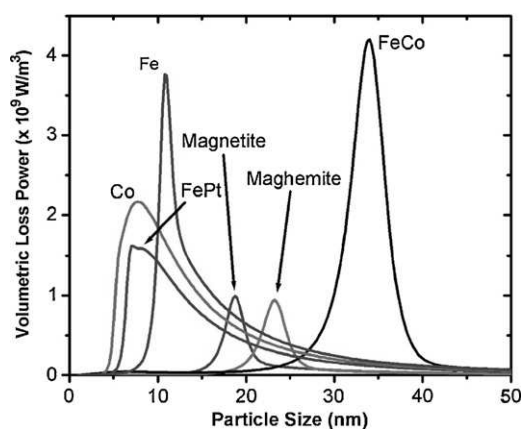


Fig. 10. Theoretical size-dependent volumetric SPL values for several oxide or metallic nanoparticles. Optimal sizes for improved hyperthermia treatments are indicated by the maximum of each curve for each material, while the intensity of the peak indicates their heating power (with permission of Copyright: Habib et al.) [42].

topic is of high importance since up to now high doses of magnetic material need to be injected in order to reach the therapeutic temperature [43]. The reduction in size of the single nanoparticle would consequently entail a reduction in toxicity of the drug, with fewer side effects for the patient. However, the optimal size for maximum heating power depends on the *magnetic anisotropy constant* (K_u) of a particle. The *magnetic anisotropy constant* of a nanoparticle can be varied mainly by altering its chemical nature or by enhancing the shape anisotropy of the particle [44]. While the exploitation of non-spherical SPM nanocrystals (rod-shaped or tetrapod-shaped for instance) for hyperthermia remains still to be studied, the chemical modification of iron oxide has already been proved to lead to better heating capacities. As previously said, SPM γ -Fe₂O₃ nanoparticles show a maximum SAR value close to 16 nm [39]. If there is a need for equal or superior heating agents of smaller sizes, γ -Fe₂O₃ can be replaced by its cobalt analogue, which shows higher values of *magnetic anisotropy constant*: the optimal size for efficient heating of cobalt ferrite nanoparticles (CoFe₂O₄) has been observed to be equal only to 7 nm [45] (although Co is toxic). Interestingly, a recent work has predicted that metals such as Fe and Co, or the chemically more stable FePt alloy should have optimal sizes of about half the size of iron oxide nanoparticles [42]. In the same work, the authors also described how the anisotropy of the FeCo alloy can be increased by varying the Fe to Co ratio in the structure. In this way smaller optimal sizes for heating could also be achieved. Fig. 10 shows the volumetric loss power capacity depending on the size for different materials.

Until now the hyperthermia activity of SPM nanoparticles has been correlated to their intrinsic magnetic properties, although one should also consider the Brown relaxation of SPM nanoparticles as one of their heat generation mechanisms. The source for heat generation relies in this case on the friction processes between the nanoparticle and the medium during the physical rotation of the particle induced by the alternation of the external magnetic field. The Brown mechanism becomes more effective than the Néel one especially when larger nanoparticles are used, since in these cases the Néel relaxation is not so effective. However, hyperthermia can only rely on the Brown mechanism in particular cases: due to the high viscosity of the intracellular medium, the Brown relaxation mechanisms can be significantly hindered within the cells and consequently the performance of the nanoparticles will mainly depend on the Néel relaxation mechanism [46–48].

As mentioned at the beginning of this section, the amplitude and the frequency of the external magnetic field applied (B_0, f) can be varied within a certain range in order to optimize the experi-

mental parameters for the hyperthermia treatment. Under certain conditions large amounts of heat can be generated by FM nanoparticles, while other conditions are required to generate heat from SPM nanoparticles. Large enough magnetic nanoparticles are ferromagnetic at room temperature and they generate heat by the hysteresis loss mechanism. However, with increasing temperature the thermal energy can reach a value that is sufficient to randomize all the magnetic moments of the particles, which would enter therefore in the superparamagnetic state (i.e. with zero coercivity). The large sizes of these particles are not suitable for generating heat neither by Néel or Brown mechanisms and consequently, once such transition temperature is overcome, the nanoparticles will automatically stop heating. One of the drawbacks associated with hyperthermia therapies is the risk of overheating both tumoral and healthy areas during therapy. Preliminary studies indicate that overheating could be effectively hindered by the suitable adjustment of the transition temperature between the ferromagnetic and the superparamagnetic states of the particles (from now on called Curie temperature, T_C). If the magnetic nanoparticles are chemically and magnetically engineered as to show a T_C in the vicinity of the therapeutic temperature, once they reach that temperature (as a consequence of their own heating power) they will automatically become superparamagnetic and *switch off*. This self-regulating heating mechanism has been shown to be effective for some ferrite- [49] and perovskite-type nanoparticles [50–52] where the increase of temperature with time has been observed to be effective up to temperatures between 40 °C and 60 °C. When the T_C of the nanoparticles is reached, the temperature of the system is kept constant over time. This type of *smart* nanoparticles is a clear example of how engineering of nanoparticles based on proper choice of material and of size can yield nano-objects with precisely defined properties.

4.1. Clinical studies of iron oxide nanoparticles as hyperthermia mediators

Clinical trials at phase II are now under investigations for performing intracellular and/or interstitial hyperthermia on human patients [43] using iron oxide nanoparticles. It is well established that cancer cells are more sensitive to higher temperature than cells deriving from a healthy tissue [53]. Various approaches were employed so far to raise the tissues temperature: whole body hyperthermia, radiofrequency hyperthermia, and inductive hyperthermia. The critical issue of these methods has always been how to confine the heat only to the pathological region, as the unspecific hyperthermia treatment can damage healthy tissues.

In this respect, iron oxide nanoparticles, due to their small size, are able to penetrate the cell wall and should behave as better heat mediators. Focusing on SPIO, mainly two formulations have been investigated in clinical trials: colloidal suspensions of single magnetic nanoparticles and magnetic liposomes deriving from clustering of SPIO nanoparticles.

Recently, Jordan et al. [54] reported a comparative study on the influence of different coatings on the success of the therapy. Animals received two thermotherapy treatments following a single intra-tumoral injection of dextran- or aminosilane-coated USPIO nanoparticles. The effectiveness of the treatment was assessed based on the survival time of the animals. The treatment performed with aminosilane-USPIO led to 4.5-fold prolongation of survival over controls, while the dextran-coated particles did not differ in a significant way from controls. Histological and immunohistochemical examinations after treatment with aminosilane coated particles revealed large necrotic areas in the treated area, a decreased proliferation rate and a reactive astrogliosis adjacent to the tumor.

The same group reported clinical studies about the feasibility of the therapy [55] and post-mortem analysis of the effects of

it [56]. Patients with histologically confirmed glioblastoma multiforme were enrolled for the studies. An intracranial injection of a suspension of amicosilane coated USPIO within the tumor was performed. The thermotherapy was achieved in an alternating magnetic field applicator, specifically developed for this type of therapy. At the first step the authors report that the therapy was tolerated well by all patients, with minor or no side effects. A median maximum intratumoral temperature of 44.6 °C was recorded. In the post-mortem neuropathological studies they found that magnetic nanoparticles were dispersed or distributed as aggregates within geographic tumor necroses, restricted in distribution to the sites of instillation. Dispersed particles and particle aggregates were phagocytosed mainly by macrophages whereas glioblastoma cells showed an uptake but only to a minor extent. The authors hypothesized that MFH of temperatures between 49 °C and 65 °C results in extended tumor necrosis followed by enhanced infiltration of macrophages and subsequent phagocytosis of necrotic debris and nanoparticles. In another report Johannsen et al. [57] used the same particles to perform a feasibility study of thermotherapy of prostate cancer, with a novel non-invasive way to measure the inner organ temperature, based on computed tomography.

The Kobayashi group reported an interesting study on the use of magnetite cationic liposomes (MCLs), which have a positive surface charge, as heating mediators for intracellular hyperthermia [58,59]. Solid T-9 glioma tissues were formed subcutaneously on female rats, and MCLs were injected via a needle into one of the tumors. On the hyperthermia treatment side, the tumor tissue disappeared completely in many rats exposed to the magnetic field. The tumor tissue on the opposite side, not treated with MCLs, also disappeared completely. In order to examine whether a long-lasting and tumor-specific immunity could be generated, the rats were re-challenged with the same tumor pathology 3 months later. After a period of transient growth, all tumors disappeared. Besides, immunocytochemical assay revealed that the immune response was mediated by both CD8+ and CD4+ T cells and accompanied by a marked increase of tumor-selective cytotoxic T lymphocyte activity [59]. Recently, the authors reported that this cancer immunity was generated as a consequence of up-regulation of Heat Shock Protein (HSP) in the tumor, because of the increase of the temperature in the region. In detail, they demonstrated the role of HSP70 secreted by heated tumor cell in tumor-antigen presentation [60].

All the studies highlighted above have raised different critical aspects. First of all, the concentration of iron oxide nanoparticles required for the thermotherapy is several orders of magnitude higher than those necessary for MRI. Gordon et al. [61] postulated that to obtain an efficient thermal effect the minimum volume of 1 mm³ of labeled cells is required for the treatment. The tumor passive-targeting of nanoparticles produces only a low concentration in the region, and therefore is not suitable for the treatment. Due to this limitation, until now the reported approaches were based on injections of high-concentrated nanoparticle solutions in solid tumor or tumor active-targeting nanoparticles administration. Much more needs to be done in order to engineer the nanoparticle surface so as to enhance the stability and the specificity towards specific targeting tissues.

To summarize, few specific targeting approaches had been reported in hyperthermia treatment. When it is not possible to inject the colloidal suspension into the solid tumor, a system intravenously injectable in the body should be used. To reach a nanoparticles concentration able to heat the tissue, passive tumor targeting is not the eligible method. Some groups presented nanocomposites based on iron oxide nanoparticles conjugated with antibody fragment (anti-MN antigen) [62] or monoclonal antibody [63]. The problem of the systemic administration of these compounds is the low particle concentration within the tumor. To overcome this problem one would need to apply an extremely

strong magnetic field, but this would lead however to nonspecific tissue heating.

5. Engineering iron oxide nanoparticles for medical purposes

The design of magnetic nanoparticles for biomedical applications imposes several constraints. As described in the previous paragraph, besides requiring high quality of magnetic properties, in order to obtain the maximum effect with the minimum dose applied (for both diagnosis and therapy), the overall nanoparticles size, composition, colloidal stability and surface functionalization are all parameters that must be kept under control.

Iron oxide nanoparticles synthesized by non-hydrolytic methods have enlarged the range of nanoparticles available for biological applications, but the use of these compounds in medicine has faced new crucial aspects. The non-water soluble character of the magnetic nanoparticles prepared by this synthesis has required further surface chemical modifications of the nanoparticles in order to ensure safety and good dispersity in aqueous media.

Several approaches were reported for transferring the magnetic nanoparticles from the organic medium, in which they are synthesized, to the water solution in which they have to be applied. These procedures can involve (i) the exchange of the surfactant coatings on the nanoparticle surface with more hydrophilic ligands [64–71]; (ii) the growth of a water-soluble protecting layer material around the original nanoparticles [72–74]; (iii) the complete encapsulation of the hydrophobic nanoparticle within an amphiphilic polymeric shell [75–81].

The surface manipulation of the nanoparticle is a key aspect of the nanoparticle research as it is meant not only for transferring nanoparticles from the growth medium to the biological environment but also engineering their surface in order to i) enhance the biocompatibility, ii) introduce ligands with the aim to achieve specific targeting, iii) associate therapeutic molecules for performing drug delivery, iv) introduce other functional molecules such as small organic dyes in order to broaden the functions of nanoparticles (Fig. 11). Those aspects will be briefly discussed below.

5.1. Biocompatibility of iron oxide nanoparticles

When a nanoparticle is introduced in the body, several aspects can compromise its stability. First of all, the physiological media have different ionic strength as compared with the ultrapure water mainly used in laboratories: increasing the ionic strength of aqueous solution will suppress the electric double layer around the charged particles, resulting in a partial or total aggregation of the system. A similar behavior could be observed by the particles once they enter specific body compartments, due to a variation in pH with respect to the media in which the nanoparticles are initially dispersed. In addition, when nanoparticles are injected in the blood, a nonspecific adsorption of plasma proteins onto nanoparticles surface can occur. This phenomenon, known as opsonization, is more pronounced for nanometer size particles, due to two main effects: the high surface-to-volume ratio as well as the attractive forces between the magnetic nanoparticles. When this phenomenon occurs, a fast clearance of the nanoparticles is observed.

To prevent such effects, several synthetic and natural polymers, including dextran [82], poly(ethylene glycol)s [83–85] and poly(vinylpyrrolidone) [86] have been introduced to the nanoparticles surface. These polymer molecules have been employed to coat pre-formed iron oxide nanoparticles prepared by non hydrolytic methods, or in alternative they have been used as stabilizers during the synthesis via conventional co-precipitation methods [87,88].

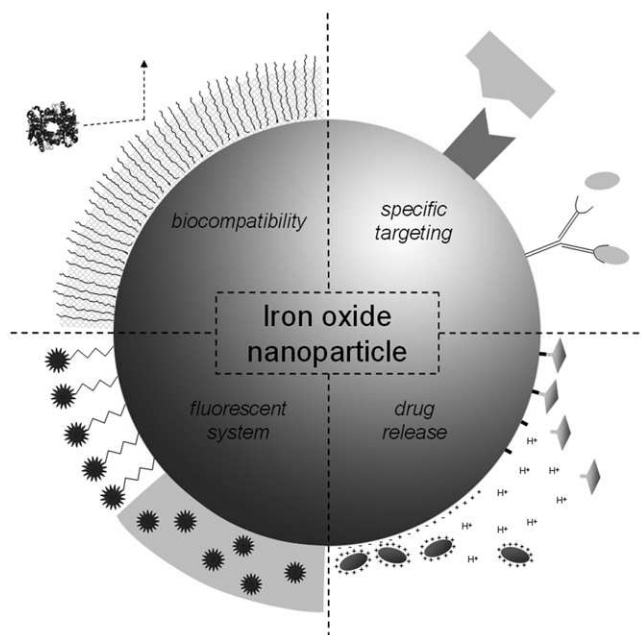


Fig. 11. Overview of possible modifications on iron oxide nanoparticle surface in order to design a medical nanoprobe. The surface is coated with amphiphilic or anti-biofouling polymers to enhance biocompatibility of the nanoparticles and to increase the blood circulation time (top left); specific ligands or antibodies can be attached on the surface to develop a active-specific targeted system (top right); in order to obtain multimodal imaging magnetic-fluorescent composites, organic fluorophores can be conjugated on the nanoparticle surface through spacer molecules or they can be include in a protective shell (lower left); therapeutic agents can be associated to the nanoparticles surface via electrostatic interactions or via covalent bonds, stimuli-responsive release can be operated by a change in the pH or by enzymatic action (lower right).

Cartier et al. [89] employed for instance a well-defined copolymer based on poly-(oligo(ethylene glycol) methacrylate-co-methacrylic acid) to prepare iron oxide nanoparticles with an overall dynamic light scattering diameter of 30 nm. As monitored by MRI technique, the resulting nanoparticles displayed a long-stability in physiological media as indeed, after intravenously injection in rats, a delayed accumulation in liver over 6 h was reported as compared with commercial SPIO contrast agents, which were clearly recognizable in the organ after only 5 min.

Alternatively, Jon et al. reported different strategies to coat the nanoparticles surface, by means of PEG derivative polymers. First, a random copolymer of (trimethoxysilyl)propyl methacrylate and PEG methacrylate was used to coat both iron oxide nanoparticle synthesized by non-hydrolytic methods after the synthesis as well as using it as stabilizer during the co-precipitation synthesis in aqueous phase. The two preparations were injected in tumor-bearing mice and the nanoparticles coated with the polymer after the synthesis, having smaller hydrodynamic radius, showed a higher tumor accumulation with a slower clearance from the tumor region [90].

The presence of a stable polymer layer often enhances the long term biocompatibility of iron oxide-based systems. This feature makes the iron oxide nanoparticles suitable for tracking experiments that require monitoring and imaging iron oxide-stained cells over long periods.

5.2. Specific targeting of iron oxide nanoparticles

Taking into account size and surface, iron oxide nanoparticles can target a tumor by both passive and active targeting. The first mode relies on accumulation of nanoparticles at tumor tissues thanks to the leaky and porous vascular structures of the blood

capillary system in the tumor region. This enhanced permeability at the tumor site, accompanied by an enhanced retention effect due to the poor lymphatic drainage, has been exploited for the delivery of different drug carrier systems, including some iron oxide-based formulations [91].

The active-tumor targeting is based on the functionalization of nanoparticle surface with a ligand having high specificity towards cancer cells. Different proteins, antigens, small peptides and vitamins have been attached at the nanoparticles surface and in vitro studies performed on these functionalized iron oxide nanoparticles have demonstrated their enhanced uptake compared to non-functionalized nanoparticles. For a broader overview on such topic the reader can refer to more specific review articles [26,92–94].

5.3. Iron oxide nanoparticles as smart delivery systems for therapeutic agents

The small size of iron oxide nanoparticles, hence the availability of a large surface area, together with the possibility to direct them under magnetic fields, makes them ideal cargo systems for the delivery of therapeutic agents. Drug and gene molecules have been delivered indeed by means of iron oxide nanoparticles. Recently, Jon et al. [95] synthesized a doxorubicin-loaded system based on dextran cross-linked iron oxide nanoparticles and provided evidence that the drug loading on such nanoparticles was possible because of the electrostatic interaction between the positively charged doxorubicin and the negatively charged polymer layer on the surface of nanoparticles. When the electrostatic interaction was screened by means of a variation in the pH of the surrounding medium, the drug molecules were released. This principle was exploited to achieve a therapeutic doxorubicin release in the acidic condition of tumor. In vivo MRI analysis and ex vivo characterization of excised animal organs, compared to the administration of free doxorubicin, revealed a regression of the tumor, without any systemic toxicity, which is instead typical of this anticancer drug.

In other works the drug was linked to the surface of the nanoparticles by means of a cleavable linker that could be cut by enzymatic action. Zhang et al. [96] have reported an in vitro study on the release of methotrexate (MTX), a chemotherapeutic drug, by using iron oxide nanoparticles as cargo system. A cleavage of the amide bond between the MTX and the nanoparticles surface occurred at low pH and was caused by the lysozymes present in the lysosomal compartments. It is worth to note that while few studies have shown the feasibility of the individual iron oxide nanoparticles as cargo system for anticancer drug molecules, many more studies have shown that nano-containers embedding iron oxide nanoparticles were also efficient in encapsulating and delivering drugs [97–102].

Nanoparticles have been shown capable to deliver small oligonucleotides into cells for therapeutic purposes. Gene silencing using small interfering RNA molecules (siRNA) has emerged as an attractive approach for therapy. Moore et al. [103] developed a platform based on cross-linked iron oxide nanoparticles for the delivery of small RNA molecules which were able to reduce the transcription of GFP (Green Fluorescent Protein) and of survivin. The nanoparticles were accumulated at the tumor site via passive targeting through the permeable tumor vasculature. In a GFP-expressing tumor model, they reported a drop in the GFP-associated fluorescence in 48 h after the injection of the probe. This qualitative data were confirmed by quantitative determination of the GFP mRNA transcription level. In the therapeutic model they designed a probe that was able to target the anti-apoptotic gene Birc5, which encodes survivin. A decrease in the transcript level of survivin was recorded, which was accompanied by a noticeable increase of apoptosis.

5.4. Multimodal iron oxide based composites

Perhaps the most studied surface modification of the iron oxide nanoparticles so far has been their functionalization with different dyes such that the resulting nanoparticles can be detected by both magnetic and fluorescent techniques, hence they can be used in dual imaging analysis to achieve a well-defined pathological examination. In principle, the use of a MRI contrast agent would allow capturing the patient situation in a pre-surgically stage while the optical code would represent a suitable guide for achieving higher spatial resolution during surgery. Several works have demonstrated such potential of magnetic-fluorescent iron oxide nanoparticles. Various types of dye molecules have been attached at the nanoparticles surface (cyanines, fluoresceins, rhodamines, coumarins, oligothiophenes, porphyrins) [30,104–114], which emitted both in the visible range (therefore suitable for in vitro cell imaging) and in the near infrared region (suitable for in vivo observation).

A common problem underlying the attachment of a dye molecule at the nanoparticles surface is the substantial quenching of the fluorescence from the dye caused by energy transfer phenomena between the iron oxide and the dye. To overcome this problem, the encapsulation of the dye molecules within a polymeric shell or within a silica shell allows tuning the distance between the nanoparticles and the dyes and thus helps to preserve the optical feature of the dye [30,109]. Alternatively, the use of spacer molecules like polyethyleneglicol is also effective in distancing the fluorescent moieties from the surface of the iron oxide nanoparticles [107,110,111,113].

Alternative multimodal iron oxide systems for MRI and γ -imaging techniques have been reported recently. Gao et al. [115] proposed a dual-imaging system based on PEG-coated iron oxide nanoparticles functionalized with a monoclonal antibody that was radio-labeled with ^{125}I . The group reported in vivo magnetic imaging and followed the trend in T_2 : this started to decrease 4 h after the injection and reached a minimum at 24 h corresponding to a 30% decrease of the starting signal. The report represents only a proof of concept of a multimodal iron oxide based system that can be used also for γ -imaging. Such protocol might be suitable also for other iodine isotopes (^{123}I , ^{124}I , ^{131}I) which are used in radiotherapy.

6. Inorganic iron-based materials as diagnostic and therapeutic tools

Various groups have undertaken efforts towards the synthesis of novel iron-based magnetic nanostructures as better performing alternatives to the “standard” iron oxide nanoparticles. We can categorize all these nanostructures based on their levels of compositional and/or structural complexity. These include: (i) nanostructures made of an iron-based magnetic material different from iron oxide; (ii) nanostructures whose morphology is not a sphere (for example they have a hollow structure); and (iii) multi-material nanostructures, i.e. each of them is made of two or more domains of different inorganic materials joined together. All these nanostructures are characterized by magnetic properties that are different, and potentially better, than those of iron oxide nanoparticles. In this section we will focus our attention on those nanoparticles that have been tested preliminarily on cell experiments, hence their potential as diagnostic and therapeutic tools has been evaluated.

6.1. Iron-based inorganic nanoparticles of chemical composition different from iron oxide

We discuss here the first approach that various groups have followed in order to design nanoparticles with potentially higher

performances than the iron oxide nanoparticles already under clinical evaluation as MRI contrast agents or as heat mediators. In this section we will focus on nanoparticles with chemical composition that is different from iron oxide, albeit still containing iron. Indeed, as we move away from iron oxide nanoparticles, we notice that many syntheses have been developed and the resulting materials have been characterized in terms of SAR and of relaxivity measurements, as described in Sections 3 and 4. However, only a few groups have actually studied the feasibility of these new types of nanoparticles in biological applications.

One of the first comparative studies of inorganic nanoparticles with better contrast performance than those based on iron oxide was the work by Cheon and co-workers [122]. They compared MnFe_2O_4 nanoparticles with the standard SPIO (we remind the reader that these are Fe_3O_4 nanoparticles), and were able to establish that the MnFe_2O_4 nanoparticles showed stronger MRI contrast than SPIO. In this study, both MnFe_2O_4 nanoparticles and Fe_3O_4 nanoparticles were functionalized with Herceptin. This is a ligand molecule that binds specifically to a HER2/neu marker, which is over-expressed on ovarian and breast cancer cell lineage. The functionalized nanoparticles were tested on cell lines expressing different levels of the targeting marker. The results confirmed the correlation between the concentration dependence of the marker and the contrast achieved when MnFe_2O_4 was used. Differently, the Fe_3O_4 nanoparticles were able to detect only the cell line expressing the higher dose of marker. The enhanced sensitivity of MnFe_2O_4 nanoparticles was proved not only in vitro (on cell studies) but also in vivo, as the MnFe_2O_4 nanoparticle enabled the in vivo detection of a tumor mass as small as 50 mg. Also the Fe_3O_4 nanoparticles were able to detect the same tumor mass, but the contrast obtained was much lower.

Other works have demonstrated that the MnFe_2O_4 nanoparticles are good magnetic probes for the detection of DNA hybridization events or for cytochrome c titration, due to the enhanced sensitivity of the nanoparticles [116,117].

In another work the iron oxide structure was doped with an atomic species, namely Tb, capable of inducing fluorescence. The authors in this case were able to devise a one-step synthesis approach to Tb-doped Fe_3O_4 nanoparticles exhibiting at the same time magnetism and fluorescence. Furthermore the nanoparticles were non-toxic for cells [118].

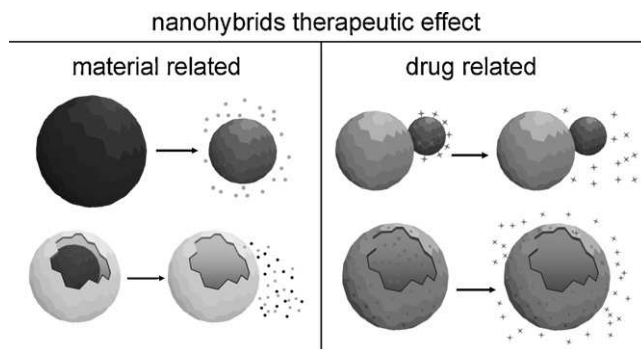


Fig. 12. Different approaches can be followed to achieve a therapeutic effect using nanoparticles. The effect can be elicited either by the inorganic material of the nanoparticle or by drug molecules (all reported systems are responsive to the decrease of the pH). In the first case, a release of metallic ions occurs: starting from FePt nanoparticle, partial (top left, [3]) or complete (lower left, [7]) degradation of the nanoparticles releases iron ions or iron and platinum ions simultaneously. In the second case, the nanoparticles are loaded with drug molecules. As an example, a controlled release of cisplatin was achieved by grafting the drug on the surface of the gold domain in $\text{Au-Fe}_3\text{O}_4$ dumbbells (top right, [119], see Section 5.4) or by embedding the drug in the inner regions of a hollow Fe_3O_4 nanoparticle (lower right [8], see section 5.3).

Apart from studies on alternative iron-based nanocrystals for diagnostic purposes, some reports have described their application as therapeutic agents. While studying the toxicity of *fcc* FePt nanoparticles, Sun and co-workers [3] found that in an acidic environment (which is typical of the lysosome) these nanoparticles are etched and can release toxic Fe species. The authors have demonstrated that the released Fe species catalyze the formation of reactive oxygen (ROS), which is toxic for cells as it can damage lipid membranes, DNAs, and proteins. The authors were able to target the FePt nanoparticles towards tumor cells, by functionalizing their surface with a luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) peptide, which can bind a receptor that is over-expressed on ovarian cancer cells. They demonstrated the enhanced toxicity of the FePt nanoparticles with respect to iron oxide nanocrystals. This study represents a proof of concept in which the toxicity is actually induced by the iron-based nanoparticles, and therefore they can be considered as a reservoir for the controlled release, mediated by the intracellular acidic pH, of therapeutic agents (toxic iron species in the present case) (Fig. 12). Following this work, other modified iron-based nanoparticles have been considered as potential anticancer therapeutic agents (see below).

6.2. Core-shell nanostructures

Various studies have proposed core-shell nanostructures as alternatives to iron oxide nanoparticles. These are made of a core material coated with a shell of another material. The shell can be grown for various reasons, for example:

- (i) it might be used as a protecting layer for the core. Typical cases are Fe(core)/iron oxide (shell) or Fe(core)/Au(shell) nanocrystals, in which oxidation of the iron core is prevented by the presence of the shell;
- (ii) it might be used to tune the reactivity of the inner core.

An interesting example of this second type of nanostructure is represented by the yolk-like shell nanoparticles made of CoS₂ and FePt, developed by Xu and co-workers [6]. This nanostructure is based on a core of FePt and a porous shell of CoS₂, and is peculiar because the inner FePt domain is separated by a void space from the CoS₂ shell. The authors observed an exceptional toxicity of such nanostructure when administered to Hela cells. TEM characterization performed on cells treated with the FePt-CoS₂ yolk-shell nanoparticles identified the presence of the nanoparticles within the mitochondria, but the unique result was that only the shells were visible, while the FePt yolk was not visible any more, hence it had oxidized and dissolved. The authors compared the IC₅₀ (half maximum inhibitor concentration) dose (in terms of Pt/mg) of their nanoparticles to that of cisplatin (a chemotherapeutic agent now used in clinical applications) and found that the nanoparticles were more toxic than the cisplatin, therefore for the particles they recorded a lower IC₅₀ dose than that for cisplatin. The authors suggested a toxicity mechanism based on the oxidation of FePt and consequent release of Fe⁺³ and Pt⁺² species, which might occur also in the acidic environment of the lysosome compartments. They suggested that the Pt²⁺ ions are able to enter the nucleus, intercalate in the DNA molecules and induce apoptosis of the cells, although no further proofs were given to prove their assumptions. An interesting aspect of this work is that it paves the way to nanoparticles that in principle can fulfill several tasks (if the appropriate combination of materials is chosen): nanoparticles can be used for example as T₂ contrasts agents, for detecting and monitoring the tumor by MRI, and later as anticancer agents at the tumor site. This concept was elaborated further by the Xu group [7], who developed new FePt-Fe₃O₄ yolk-shell nanocrystals and studied the MRI and toxicity of such nanostructures (Fig. 12).

Another interesting core-shell system was developed by Dai and co-workers [24], who synthesized (by chemical vapor deposition) FeCo nanoparticles coated with a monolayer of graphitic carbon. The resulting nanoparticles were stabilized in water by the addition of phospholipidic poly ethylenglycol molecules, and were tested as contrast agent in rabbits. The resulting nanoparticles showed a T₁ contrast behavior and a long blood-circulation time. The authors have additionally proposed such nanoparticles as heat mediators, but based on a different mechanism than that used for the iron oxide nanoparticles: basically the presence of the graphitic shell could be exploited for performing photo-thermal ablation therapy using a near infrared laser source.

6.3. Hollow nanostructures

Recently the synthesis of magnetically active iron-based nanostructure with an empty cavity was reported. These magnetic nano-containers can be filled with therapeutic agents, hence they should protect the drug from the degradation or de-activation action of plasma proteins and at the same time they can also act as magnetic probes. An additional potential advantage of these nanostructures is that they can incorporate even drugs that have a low solubility in water, if the cavity environment is non-polar. At the same time, the incorporation of the drug in the cavities leaves the external surface of the hollow nanostructures still available for the specific targeting functionalization. These concepts have been illustrated by a few groups so far. The Sun group has developed the synthesis of spherical porous Fe₃O₄ nanoparticles and has exploited them as container for the release of Cisplatin, a drug with low water solubility [8]. Starting from the synthesis of nanoparticles with an amorphous Fe core and a Fe₃O₄ shell and upon oxidation of the core, hollow Fe₃O₄ nanoparticles having gap space at their surface in between 2 and 3 nm were formed. The cisplatin was loaded in the pores of the nanoparticles and its release was studied as a function of the pH. A higher release was found in acidic conditions, most probably due to the enlargement of the pores of the hollow nanoparticles due to etching at acidic pH. The viability study of the hollow nanoparticles loaded with Cisplatin has evidenced an enhanced toxicity towards breast cancer cells that were over expressing human epidermal growth factors, when the surface of the nanoparticles was functionalized with Herceptin, which specifically targeted those cell ligands.

Another drug carrier system, consisting hollow rod-shaped nanoparticles, was proposed by the Hyeon group [120]. Starting from β-FeOOH nanorods, they were able to synthesize hollow iron oxide nanorods that were water-dispersible and biocompatible. Given the hydrophilicity of the interior of the nanostructures, the authors in this case have provided a proof of concept of drug loading by using Doxorubicin (Doxo), which is a water-soluble chemotherapeutic agent. They compared the breast cancer cells internalization of free Doxo with respect to that of Doxo loaded inside the hollow nanorods, and were able to show that the Doxo was delivered via endocytosis in the cytoplasm when loaded in the hollow nanorods, while it was localized in the nuclei when administered free in solution. Although the toxicity of the Doxo encapsulated in the nanorods was lower than that of free Doxo (when considering the same Doxo concentration administered to the cells) the authors could still prove the entrapment and the controlled release of active Doxo. Furthermore, they demonstrated the good performance of such nanostructures as T₂ contrast agents.

The same type of hollow nanostructures can deliver dye molecules and therefore can be used to track the pathway followed by the nanostructure, as shown by Wu et al. [121]. Various groups are currently carrying out research on hollow inorganic nano-containers: a few more examples are gold nanocages and

MnO hollow nanoparticles. For an in-depth coverage the reader can refer to a recent review article [122].

6.4. Dumbbell-like heterostructures

Earlier in this review we have highlighted the properties and some selected biomedical applications of nanocrystals based on core-shell geometries, in which a “core” of a given material is uniformly covered by a shell of another material. It is also possible, by carefully controlling several synthetic parameters, to prepare more elaborate nanocrystal structures, for example those based on a dimeric configuration (often referred to as “dumbbell”) and consisting of two roughly spherical nano-domains of two different materials sharing a small interface, such that no domain covers completely the other. Also some of these “dumbbell” nanocrystals have been exploited in biomedical applications, at least as proof of concept.

The major peculiarity of these nanostructures with respect to the core/shell ones is that each domain, by being not buried completely in another material, can be accessed from the surrounding medium. Since the two materials expose a significant portion of their surface to the solution environment, each type of surface can be functionalized with a specific type of molecule, due to the peculiar affinity of a given functional group towards the surface of a certain material. The possibility to achieve a specific type of surface functionalization on each domain of a dumbbell nanoparticle was demonstrated in a recent series of works [4,5,119].

Sun and co-workers [119] have exploited Au-Fe₃O₄ dumbbell nanoparticles as drug carrier for Cisplatin, in order to target selectively a tumor cell line that over-expresses the Her2 antibody. The authors functionalized selectively the gold domain in each nanoparticle with a platinum complex (Cisplatin) using as linker a thiol-based surfactant molecule (the thiol group bound selectively to the gold domain), after which the surface of the iron oxide domain was functionalized with Herceptin, using a dopamine-modified linker. This linker was not able to displace the thiol-based molecule bound to the gold domain, hence it bound only to the iron oxide domain. The system developed was proven to be a platform for the selective delivery of Cisplatin towards tumor cells via receptor mediated endocytosis, and remarkably the therapeutic action of the Cisplatin was still effective (Fig. 12).

In addition to the specificity of the surface functionalization, by combining in each dumbbell the magnetic properties of the iron oxide domain with those of the other inorganic domain, one can expand significantly the set of features of the resulting nanostructure. If for example the other domain is an optically active material, then the dumbbell can be used in principle as a dual-mode imaging detection system, provided that both the magnetic and the optical properties of each individual domain are maintained in the heterostructure. This is obviously not trivial, since in these types of nanostructures (in analogy with the previously discussed case of core/shell nanocrystals) the properties inherent to each domain can be altered substantially because of the contact junctions between the two domains. So far, proofs of concepts on the use of dumbbell

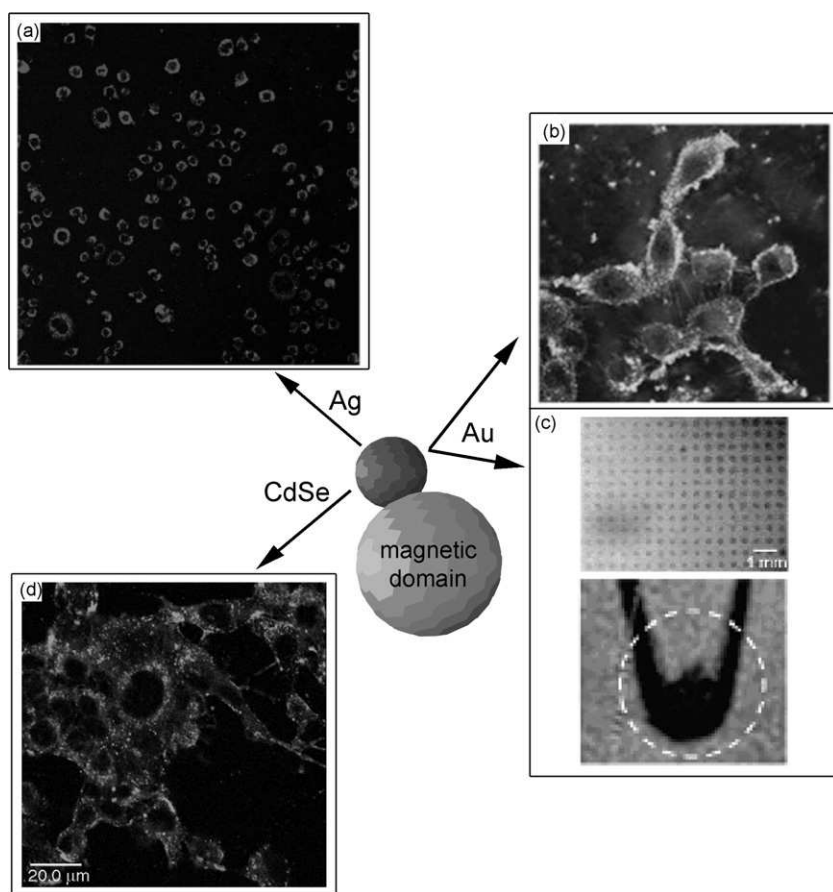


Fig. 13. Example of iron oxide based dumbbells synthesized so far and used in biomedical applications. Fe₃O₄-Ag dumbbells (a, [123]) have been used to perform a two-photon fluorescence imaging by means of femtosecond infrared laser and magnetic manipulation of labeled macrophages. By labeling tumor cell line with Au-Fe₃O₄ dumbbells (b, [4]), dual imaging analysis was feasible: MR images were recorded by means of the iron oxide domain, and optical imaging was possible due to the reflectance signal of the gold domain. Multimodal biological detection (chip-based biosensing and molecular MR imaging) was performed using FePt-Au dumbbells (c, [5]). A magnetic-fluorescent is represented by Fe₂O₃-CdSe dumbbells (d, [124]); this system was successful explored for confocal microscopy analysis and cell sorting experiments.

nanocrystals as dual modal imaging probes have been limited to cell studies.

Examples of bimodal imaging detection systems are dumbbells carrying a gold domain and a magnetic domain, which could be easily detected both magnetically and by colorimetric analysis. The Cheon group [5] used FePt–Au dumbbell nanoparticles as magnetic probes for cellular detection by functionalizing the nanoparticles with HmemB1 antibodies for targeting neuroblastoma cells, and at the same time they demonstrated their potential as optical probes in chip biosensing (Fig. 13c). To this aim the dumbbells were instead functionalized with biotin, after which they bound selectively to the regions of a substrate patterned with neutravidin, as revealed by a colorimetric adsorption test. In another study by Xu and co-workers [4] iron oxide–gold nanoparticles were used as MRI contrast agents and at the same time as optical probes, by exploiting the reflectance signal of gold nanoparticles (Fig. 13b). In their study they were able to demonstrate the specific targeting of the dumbbells towards tumor cells and additionally a high sensitivity of dumbbells in diagnostic imaging applications. Ying and co-workers [123] have proposed instead Fe₃O₄–Ag heterodimers as two-photon fluorescent probes for imaging and magnetic cell manipulation. The uptake of the heterostructures by macrophages was observed by the high fluorescent signal recorded when a femtosecond infrared laser was used as excitation source. At the same time the authors were able to demonstrate the manipulation of the doped cells under a local magnetic field (Fig. 13a).

Merging in a dumbbell a magnetic domain with a semiconductor domain (i.e. a quantum dot) yields nanostructure that is at the same time magnetic and fluorescent. Selvan et al reported a synthesis of Fe₂O₃–CdSe dumbbells by direct growth of a fluorescent CdSe domain on the surface of a preformed γ -Fe₂O₃ nanocrystal, after which the dumbbell was encapsulated in a silica shell. The final nanostructure was strongly fluorescent and magnetically active [124]. These nanostructures were then studied as cell imaging tools and at the same time for cell sorting (Fig. 13d).

7. Conclusions and perspectives

In this review article we have summarized the recent advances in the development of iron-based magnetic nanoparticles for biomedical applications (including magnetic imaging techniques, hyperthermia treatment, and drug delivery). We have initially discussed the main synthetic approaches to the nanoparticles, the structural and physical properties that make them useful objects for the various biomedical applications, and we described the parameters that need to be tuned in order to guarantee a high performance. We have provided a brief overview on the state-of-the-art of iron oxide nanoparticles for in vitro and in vivo experiments, covering topics as cancer imaging, tracking of stem cells and monitoring of transplanted tissues.

Following an analysis of the critical magnetic parameters involved in these applications, we underlined the limitations of current iron oxide nanoparticles and took an eye on the potential improvements in performance offered by various alternative high-quality magnetic nanomaterials that are now available, such as ferrites, metals and alloys (thanks to advances in colloidal chemistry during the last decade). These alternative magnetic nanomaterials could improve the sensitivity in imaging techniques, and better performing nanoparticles for hyperthermia would require lower doses of material, which is critically in need for the clinical development of hyperthermia via magnetic nanoparticles to become a reality. New magnetic nanoparticles would allow for a further miniaturization of the active particles while at the same time their performance would be significantly enhanced compared to current iron oxide-based nanoparticles.

As of today, despite research on the synthesis of new materials is extremely active, both in vitro and in vivo MRI and hyperthermia studies have been conducted almost exclusively with iron oxide nanoparticles, which is understandable since the latter have been developed and studied since many years. This gap between materials science and biomedical research is mainly due to the scarcity of surface functionalization procedures for new types of nanoparticles, while several surface engineering protocols have been developed for iron oxide nanoparticles. Therefore only when in the coming years reliable protocols will be available for the various new magnetic nanomaterials, will allow for improved stability, specific targeting, and reduced cytotoxicity.

We have concluded our review by describing a potential future generation of *smart* active materials. These new structures can be thought of as unique nanometer-size platforms which can perform several tasks simultaneously. Obviously a high level of complexity in the nanoparticle is required in order to achieve multimodal imaging, or combined drug delivery and imaging capabilities. Various approaches have been proposed for new-generation multi-purpose nanostructures, capable for example of performing imaging and therapy, and among them a peculiar approach stands out: in some cases a nanostructure can be first used as an imaging probe, but then under defined conditions, for example the acidic pH of a tumor site, the same nanostructure starts undergoing a degradation process that frees toxic species locally, thus explicating a therapeutic action. The potential advantage of this type of nanostructure is that the toxic species are released only when the nanostructure is inside the targeted cell, hence the selectivity is enhanced. An additional consequence in this case is that the inherent toxicity of many nanoparticle systems, which is a clear biomedical and environmental issue, can be turned into an opportunity: if the mechanisms that induce such toxicity can be controlled, the toxicity can be triggered at wish and directed selectively against tumor cells. In addition, the miniaturization of the carrier at this level is really nanometric and it will be definitely a better solution for the stability and long blood-circulation time in vivo.

In addition, we would also like to stress the great potential of robust inorganic hybrid nanoparticles, in which at least two different chemical surfaces are available (on the same nanoparticle) for selective functionalization. This possibility opens new perspectives in the fabrication of systems with better targeting and therapeutic properties. One possibility might come from the spatial separation in the same nanostructure of the portion that carries the drug from the portion devoted to the specific target recognition function. Further scenarios might be disclosed by the ability to fabricate nanostructures with a better time-dependent controlled release of a drug. This could be achieved for example if a drug is able to functionalize simultaneously two or more domains on the same hybrid nanoparticles but with different binding characteristics, such that each domain will discard the fraction of drug bound to its surface at a specific time, i.e. only when the nanostructures will traverse a local environment in a living organism characterized by a given set of physico-chemical parameters.

An obvious collaborative compromise between materials science, biochemistry and medical research is fundamental to achieve all these goals.

References

- [1] Qiao RR, Yang CH, Gao MY. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: from preparations to in vivo MRI applications. *J Mater Chem* 2009;19:6274–93.
- [2] Park J, An KJ, Hwang YS, Park JG, Noh HJ, Kim JY, et al. Ultra-large-scale syntheses of monodisperse nanocrystals. *Nat Mater* 2004;3:891–5.
- [3] Xu C, Yuan Z, Kohler N, Kim J, Chung MA, Sun S. FePt nanoparticles as an Fe reservoir for controlled Fe release and tumor inhibition. *J Am Chem Soc* 2009;131:15346–51.
- [4] Xu C, Xie J, Ho D, Wang C, Kohler N, Walsh EG, et al. Au–Fe₃O₄ dumbbell nanoparticles as dual-functional probes. *Angew Chem Int Ed* 2008;47:173–6.

- [5] Choi JS, Jun YW, Yeon SI, Kim HC, Shin JS, Cheon J. Biocompatible heterostructured nanoparticles for multimodal biological detection. *J Am Chem Soc* 2006;128:15982–3.
- [6] Gao J, Liang G, Zhang B, Kuang Y, Zhang X, Xu B. FePt@CoS₂ Yolk-shell nanocrystals as a potent agent to kill HeLa cells. *J Am Chem Soc* 2007;129:1428–33.
- [7] Gao J, Liang G, Cheung JS, Pan Y, Kuang Y, Zhao F, et al. Multifunctional yolk-shell nanoparticles: a potential MRI contrast and anticancer agent. *J Am Chem Soc* 2008;130:11828–33.
- [8] Cheng K, Peng S, Xu C, Sun S. Porous hollow Fe₃O₄ nanoparticles for targeted delivery and controlled release of cisplatin. *J Am Chem Soc* 2009;131:10637–44.
- [9] Lu AH, Salabas EL, Schuth F. Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angew Chem Int Ed* 2007;46:1222–44.
- [10] Welo LA, Baudisch O. The two-stage transformation of magnetite into hematite. *Philosophical Magazine Series B* 1925;50:399–408.
- [11] Qu SC, Yang HB, Ren DW, Kan SH, Zou GT, Li DM, et al. Magnetite nanoparticles prepared by precipitation from partially reduced ferric chloride aqueous solutions. *J Colloid Interface Sci* 1999;215:190–2.
- [12] Kang YS, Risbud S, Rabolt JF, Stroev P. Synthesis and characterization of nanometer-size Fe₃O₄ and gamma-Fe₂O₃ particles. *Chem Mater* 1996;8:2209–11.
- [13] Elmore WC. Ferromagnetic colloid for studying magnetic structures. *Phys Rev* 1938;54:309.
- [14] Ricketts CR, Cox JSG, Fitzmaurice C, Moss GF. The iron dextran complex. *Nature* 1965;208:237–9.
- [15] Munshi N, De TK, Maitra A. Size modulation of polymeric nanoparticles under controlled dynamics of microemulsion droplets. *J Colloid Interface Sci* 1997;190:387–91.
- [16] Wang X, Zhuang J, Peng Q, Li YD. A general strategy for nanocrystal synthesis. *Nature* 2005;437:121–4.
- [17] Casavola M, Buonsanti R, Caputo G, Cozzoli PD. Colloidal strategies for preparing oxide-based hybrid nanocrystals. *Eur J Inorg Chem* 2008:837–54.
- [18] Cozzoli PD, Pellegrino T, Manna L. Synthesis, properties and perspectives of hybrid nanocrystal structures. *Chem Soc Rev* 2006;35:1195–208.
- [19] O'Handley RC. *Modern Magnetic Materials: Principles and Applications*. Wiley; 2000.
- [20] Pankhurst QA, Connolly J, Jones SK, Dobson J. Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *J Phys D: Appl Phys* 2003;36:R167–81.
- [21] Jun YW, Huh YM, Choi JS, Lee JH, Song HT, Kim S, et al. Nanoscale size effect of magnetic nanocrystals and their utilization for cancer diagnosis via magnetic resonance imaging. *J Am Chem Soc* 2005;127:5732–3.
- [22] Lee JH, Huh YM, Jun Y, Seo J, Jang J, Song HT, et al. Artificially engineered magnetic nanoparticles for ultra-sensitive molecular imaging. *Nat Med* 2007;13:95–9.
- [23] Kim DH, Zeng HD, Ng TC, Brazel CS. T-1 and T-2 relaxivities of succimer-coated MFe₂₃+O₄ (M=Mn₂₊, Fe₂₊ and Co₂₊) inverse spinel ferrites for potential use as phase-contrast agents in medical MRI. *J Magn Magn Mater* 2009;321:3899–904.
- [24] Seo WS, Lee JH, Sun XM, Suzuki Y, Mann D, Liu Z, et al. FeCo/graphitic-shell nanocrystals as advanced magnetic-resonance-imaging and near-infrared agents. *Nat Mater* 2006;5:971–6.
- [25] Maenosono S, Suzuki T, Saita S. Superparamagnetic FePt nanoparticles as excellent MRI contrast agents. *J Magn Magn Mater* 2008;320:L79–83.
- [26] Thorek DJ, Chen A, Czupryna J, Tsourkas A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging. *Ann Biomed Eng* 2006;34:23–38.
- [27] Lin MM, Kim DK, El Haj AJ, Dobson J. Development of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIONS) for Translation to Clinical Applications. *IEEE T Nanobiosci* 2008;7:298–305.
- [28] Lewin M, Carlesso N, Tung CH, Tang XW, Cory D, Scadden DT, et al. Tat peptide-derivatized magnetic nanoparticles allow in vivo tracking and recovery of progenitor cells. *Nat Biotechnol* 2000;18:410–4.
- [29] Anderson SA, Glod J, Arbab AS, Noel M, Ashari P, Fine HA, et al. Noninvasive MR imaging of magnetically labeled stem cells to directly identify neovasculature in a glioma model. *Blood* 2005;105:420–5.
- [30] Lu CW, Hung Y, Hsiao JK, Yao M, Chung TH, Lin YS, et al. Bifunctional magnetic silica nanoparticles for highly efficient human stem cell labeling. *Nano Lett* 2007;7:149–54.
- [31] Evgenov NV, Medarova Z, Dai GP, Bonner-Weir S, Moore A. In vivo imaging of islet transplantation. *Nat Med* 2006;12:144–8.
- [32] Huang H, Xie QP, Kang MX, Zhang B, Zhang H, Chen J, et al. Labeling transplanted mice islet with polyvinylpyrrolidone coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for in vivo detection by magnetic resonance imaging. *Nanotechnology* 2009;20:365101.
- [33] Kalambur VS, Han B, Hammer BE, Shield TW, Bischof JC. In vitro characterization of movement, heating and visualization of magnetic nanoparticles for biomedical applications. *Nanotechnology* 2005;16:1221–33.
- [34] Ma M, Wu Y, Zhou H, Sun YK, Zhang Y, Gu N. Size dependence of specific power absorption of Fe₃O₄ particles in AC magnetic field. *J Magn Magn Mater* 2004;268:33–9.
- [35] Hergt R, Dutz S. Magnetic particle hyperthermia-biophysical limitations of a visionary tumour therapy. *J Magn Magn Mater* 2007;311:187–92.
- [36] Hergt R, Andra W, d'Ambly CG, Hilger I, Kaiser WA, Richter U, et al. Physical limits of hyperthermia using magnetite fine particles. *IEEE Trans Magn* 1998;34:3745–54.
- [37] Rosensweig RE. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *J Magn Magn Mater* 2002;252:370–4.
- [38] Hergt R, Dutz S, Muller R, Zeisberger M. Magnetic particle hyperthermia: nanoparticle magnetism and materials development for cancer therapy. *J Phys: Condens Matter* 2006;18:S2919–34.
- [39] Levy M, Wilhelm C, Siaugue JM, Horner O, Bacri JC, Gazeau F. Magnetically induced hyperthermia: size-dependent heating power of gamma-Fe₂O₃ nanoparticles. *J Phys: Condens Matter* 2008;20:204133.
- [40] Gonzales-Weimuller M, Zeisberger M, Krishnan KM. Size-dependant heating rates of iron oxide nanoparticles for magnetic fluid hyperthermia. *J Magn Magn Mater* 2009;321:1947–50.
- [41] Dumestre F, Chaudret B, Amiens C, Fromen MC, Casanove MJ, Renaud P, et al. Shape control of thermodynamically stable cobalt nanorods through organometallic chemistry. *Angew Chem Int Ed* 2002;41:4286–9.
- [42] Habib AH, Ondeck CL, Chaudhary P, Bockstaller MR, McHenry ME. Evaluation of iron-cobalt/ferrite core-shell nanoparticles for cancer hyperthermia. *J Appl Phys* 2008;103:07A307.
- [43] Gazeau F, Levy M, Wilhelm C. Optimizing magnetic nanoparticle design for nanothermotherapy. *Nanomedicine* 2008;3:831–44.
- [44] Bedanta S, Kleemann W. Supermagnetism. *J Phys D: Appl Phys* 2009;42:013001.
- [45] Fortin JP, Wilhelm C, Servais J, Menager C, Bacri JC, Gazeau F. Size-sorted anionic iron oxide nanomagnets as colloidal mediators for magnetic hyperthermia. *J Am Chem Soc* 2007;129:2628–35.
- [46] Fortin JP, Gazeau F, Wilhelm C. Intracellular heating of living cells through Neel relaxation of magnetic nanoparticles. *Eur Biophys J Biophys Lett* 2008;37:223–8.
- [47] Riviere C, Wilhelm C, Cousin F, Dupuis V, Gazeau F, Perzynski R. Internal structure of magnetic endosomes. *Eur Phys J E* 2007;22:1–10.
- [48] Wilhelm C, Fortin JP, Gazeau F. Tumour cell toxicity of intracellular hyperthermia mediated by magnetic nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol* 2007;7:2933–7.
- [49] Tang QS, Zhang DS, Cong XM, Wan ML, Jin LQ. Using thermal energy produced by irradiation of Mn-Zn ferrite magnetic nanoparticles (MZF-NPs) for heat-inducible gene expression. *Biomaterials* 2008;29:2673–9.
- [50] Kaman O, Pollert E, Veverka P, Veverka M, Hadova E, Knizek K, et al. Silica encapsulated manganese perovskite nanoparticles for magnetically induced hyperthermia without the risk of overheating. *Nanotechnology* 2009;20:275610.
- [51] Pollert E, Knizek K, Marysko M, Kaspar P, Vasseur S, Duguet E. New T-c-tuned magnetic nanoparticles for self-controlled hyperthermia. *J Magn Magn Mater* 2007;316:122–5.
- [52] Prasad NK, Rathinasamy K, Panda D, Bahadur D. TC-tuned biocompatible suspension of La_{0.73}Sm_{0.27}MnO₃ for magnetic hyperthermia. *J Biomed Mater Res, Part B* 2008;85B:409–16.
- [53] Mornet S, Vasseur S, Grasset F, Duguet E. Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy. *J Mater Chem* 2004;14:2161–75.
- [54] Jordan A, Scholz R, Maier-Hauff K, van Landeghem FKH, Waldoefner N, Teichgraber U, et al. The effect of thermotherapy using magnetic nanoparticles on rat malignant glioma. *J Neuro-Oncol* 2006;78:7–14.
- [55] Maier-Hauff K, Rothe R, Scholz R, Gneveckow U, Wust P, Thiesen B, et al. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. *J Neuro-Oncol* 2007;81:53–60.
- [56] van Landeghem FKH, Maier-Hauff K, Jordan A, Hoffmann KT, Gneveckow U, Scholz R, et al. Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles. *Biomaterials* 2009;30:52–7.
- [57] Johannsen M, Gneueckow U, Thiesen B, Taymoorian K, Cho CH, Waldoefner N, et al. Thermotherapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles: feasibility, imaging, and three-dimensional temperature distribution. *Eur Urol* 2007;52:1653–62.
- [58] Ito A, Tanaka K, Honda H, Abe S, Yamaguchi H, Kobayashi T. Complete regression of mouse mammary carcinoma with a size greater than 15 mm by frequent repeated hyperthermia using magnetite nanoparticles. *J Biosci Bioeng* 2003;96:364–9.
- [59] Yanase M, Shinkai M, Honda H, Wakabayashi T, Yoshida J, Kobayashi T. Anti-tumor immunity induction by intracellular hyperthermia using magnetite cationic liposomes. *Jpn J Cancer Res* 1998;89:775–82.
- [60] Ito A, Honda H, Kobayashi T. Cancer immunotherapy based on intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles: a novel concept of "heat-controlled necrosis" with heat shock protein expression. *Cancer Immunol Immun* 2006;55:320–8.
- [61] Gordon RT, Hines JR, Gordon D. Intracellular hyperthermia a biophysical approach to cancer treatment via intracellular temperature and biophysical alterations. *Med Hypotheses* 1979;5:83–102.
- [62] Shinkai M, Le B, Honda H, Yoshikawa K, Shimizu K, Saga S, et al. Targeting hyperthermia for renal cell carcinoma using human MN antigen-specific magnetoliposomes. *Jpn J Cancer Res* 2001;92:1138–45.
- [63] DeNardo SJ, DeNardo GL, Miers LA, Natarajan A, Foreman AR, Gruettner C, et al. Development of tumor targeting bioprobes (In-111-chimeric L6 monoclonal antibody nanoparticles) for alternating magnetic field cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2005;11:7087S–92S.
- [64] Aldana J, Wang YA, Peng XG. Photochemical instability of CdSe nanocrystals coated by hydrophilic thiols. *J Am Chem Soc* 2001;123:8844–50.

- [65] Jiang W, Mardiyani S, Fischer H, Chan WCW. Design and characterization of lysine cross-linked mercapto-acid biocompatible quantum dots. *Chem Mater* 2006;18:872–8.
- [66] Mattoussi H, Mauro JM, Goldman ER, Anderson GP, Sundar VC, Mikulec FV, et al. Self-assembly of CdSe-ZnS quantum dot bioconjugates using an engineered recombinant protein. *J Am Chem Soc* 2000;122:12142–50.
- [67] Mitchell GP, Mirkin CA, Letsinger RL. Programmed assembly of DNA functionalized quantum dots. *J Am Chem Soc* 1999;121:8122–3.
- [68] Pathak S, Choi SK, Arnheim N, Thompson ME. Hydroxylated quantum dots as luminescent probes for in situ hybridization. *J Am Chem Soc* 2001;123:4103–4.
- [69] Pinaud F, King D, Moore HP, Weiss S. Bioactivation and cell targeting of semiconductor CdSe/ZnS nanocrystals with phytochelatin-related peptides. *J Am Chem Soc* 2004;126:6115–23.
- [70] Smith AM, Duan HW, Rhyner MN, Ruan G, Nie SM. A systematic examination of surface coatings on the optical and chemical properties of semiconductor quantum dots. *Phys Chem Chem Phys* 2006;8:3895–903.
- [71] Willard DM, Carillo LL, Jung J, Van Orden A. CdSe-ZnS quantum dots as resonance energy transfer donors in a model protein-protein binding assay. *Nano Lett* 2001;1:469–74.
- [72] Guo WZ, Li JJ, Wang YA, Peng XG. Conjugation chemistry and bioapplications of semiconductor box nanocrystals prepared via dendrimer bridging. *Chem Mater* 2003;15:3125–33.
- [73] LizMarzan LM, Giersig M, Mulvaney P. Synthesis of nanosized gold-silica core-shell particles. *Langmuir* 1996;12:4329–35.
- [74] Parak WJ, Gerion D, Zanchet D, Woerz AS, Pellegrino T, Micheel C, et al. Conjugation of DNA to silanized colloidal semiconductor nanocrystalline quantum dots. *Chem Mater* 2002;14:2113–9.
- [75] Dubertret B, Skourides P, Norris DJ, Noireaux V, Brivanlou AH, Libchaber A. In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. *Science* 2002;298:1759–62.
- [76] Gao XH, Cui YY, Levenson RM, Chung LWK, Nie SM. In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol* 2004;22:969–76.
- [77] Larson DR, Zipfel WR, Williams RM, Clark SW, Bruchez MP, Wise FW, et al. Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo. *Science* 2003;300:1434–6.
- [78] Pellegrino T, Manna L, Kudera S, Liedl T, Koktysh D, Rogach AL, et al. Hydrophobic nanocrystals coated with an amphiphilic polymer shell: a general route to water soluble nanocrystals. *Nano Lett* 2004;4:703–7.
- [79] Wu XY, Liu HJ, Liu JQ, Haley KN, Treadway JA, Larson JP, et al. Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol* 2003;21:41–6.
- [80] Wuister SF, Swart I, van Driel F, Hickey SG, Donega CD. Highly luminescent water-soluble CdTe quantum dots. *Nano Lett* 2003;3:503–7.
- [81] Yu WW, Chang E, Falkner JC, Zhang JY, Al-Somali AM, Sayes CM, et al. Forming biocompatible and nonaggregated nanocrystals in water using amphiphilic polymers. *J Am Chem Soc* 2007;129:2871–9.
- [82] Berry CC, Wells S, Charles S, Aitchison G, Curtis ASG. Cell response to dextran-derivatised iron oxide nanoparticles post internalisation. *Biomaterials* 2004;25:5405–13.
- [83] Zhang Y, Kohler N, Zhang MQ. Surface modification of superparamagnetic magnetite nanoparticles and their intracellular uptake. *Biomaterials* 2002;23:1553–61.
- [84] Gupta AK, Curtis ASG. Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: interaction studies with human fibroblasts in culture. *J Mater Sci: Mater Med* 2004;15:493–6.
- [85] Kohler N, Fryxell GE, Zhang MQ. A bifunctional poly(ethylene glycol) silane immobilized on metallic oxide-based nanoparticles for conjugation with cell targeting agents. *J Am Chem Soc* 2004;126:7206–11.
- [86] D'Souza AJM, Schowen RL, Topp EM. Polyvinylpyrrolidone-drug conjugate: synthesis and release mechanism. *J Controlled Release* 2004;94:91–100.
- [87] Wan SR, Huang JS, Yan HS, Liu KL. Size-controlled preparation of magnetite nanoparticles in the presence of graft copolymers. *J Mater Chem* 2006;16:298–303.
- [88] Si S, Kotal A, Mandal TK, Giri S, Nakamura H, Kohara T. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles in the presence of polyelectrolytes. *Chem Mater* 2004;16:3489–96.
- [89] Lutz JF, Stiller S, Hoth A, Kaufner L, Pison U, Cartier R. One-pot synthesis of PEGylated ultrasmall iron-oxide nanoparticles and their in vivo evaluation as magnetic resonance imaging contrast agents. *Biomacromolecules* 2006;7:3132–8.
- [90] Lee H, Lee E, Kim DK, Jang NK, Jeong YY, Jon S. Antibiofouling polymer-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles as potential magnetic resonance contrast agents for in vivo cancer imaging. *J Am Chem Soc* 2006;128:7383–9.
- [91] Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Controlled Release* 2000;65:271–84.
- [92] McCarthy JR, Weissleder R. Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted imaging and therapy. *Adv Drug Delivery Rev* 2008;60:1241–51.
- [93] Berry CC. Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine. *J Phys D: Appl Phys* 2009;42:224003.
- [94] Corchero J, Villaverde A. Biomedical applications of distally controlled magnetic nanoparticles. *Trends Biotechnol* 2009;27:468–76.
- [95] Yu MK, Jeong YY, Park J, Park S, Kim JW, Min JJ, et al. Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo. *Angew Chem Int Ed* 2008;47:5362–5.
- [96] Kohler N, Sun C, Wang J, Zhang MQ. Methotrexate-modified superparamagnetic nanoparticles and their intracellular uptake into human cancer cells. *Langmuir* 2005;21:8858–64.
- [97] Yang J, Lee CH, Ko HJ, Suh JS, Yoon HG, Lee K, et al. Multifunctional magneto-polymeric nanohybrids for targeted detection and synergistic therapeutic effects on breast cancer. *Angew Chem Int Ed* 2007;46:8836–9.
- [98] Reddy GR, Bhojani MS, McConville P, Moody J, Moffat BA, Hall DE, et al. Vascular targeted nanoparticles for imaging and treatment of brain tumors. *Clin Cancer Res* 2006;12:6677–86.
- [99] Nasongkla N, Bey E, Ren JM, Ai H, Khemtong C, Guthi JS, et al. Multifunctional polymeric micelles as cancer-targeted, MRI-ultrasensitive drug delivery systems. *Nano Lett* 2006;6:2427–30.
- [100] Huang CK, Lo CL, Chen HH, Hsue GH. Multifunctional micelles for cancer cell targeting, distribution imaging, and anticancer drug delivery. *Adv Funct Mater* 2007;17:2291–7.
- [101] Kim J, Lee JE, Lee SH, Yu JH, Lee JH, Park TG, et al. Designed fabrication of a multifunctional polymer nanomedical platform for simultaneous cancer-targeted imaging and magnetically guided drug delivery. *Adv Mater* 2008;20:478–83.
- [102] Bruns OT, Ittrich H, Peldschus K, Kaul MG, Tromsdorf UI, Lauterwasser J, et al. Real-time magnetic resonance imaging and quantification of lipoprotein metabolism in vivo using nanocrystals. *Nat Nanotechnol* 2009;4:193–201.
- [103] Medarova Z, Pham W, Farrar C, Petkova V, Moore A. In vivo imaging of siRNA delivery and silencing in tumors. *Nat Med* 2007;13:372–7.
- [104] Lee JH, Jun YW, Yeon SI, Shin JS, Cheon J. Dual-mode nanoparticle probes for high-performance magnetic resonance and fluorescence imaging of neuroblastoma. *Angew Chem Int Ed* 2006;45:8160–2.
- [105] Bertorelle F, Wilhelm C, Roger J, Gazeau F, Menager C, Cabuil V. Fluorescence-modified superparamagnetic nanoparticles: Intracellular uptake and use in cellular imaging. *Langmuir* 2006;22:5385–91.
- [106] Lin YS, Wu SH, Hung Y, Chou YH, Chang C, Lin ML, et al. Multifunctional composite nanoparticles: magnetic, luminescent, and mesoporous. *Chem Mater* 2006;18:5170–2.
- [107] Josephson L, Kircher MF, Mahmood U, Tang Y, Weissleder R. Near-infrared fluorescent nanoparticles as combined MR/optical imaging probes. *Bioconjugate Chem* 2002;13:554–60.
- [108] Corr SA, O'Byrne A, Gun'ko YK, Ghosh S, Brougham DF, Mitchell S, et al. Magnetic-fluorescent nanocomposites for biomedical multitasking. *Chem Commun* 2006;4474–6.
- [109] Yoon TJ, Yu KN, Kim E, Kim JS, Kim BG, Yun SH, et al. Specific targeting, cell sorting, and bioimaging with smart magnetic silica core-shell nanomaterials. *Small* 2006;2:209–15.
- [110] Kircher MF, Mahmood U, King RS, Weissleder R, Josephson L. A multimodal nanoparticle for preoperative magnetic resonance imaging and intraoperative optical brain tumor delineation. *Cancer Res* 2003;63:8122–5.
- [111] Veisheh O, Sun C, Gunn J, Kohler N, Gabikian P, Lee D, et al. Optical and MRI multifunctional nanoprobe for targeting gliomas. *Nano Lett* 2005;5:1003–8.
- [112] Lee H, Yu MK, Park S, Moon S, Min JJ, Jeong YY, et al. Thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis and application as a dual imaging probe for cancer in vivo. *J Am Chem Soc* 2007;129:12739–45.
- [113] Quarta A, Di Corato R, Manna L, Argentiere S, Cingolani R, Barbarella G, et al. Multifunctional nanostructures based on inorganic nanoparticles and oligothiophenes and their exploitation for cellular studies. *J Am Chem Soc* 2008;130:10545–55.
- [114] Quarta A, Di Corato R, Manna L, Ragusa A, Pellegrino T. Fluorescent-magnetic hybrid nanostructures: preparation, properties, and applications in biology. *IEEE T Nanobiosci* 2007;6:298–308.
- [115] Liu SJ, Jia B, Qiao RR, Yang Z, Yu LZ, Liu ZF, et al. A novel type of dual-modality molecular probe for MR and nuclear imaging of tumor: preparation, characterization and in vivo application. *Mol Pharm* 2009;6:1074–82.
- [116] Robinson DB, Persson HHJ, Zeng H, Li GX, Pourmand N, Sun SH, et al. DNA-functionalized MFe₂O₄ (M = Fe, Co, or Mn) nanoparticles and their hybridization to DNA-functionalized surfaces. *Langmuir* 2005;21:3096–103.
- [117] Aubin-Tam ME, Zhou H, Hamad-Schifferli K. Structure of cytochrome c at the interface with magnetic CoFe₂O₄ nanoparticles. *Soft Matter* 2008;4:554–9.
- [118] Zhang YX, Das GK, Xu R, Tan TTY. Tb-doped iron oxide: bifunctional fluorescent and magnetic nanocrystals. *J Mater Chem* 2009;19:3696–703.
- [119] Xu CJ, Wang BD, Sun SH. Dumbbell-like Au-Fe₃O₄ nanoparticles for target-specific platinum delivery. *J Am Chem Soc* 2009;131:4216–7.
- [120] Piao Y, Kim J, Bin Na H, Kim D, Baek JS, Ko MK, et al. Wrap-bake-peel process for nanostructural transformation from beta-FeOOH nanorods to biocompatible iron oxide nanocapsules. *Nat Mater* 2008;7:242–7.
- [121] Wu PC, Wang WS, Huang YT, Sheu HS, Lo YW, Tsai TL, et al. Porous iron oxide based nanorods developed as delivery nanocapsules. *Chem Eur J* 2007;13:3878–85.
- [122] An K, Hyeon T. Synthesis and biomedical applications of hollow nanostructures. *Nano Today* 2009;4:359–73.
- [123] Jiang J, Hongwei G, Huilin S, Eamonn D, Georgia CP, Jackie YY. Bifunctional Fe₃O₄-Ag heterodimer nanoparticles for two-photon fluorescence imaging and magnetic manipulation. *Adv Mater* 2008;20:4403–7.
- [124] Selvan ST, Patra PK, Ang CY, Ying JY. Synthesis of silica-coated semiconductor and magnetic quantum dots and their use in the imaging of live cells. *Angew Chem Int Ed* 2007;46:2448–52.



**Penka Ilieva
Girginova**

**Novos materiais magnéticos: de compostos de
coordenação aos nanomateriais**

**Novel magnetic materials: from coordination
compounds to nanomaterials**

PREVIEW

ProQuest Number:10597605

All rights reserved

INFORMATION TO ALL USERS

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted.

In the unlikely event that the author did not send a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if material had to be removed, a note will indicate the deletion.



ProQuest 10597605

Published by ProQuest LLC (2017). Copyright of the Dissertation is held by the Author.

All rights reserved.

This work is protected against unauthorized copying under Title 17, United States Code
Microform Edition © ProQuest LLC.

ProQuest LLC.
789 East Eisenhower Parkway
P.O. Box 1346
Ann Arbor, MI 48106 – 1346



**Penka Ilieva
Girginova**

**Novos materiais magnéticos: de compostos de
coordenação aos nanomateriais**

**Novel magnetic materials: from coordination
compounds to nanomaterials**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Química, realizada sob a orientação científica do Doutor Tito da Silva Trindade, Professor Associado com Agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e do Doutor Vítor Sequeira Amaral, Professor Associado com Agregação do Departamento de Física da Universidade de Aveiro

Apoio financeiro do POCTI no âmbito
do III Quadro Comunitário de Apoio.

Apoio financeiro da FCT e do FSE no
âmbito do III Quadro Comunitário de
Apoio.

To my family

In memory of my father

PREVIEW

o júri

presidente

Doutor José Rodrigues Ferreira da Rocha
Professor catedrático da Universidade de Aveiro

Doutor Ricardo Ibarra Garcia
Professor catedrático do Instituto de Nanociência de Aragón de Universidade de Saragoça (Espanha)

Doutora Ana Cristina Moreira Freire
Professor associado com agregação da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto

Doutor Vítor Sequeira Amaral
Professor associado com agregação do Departamento de Física da Universidade de Aveiro

Doutor Tito da Silva Trindade
Professor associado com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor Manuel Leite de Almeida
Investigador coordenador do Instituto Tecnológico e Nuclear de Sacavém

Doutor Filipe Alexandre Almeida Paz
Investigador auxiliar do Laboratório Associado do CICECO da Universidade de Aveiro

agradecimentos

My acknowledgments are to several people whose presence and work directly or indirectly became a part in the elaboration of this thesis.

At first I want to express gratitude to my supervisor, Prof. Tito Trindade, for the trust in my abilities. He gave me the chance to work in his research group and to grow scientifically. I thank him for the patience, the help and the motivation especially in the moments of doubts and hesitations. I have learned a lot from him as a teacher and as a leader.

Then, I acknowledge my co-supervisor, Prof. Vítor Amaral, for his guidance and help in the study of magnetism. The discussions with him about this matter were very useful and important for the realization of this work.

I am thankful to the University of Aveiro and to Fundação para a Ciência e Tecnologia (Portugal) for the award of the PhD grant.

I am grateful to Prof. Helena Nogueira for the collaboration in the work related to Chapter 2 and also for being always ready to help or advice me in the work on the coordination chemistry.

I also acknowledge the collaboration to the following people, whose contribution was very important for the characterization of the materials:

Dr. Filipe Paz for the enormous work on crystallography and to Dr. Luís Cunha for crystallographic measurements and solving of some structures; to Prof. Jacek Klinowski from University of Cambridge;

Dr. Fa-Nian Shi, who allowed me to study the magnetic properties of some of the crystals synthesized by him in Chapter 4;

Dr. Cláudia Lopes, Dr. Marta Otero and Prof. Eduarda Pereira from Analytical chemistry, and to Dr. Ana Luísa Silva, who collaborated with us in the work on Chapter 5. To Paula Figueira, for letting me compare the results from the Cd^{2+} and Pb^{2+} uptake of her materials to those, from the Hg^{2+} uptake of my materials in the same chapter;

Celeste Azevedo, MSc, for the TGA measurements and for being very helpful in solving of the laboratory problems;

Dr. Paula Santos and Prof. Luís Carlos for the luminescent measurements of the compounds in Chapter 3;

Marta Ferro, MSc, Eng. Augusto Lopes, Dr. Protima Singh-Rauwel and Dr. Marc Willinger for the microscopy;

agradecimentos (cont.)

Dr. Rosário Soares and Dr. Ângela Pereira for the powder XRD analysis;
Dr. João Pedro Araújo for the given possibility to use the SQUID in IFIMUP, University of Porto;
Prof. Margarida Godinho for the chance to perform the magnetic measurements of some compounds reported in Chapter 2 at the Faculty of Sciences, University of Lisbon;
Prof. Benilde Costa from FCT of University of Coimbra for the Mössbauer spectroscopy measurements of the nanomaterials in Chapter 5;
Dr. Soma Das for some magnetic measurements in Aveiro.

Dr. Nuno Silva for the fruitful discussions about magnetism.

My thanks are also to all the team of Aragon Institute of Nanoscience (University of Saragossa, Spain) and especially to Prof. Ricardo Ibarra, then, to Prof. Clara Marquina and Prof. Gerardo Goya, who, on first place, gave me the opportunity to work with them and also for not saving time and energy to teach me. I also want to thank to Teo, Ana, Henrique, Sara and Prof. Pedro Algarabel who also turned my stay in Saragossa very useful and productive for the study of the magnetic properties of my compounds.

I am very grateful to my mother Varvara, my father Ilia and my sister Dessislava for the support I know they give me in every step of my way even far from them. They have always given me the freedom and the right to choose, and have been teaching me to fight and not to give up. I was very lucky to have with them all the interesting and fruitful discussions we had at home about scientific, political and philosophical matters which formed my views and will for knowledge and improvement. The tenacity and love to science and foreign languages are due to my family. To them and to my niece Elena, grandparents and aunt Venera (great help with the chemistry): for the criticism and the advices; for all cares and concerns.

I also thank to Luciano for being beside me most of the time in the personal and professional life, for the encouragement, the constructive criticism and advices; for the help with LaTeX; without him I would never go back to Portugal and fight to make this PhD happen there.

I want to thank infinitely to my friends and colleagues Sandra and Iva, who give me incredible support and keep on being my friends during the best and worst moments! I am grateful to my colleagues who I first met in Minho University in Guimarães and who became my friends: to Ricardo Pires, Sofia and Domingos;

agradecimentos (cont.)

also to Salete, Luís, Dora Gago and Nuno Correia: for the sympathies. To all of them I owe a big part of my priceless knowledge on Portuguese language, literature and culture. I thank to my best friends from all over the world for the friendship and the professional discussions.

The everyday life and work in the laboratory become easier when a kind word is received, when a problem, a success, a thought or even a glassware are shared; when somebody makes you feel you are not alone...For this, I want to thank to my colleagues from the laboratory on Inorganic Chemistry, to the professors, colleagues and employees from Chemistry Department, LCA, Physics Department and CICECO who I crossed my way with the last years, especially to Catarina, Fátima, Paula Santos, Ângela, Sofia, Sergio, Patrícia Neves, Diana Fernandes, Mariela, Stanislav, Soma, Mir, Susana Quintal, João Madureira, Paula Brandão, Zé, Mariana, Isabel Vieira, Ana Estrada and Carlos.

благодарности

Бих искала да благодаря на всички, които пряко или косвено допринесоха за изработването на тази теза. Най-напред искам да кажа, че посвещавам този труд на семейството ми и е в памет на баща ми.

Благодарна съм на ръководителя ми, проф. Тито Триндаде за това, че се довери в моите умения и ми даде възможност да работя и да се развивам професионално в неговия екип; че ме мотивираше и ми помагаше в моментите на колебания и съмнения. Научих много от него като учител и лидер на научна група. Признателна съм на втория ми ръководител, проф. Витор Амарал, под чието ръководство изучавах магнетизъм. Беседите на тази тема с него, бяха от голямо значение за обучението и работата ми.

Благодарна съм на Университета в Авейро и на Португалската фондация за наука и технология, която отпусна докторантската ми стипендия.

Благодарности за отзивчивостта и съдействието при характеризирането на материалите на:

проф. Елена Ногейра за съдействието в работата, описана в глава 2 и изобщо в работата, свързана с координационна химия;

д-р Филип Паш за огромния обем работа по разрешаването на кристалните структури и на д-р Луиш Куня за някои кристалографски измервания и анализи; на проф. Ясек Клиновски от университета в Кембридж.

д-р Фа-Ниан Ши за предоставянето на кристали, синтетизирани от него, чиито магнитни свойства изучавах в Глава 4.

д-р Клаудия Лопеш, д-р Марта Отеро, проф. Едуарда Перейра и д-р Ана Луиза Силва, с които работихме съвместно върху аналитичните измервания в Глава 5. На бакалавър Паула Фигейра за предоставените резултати за адсорбционните свойства на нейните материали спрямо Cd^{2+} и Pb^{2+} йони, за сравнение с моите материали спрямо Hg^{2+} йони в същата глава;

магистър Селеше Азеведо за термо-гравиметричните измервания и за отзивчивостта при разрешаването на всеки един проблем в лабораторията;

д-р Паула Сантош и проф. Луиш Карлош за измерванията на люминесцентните свойства на съединенията в глава 3;

магистър Марта Феро, инж. Аугушто Лопеш, д-р Протима Син-Роуел и д-р Марк Вилингер за съдействието с микроскопските методи;

благодарности (продълж.)

д-р Розарио Соареш и д-р Анжела Перейра за ретгеновите анализи;
д-р Жоао Педро Араужо за предоставеното време за измервания с магнетометъра в Университета в Порто;
проф. Маргарита Годиньо за предоставената възможност за магнитни измервания в Лисабонския Университет на някои съединения описани в глава 2;
проф. Бенилде Коста от Университета в Коимбра за спектроскопските Мьосбауер измервания на наноматериалите в глава 5;
д-р Сом Даш за някои магнитни измервания.

Благодаря на д-р Нуно Силва за ползотворните дискусии и помощ върху магнетизъм.

Специално искам да изразя благодарност към екипа на Арагонския институт за нано-науки (Университет на Сарагоса, Испания) и преди всичко на проф. Рикардо Ибара, проф. Клара Маркина и проф. Херардо Гоша, които не само че ме приеха в екипа си, но не пощадиха време и усилия да ме обучават. Благодаря също на Тео, Ана, Енрике, Сара и проф. Педро Алгарабел, които също допринесоха много за моя ползотворен престой в Сарагоса и за осъществените успешни измервания на магнитните свойства на материалите ми.

Благодарна съм на майка ми, Варвара, баща ми Илия и сестра ми Десислава за подкрепата, дадените възможности и поощрението; за това, че ме възпитаха в отговорност и упоритост; за градивната критика и съветите; за насърчаването към самостоятелност и приемане на предизвикателства; за ползотворните дискусии у дома, които ми помогнаха да формирам моите виждания и позиции. На родителите си далжа любовта към точните науки и чуждите езици. Освен това благодаря на бабите ми и дядо ми, на леля Венера (голяма помощ по химия), на племенницата ми Елена за обичта, подкрепата и грижите.

Благодаря на Лусиано за това, че ме придружаваше и подкрепяше през повечето моменти по този дълъг път, за съветите и насърчаването в трудните мигове. Без него нямаше да се върна в Португалия и да се боря за осъществяването на дисертацията в тази държава.

Безкрайни благодарности на моите приятелки и колежки Сандра и Ива, които ме подкрепяха през много хубави и лоши моменти и ми дадоха невероятно голяма помощ в много битки.

благодарности (продълж.)

Благодаря на моите колеги, които най-напред срещнах в университета Миньо в Гимараеш, а след това станаха мои приятели: на Рикардо Пиреш, на София и Домингуш за отзивчивостта и приятелството. Признателна съм също и на на Салете, Луиш, Дора Гаго и на Нуно Корей за помощта и търпението. На всички тях дължа голяма част от безценните си познания по португалски език, литература и култура. Благодаря за приятелството и професионалните дискусии на най-добрите ми приятели, които се намират в различни точки на света.

Ежедневието ни изправя пред най-различни предизвикателства. А работата е по-спорна и приятна, когато имаме с кого да споделим проблем или успех, идея или дори лабораторен материал. За това съм признателна на колегите от лабораторията по неорганична химия, а и на колегите, преподавателите и служителите изобщо от целия Химически факултет, от Физика, от секретариата и ръководството на Асоциираната лаборатория по материалознание СИСЕКО, с които преплетохме професионалните си пътища и най-вече на Катарина, Фатима, Паула Сантош, Анжела, София, Сержо, Патрисия Невиш, Станислав, Диана Фернандес, Мариела, Сом, Мир, Сузана Кинтал, Жоао Мадурейра, Паула Брандао, Жозе, Изабел Виейра, Ана Страда и Карлош.

palavras-chave

Sistemas magnéticos, Polímeros de coordenação, Nanomateriais, Materiais Híbridos, Propriedades magnéticas.

resumo

A presente tese aborda a síntese de unidades finitas de complexos do tipo metal-ligando e polímeros de coordenação infinitos, a síntese e modificação superficial de nanopartículas de magnetite, bem como o fenómeno de magnetismo observado nestes materiais. São também investigadas as várias possibilidades de coordenação de ligandos, com determinados tamanhos e formas, a metais de estrutura electrónica única, obtendo-se assim novas estruturas de tamanhos e dimensionalidades diferentes, e como as propriedades magnéticas são alteradas. Os resultados de magnetismo neste trabalho são interpretados do ponto de vista da magnetoquímica.

O Capítulo 1 é uma breve introdução à química dos metais de transição e mostra a correlação entre a estrutura e as propriedades magnéticas. Neste capítulo foi feita também uma revisão de compostos de coordenação magnéticos importantes e a descrição dos fenómenos fundamentais de magnetismo. No Capítulo 2 é explorada a química de coordenação dos ligandos ambidentados derivados dos ácidos piridina-carboxílicos para síntese de novos complexos de metais de transição. As estruturas e propriedades magnéticas duma série de novos compostos foram investigadas. O Capítulo 3 consiste na descrição de polímeros de coordenação com lantanídeos (Eu^{3+} , Tb^{3+} , Sm^{3+}) com a presença simultânea na estrutura dum ligando aromático quelato (ácido picolínico) e um ligando de ponte flexível (ácido glutárico). Foram estudadas as propriedades estruturais, luminescentes e magnéticas. O Capítulo 4 descreve o comportamento magnético de híbridos orgânico-inorgânicos com ácido N-(fosfonometil)iminodiacético e metais da 1ª série de transição. A investigação abordada no Capítulo 5 relaciona-se com a modificação superficial e a funcionalização das nanopartículas ferrimagnéticas de magnetite (Fe_3O_4). Foi feito o estudo das possibilidades de aplicar estes últimos materiais na remoção de iões de metais pesados em águas poluídas. No Capítulo 6 são generalizadas as conclusões deste trabalho. Detalhes da parte experimental e das técnicas de caracterização podem ser consultadas no Capítulo 7.

keywords

Magnetic systems, Coordination polymers, Nanomaterials, Hybrid materials, Magnetic properties.

abstract

The research in this thesis is focused on the synthesis of bulk finite units of metal-ligand complexes and infinite coordination polymers as well as the synthesis and surface modification of Iron oxide nanoparticles. Subject of study is the magnetic phenomena raised in those materials. This is a research of the possibilities of the ligands with such size and shape that makes them able to trap a metal with unique electronic structure and build the new molecular assemblies with different structures, dimensionalities and sizes and of the study if / how the magnetic phenomena changes. The magnetic results in this work are interpreted in the frame of magnetochemistry.

Chapter 1 is an introduction to transition metals chemistry and correlation between structure and magnetic properties. It contains a short review of the existing magnetic coordination compounds and a description of some fundamentals in magnetism. Also some basic magnetic properties and correlations are explained. In Chapter 2 the coordination chemistry of derivatives of pyridine-carboxylic acids as ambidentate ligands is exploited to synthesize a series of transition metal complexes. Novel coordination compounds were synthesized and in particular their structures and magnetic properties are described. In Chapter 3 is discussed the simultaneous presence of a chelating aromatic ligand (picolinic acid) and a highly flexible bridging ligand (glutaric acid) in lanthanide-organic coordination polymers with Eu^{3+} , Tb^{3+} , Sm^{3+} . The structural, luminescent and magnetic properties are studied. In Chapter 4 the magnetic behaviour of organic-inorganic hybrids with the multidentate chelating ligand N-(phosphonomethyl)iminodiacetic acid and 1st row transition metals were investigated. In Chapter 5 is described the surface modification and functionalization of ferrimagnetic magnetite (Fe_3O_4) nanoparticles and their application for removal of heavy metals in waste waters. Conclusions from this work are generalized in Chapter 6. In Chapter 7 can be seen details about the experimental part and the characterization techniques.

ключови думи

Магнитни системи, Координационни полимери, Наноматериали, Хибридни материали, Магнитни свойства.

резюме

Работата, описана в настоящата теза, е фокусирана върху синтеза на обемни метал-лиганд комплекси и координационни полимери, а също и върху синтез и повърхностно модифициране на наночастици железен оксид. Предмет на изучаване е феноменът магнетизъм, който се появява в тези материали. Изучават се координационните свойства на лигандите, чиито размери и форми позволяват да координират с метали с точно определена електронна конфигурация и да изградят нови молекулни структури, а също и дали / как се променят магнитните свойства. Резултатите от изследването на магнитните свойства се интерпретират в рамките на магнетохимията.

Глава 1 съдържа кратко въведение в химията на преходните метали. Обсъжда се връзката между структура и магнитни свойства и се описват някои съществуващи магнитни координационни съединения; въвеждат се основни понятия и зависимости в магнетизма. В глава 2 се дискутира координационната химия лиганди, производни на пиридин-карбоксилни киселини. Редица нови координационни съединения на преходни метали са синтезирани и в частност се обсъждат техните структурни и магнитни свойства. Глава 3 описва лантанид-органично координационни полимери на Eu^{3+} , Tb^{3+} , Sm^{3+} с хелатен ароматен лиганд (пиколинова киселина) и втори лиганд (глутарова киселина). Изучават се структурните, оптични и магнитни свойства на тези нови комплекси. В глава 4 се описват магнитните свойства на органично-неорганични хибриди с Н-(фосфонометил)иминдиоцетна киселина и преходни метали. Глава 5 описва синтез, повърхностно модифициране и функционализиране на феримагнитни наночастици магнетит (Fe_3O_4), а също и приложението им за отстраняване на тежки метали от отпадни води. Закljučения от работата са представени в глава 6. В глава 7 могат да се намерят детайли по експерименталната част и техниките за характеризиране.

True knowledge exists in knowing that you know nothing... True wisdom comes to each of us when we realize how little we understand about life, ourselves, and the world around us... Wisdom begins in wonder...

Socrates (c. 469 BC–399 BC), in Socratic dialogues of Plato and in the Socratic Works of Xenophon

Contents

| | |
|---|-------------|
| List of Figures | v |
| List of Tables | xi |
| Abbreviations and symbols | xiii |
| 1. Introduction | 1 |
| 1.1. Fundamentals of coordination chemistry of transition metal compounds . . . | 1 |
| 1.1.1. Coordination compounds of 1 st row transition metals | 1 |
| 1.1.2. Magnetism of inorganic compounds with varying dimensionality and size | 5 |
| 1.2. Magnetism: foundations and applications | 13 |
| 1.2.1. Molecular magnetism | 13 |
| 1.2.2. Crystal field theory — the point charge dipole model | 14 |
| 1.2.2.1. Octahedral complexes | 14 |
| 1.2.2.2. Tetrahedral complexes | 14 |
| 1.2.2.3. Variation of the splitting energy Δ | 17 |
| 1.2.2.4. High spin and low spin complexes | 17 |
| 1.2.3. Molecular orbital theory | 19 |
| 1.2.4. Magnetic phenomena and classification of magnetic materials | 19 |
| 1.2.4.1. Diamagnetism | 21 |
| 1.2.4.2. Paramagnetism | 22 |
| 1.2.4.3. Superparamagnetism | 27 |
| 1.2.4.4. Cooperative and ordered magnetism; magnetic interactions . | 28 |
| 1.2.4.5. Ferromagnetism | 29 |
| 1.2.4.6. Antiferromagnetism | 30 |
| 1.2.4.7. Ferrimagnetism | 34 |
| 1.2.4.8. Low-spin (<i>LS</i>) — high-spin (<i>HS</i>) transition | 36 |
| 1.2.4.9. Intermediate spin-states | 36 |
| 1.2.5. Understanding experimental magnetic data | 36 |
| 1.2.5.1. Zeeman effects | 37 |
| 1.2.5.2. Zero-field splitting | 37 |
| 1.2.5.3. Treatment of experimental data | 38 |
| References | 47 |
| 2. Transition metals and ambidentate aromatic ligands | 53 |
| 2.1. Chemistry and complexes of derivatives of pyridine-carboxylic acids | 53 |
| 2.2. Structural aspects of complexes of transition metals and ambidentate aromatic ligands | 57 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.2.1. | Crystal structures of complexes of 3-hydroxypicolinic acid (I–V) . . . | 57 |
| 2.2.1.1. | Compound $[\text{Co}(\text{picOH})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (I) | 57 |
| 2.2.1.2. | Compound <i>mer</i> - $[\text{N}(\text{CH}_3)_4][\text{Co}(\text{picOH})_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (II) | 58 |
| 2.2.1.3. | Compound $[\text{Cu}(\text{picOH})_2]$ (III) | 59 |
| 2.2.1.4. | Compound $[\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})]_2 \cdot [\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})_2] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ (IV) | 60 |
| 2.2.1.5. | Compound $\text{Ni}(\text{picOH})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (V) | 63 |
| 2.2.2. | Crystal structures of complexes of 2-hydroxynicotinic acid (VI–XI) . . | 65 |
| 2.2.2.1. | Compound $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{nicO})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{H}_2\text{nicO})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (VI) . . | 65 |
| 2.2.2.2. | Compound $\text{M}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$, where $\text{M} = \text{Ni}^{2+}$ (VII) and Mn^{2+} (VIII) | 65 |
| 2.2.2.3. | Compounds $\text{Co}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$ (IX), $\text{Mn}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]$ (X) and $\text{Cu}[\text{HnicO}]_2$ (XI) | 67 |
| 2.2.3. | Crystal structures of complexes of 2-mercaptonicotinic acid (XII–XIV) | 68 |
| 2.2.3.1. | Compound $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{H}_2\text{nic}_2\text{S}_2)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XII) | 68 |
| 2.2.3.2. | Compound $[\text{Co}(\text{phen})(\text{HnicS})(\text{nicS})]$ (XIII) | 69 |
| 2.2.3.3. | Compound $[\text{Mn}(\text{phen})_2(\text{C}_{12}\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_5)](\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2) \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XIV) | 70 |
| 2.3. | Spectroscopic and thermo-analytical results | 71 |
| 2.3.1. | Vibrational spectroscopy | 71 |
| 2.3.2. | Thermal analysis | 75 |
| 2.4. | Magnetic properties | 78 |
| 2.4.1. | Compounds performing magnetic interactions | 78 |
| 2.4.1.1. | Compound $\text{Co}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$ (IX) | 78 |
| 2.4.1.2. | Compound $\text{Mn}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]$ (X) | 79 |
| 2.4.2. | Paramagnetic compounds | 82 |
| 2.4.2.1. | Compounds of Co^{2+} | 82 |
| 2.4.2.2. | Compounds of Cu^{2+} | 82 |
| 2.4.2.3. | Compounds of Ni^{2+} and Mn^{2+} | 83 |
| 2.5. | Final remark | 85 |
| | References | 87 |
| 3. | Complexes of lanthanides with picolinic acid and glutaric acid | 91 |
| 3.1. | Introduction | 91 |
| 3.1.1. | Magnetic consideration | 93 |
| 3.1.2. | Photoluminescent properties | 95 |
| 3.1.2.1. | Antenna effect | 95 |
| 3.1.2.2. | Jablonski diagram | 95 |
| 3.2. | Structural aspects of $[\text{Ln}(\text{glu})(\text{pic})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (XV–XVII) | 100 |
| 3.2.1. | Crystal structure of compound $[\text{Sm}(\text{glu})(\text{pic})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (XV) | 100 |
| 3.2.2. | Spectroscopic and thermo-analytical results | 104 |

| | |
|---|------------|
| 3.3. Photoluminescence of $[\text{Ln}(\text{glu})(\text{pic})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (XV–XVII) | 107 |
| 3.4. Magnetic properties of compound $[\text{Tb}(\text{glu})(\text{pic})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (XVI) | 109 |
| 3.5. Final remark | 110 |
| References | 111 |
| 4. Magnetic behaviour of organic-inorganic hybrids of H_4pmida | 115 |
| 4.1. Introduction | 115 |
| 4.2. Magnetic properties of compounds with H_4pmida and without bridging ligand | 116 |
| 4.2.1. Compound $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{pmida})(\text{H}_2\text{O})_2]$ (XVIII) | 116 |
| 4.2.1.1. Crystal structure | 116 |
| 4.2.1.2. Magnetic studies | 120 |
| 4.3. Magnetic properties of compounds with H_4pmida and bridging ligands | 123 |
| 4.3.1. Compounds $[\text{M}(\text{pyr})(\text{H}_2\text{O})_4][\text{M}_2(\text{Hpmida})_2(\text{pyr})(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot 2 (\text{H}_2\text{O})$ (XIX, XX) | 123 |
| 4.3.1.1. Crystal structures | 123 |
| 4.3.1.2. Magnetic studies | 125 |
| 4.3.2. Compounds $(4,4'-\text{bpyH})_2[\text{M}(4,4'-\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})_4][\text{V}_2\text{O}_2(\text{pmida})_2] \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XXI, XXII) | 127 |
| 4.3.2.1. Crystal structures | 127 |
| 4.3.2.2. Magnetic studies | 130 |
| 4.3.3. Compound $[\text{Cu}_5(\text{pmida})_2(4,4'-\text{bpy})_3] \cdot 6.5\text{H}_2\text{O}$ (XXIII) | 130 |
| 4.3.3.1. Crystal structure | 130 |
| 4.3.3.2. Magnetic studies | 132 |
| 4.4. Final remark | 133 |
| References | 135 |
| 5. Magnetic nanoparticles for removal of heavy metals from water | 139 |
| 5.1. Introduction | 139 |
| 5.2. Preparation of functionalized magnetite nanoparticles | 142 |
| 5.2.1. Structural characterization and discussion | 143 |
| 5.2.2. Magnetic properties | 148 |
| 5.2.3. Metal ions removal capacity of the nanomaterials | 151 |
| 5.3. Final remark | 153 |
| References | 155 |
| 6. Conclusions | 159 |
| 7. Experimental and characterisation techniques | 161 |
| 7.1. Experimental | 161 |
| 7.1.1. Reagents | 161 |
| 7.1.2. Syntheses | 163 |

| | |
|--|------------|
| 7.1.3. Synthetic approaches | 170 |
| 7.2. Characterization techniques | 171 |
| References | 177 |
| Appendices | 179 |
| A. Physical constants, units and conversion | 179 |
| B. Magnetic definitions and units | 181 |
| C. Crystal and structure refinement data | 185 |
| D. Bond lengths and angles | 191 |
| E. Hydrogen-bonding geometry and angles | 201 |

List of Figures

| | |
|--|----------|
| Introduction | 1 |
| 1.1. Periodic table of the elements | 2 |
| 1.2. Coordination compounds of transition metals with H_2nicOH | 3 |
| 1.3. Ionization energies of the 1 st row metals | 4 |
| 1.4. Trigonal bipyramidal cluster with coordination environment of one equatorial metal Fe(II) ion | 6 |
| 1.5. Crystal structure and magnetic properties of $[\text{Co}^{\text{III}}(\text{bpy})_3][\text{Co}_2^{\text{II}}(\text{ox})_3]\text{ClO}_4$. . | 8 |
| 1.6. Coordination environment of the Mn(II) atom in $[\text{Mn}(\text{titmb})(\text{N}_3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$. . | 8 |
| 1.7. Compound $[\text{Mn}(\text{titmb})(\text{N}_3)_2] \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ and plots of $\chi_M T$ vs. T and χ_M vs. T . . | 8 |
| 1.8. Relationship between size–magnetic properties | 9 |
| 1.9. Structure of magnetite. (a) Polyhedral model with alternating octahedral and tetrahedral-octahedral layers; (b) Ball-and-stick model; (c) Ball-and-stick model of the arrangement of octahedra and tetrahedra | 10 |
| 1.10. Structure of the molecular magnet $[\text{Mn}_{12}\text{O}_{12}(\text{CH}_3\text{COO})_{16}(\text{H}_2\text{O})_4]$ | 12 |
| 1.11. Coordinate system for an octahedral complex ML_6 | 15 |
| 1.12. Splitting of the metal d -orbitals in an octahedral transition metal complex . . | 15 |
| 1.13. Projection of the d -orbitals $d_{x^2-y^2}$ and d_{xy} in relation to the octahedral array of ligands | 15 |
| 1.14. Coordinate system for a tetrahedral complex ML_4 | 16 |
| 1.15. Splitting of the metal d -orbitals in a tetrahedral transition metal complex . . | 16 |
| 1.16. Planar view of the d -orbitals $d_{x^2-y^2}$ and d_{xy} in relation to the tetrahedral array of ligands. (a) $d_{xy}(t_2)$, (b) $d_{x^2-y^2}(e)$ | 16 |
| 1.17. μ_{eff} data (300 K) for octahedral complexes of the 1 st row transition elements low spin in the case of $d^4 - d^7$, compared with the predictions of the spin-only formula | 18 |
| 1.18. μ_{eff} data (300 K) for octahedral complexes of the 1 st row transition elements high-spin in the case of $d^4 - d^7$, compared with the predictions of the spin-only formula | 18 |
| 1.19. The relative energies of the frontier orbitals of octahedral complexes with different types of ligand | 19 |
| 1.20. Diamagnetic behaviour | 21 |
| 1.21. Temperature behaviour of magnetic susceptibility for normal diamagnets . . | 22 |
| 1.22. Paramagnetic behaviour | 22 |
| 1.23. Temperature behaviour of a paramagnet compared with the behaviour of ferro- and antiferromagnet | 26 |
| 1.24. Molar susceptibility scheme of a paramagnet | 26 |
| 1.25. Magnetization M vs. $\beta H/kT$ plots for molecules with a $^{2S+1}\Gamma$ ground state. . . | 27 |

| | |
|---|-----------|
| 1.26. Ferromagnetic behaviour | 30 |
| 1.27. Temperature behaviour of a ferromagnet | 31 |
| 1.28. Antiferromagnetic behaviour | 31 |
| 1.29. Temperature behaviour of an antiferromagnet | 32 |
| 1.30. View of superexchange in a linear M–L–M system | 33 |
| 1.31. Ferromagnetic coupling driven by covalency in a 90° M–L–M array | 33 |
| 1.32. Ferrimagnetic behaviour | 34 |
| 1.33. Temperature behaviour of a ferrimagnet | 35 |
| 1.34. Schematic magnetic hysteresis loop | 35 |
| 1.35. Types of spin transitions | 37 |
| 1.36. Zeeman effect for pure states | 38 |
| 1.37. Components of paramagnetic susceptibility | 39 |
| 1.38. Plots of χ_z and χ_x vs. T for a spin triplet molecule with an axial anisotropy | 41 |
| 1.39. $\chi_u T$ ($u = z, x$) and χ vs. $kT/ D $ plots for a spin triplet molecule with an axial anisotropy | 42 |
| 1.40. The splitting diagram for 2T_2 term under the action of spin-orbit coupling and a magnetic field | 43 |
| 1.41. Plot of χ^{-1} vs. T for an assembly of molecules obeying the Curie-Weiss law | 45 |
| 1.42. Plot of χT vs. T for an assembly of molecules obeying the Curie-Weiss law with a Curie constant $C = 0.375 \text{ cm}^3\text{K/mol}$ and the Weiss constant $\Theta = 5 \text{ K}$ and -5 K | 45 |
| 1.43. Behaviour of paramagnetic, antiferromagnetic and ferromagnetic compounds as function of temperature | 46 |
| Coordination compounds of 1st row transition metals and ambidentate aromatic ligands | 53 |
| 2.1. Derivatives of pyridine-carboxylic and benzoic acids, used in the work | 54 |
| 2.2. Deprotonation process of 2-hydroxynicotinic acid as a function of pH (analogous for 3-hydroxypicolinic acid) | 54 |
| 2.3. Tautomeric equilibrium of 2-hydroxynicotinic acid | 55 |
| 2.4. Coordination modes of 2-hydroxynicotinic acid | 55 |
| 2.5. Coordination modes of 3-hydroxypicolinic acid | 56 |
| 2.6. Thione-thiol tautomerism of 2-mercaptonicotinic acid | 56 |
| 2.7. The thione form of 2-mercaptonicotinic acid and its Zwitterion | 57 |
| 2.8. Coordination modes of 2-mercaptonicotinic acid | 57 |
| 2.9. The neutral complex $[\text{Co}(\text{picOH})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ (I) | 58 |
| 2.10. Anionic <i>mer</i> - $[\text{Co}(\text{picOH})_3]^-$ moiety in <i>mer</i> - $[\text{N}(\text{CH}_3)_4][\text{Co}(\text{picOH})_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (II) | 59 |
| 2.11. Crystal packing of <i>mer</i> - $[\text{N}(\text{CH}_3)_4][\text{Co}(\text{picOH})_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (II) | 60 |
| 2.12. The neutral complex $[\text{Cu}(\text{picOH})_2]$ (III) | 60 |

| | |
|---|-----------|
| 2.13. Crystal packing of compound $[\text{Cu}(\text{picOH})_2]$ (III) | 61 |
| 2.14. 1,2-bis(4-pyridyl)ethane | 61 |
| 2.15. Building units in $[\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})]_2 \cdot [\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})_2] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ (IV) . . . | 62 |
| 2.16. View of the 1D $[\text{Cu}^1(\text{picOH})_2(\text{BPE})]$ (IV) coordination polymer | 62 |
| 2.17. $\pi - \pi$ stacking in the neutral $[\text{Cu}(\text{picOH})(\text{BPE})_2]$ complexes (IV) | 63 |
| 2.18. 1D $[\text{Cu}^{1 \text{ and } 2}(\text{picOH})_2(\text{BPE})]$ coordination polymer and crystal packing of compound $[\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})]_2 \cdot [\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})_2] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ (IV) | 64 |
| 2.19. The neutral complex $\text{Ni}(\text{picOH})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (V) | 64 |
| 2.20. The neutral complex $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{nicO})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{H}_2\text{nicO})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (VI) | 65 |
| 2.21. Crystal packing of compound $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{nicO})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{H}_2\text{nicO})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (VI) . . | 66 |
| 2.22. Hydrogen-bondings in complex $[\text{Mn}(\text{H}_2\text{nicO})_2(\text{H}_2\text{O})_2](\text{H}_2\text{nicO})_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (VI) | 66 |
| 2.23. The neutral complex $\text{M}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$, where $\text{M} = \text{Ni}^{2+}$ (VII) and Mn^{2+} (VIII) | 67 |
| 2.24. Crystal packing of $\text{M}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$, where $\text{M} = \text{Ni}^{2+}$ (VII) and Mn^{2+} (VIII) | 67 |
| 2.25. Powder XRD patterns of compounds of Mn^{2+} and HnicOH (VI, VIII, X) . . . | 68 |
| 2.26. The neutral complex $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{H}_2\text{nic}_2\text{S}_2)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XII) | 69 |
| 2.27. Hydrogen-bonding in complex $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{H}_2\text{nic}_2\text{S}_2)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XII) | 69 |
| 2.28. Complex $[\text{Co}(\text{phen})(\text{HnicS})(\text{nicS})]$ (XIII) | 70 |
| 2.29. Neutral complex $[\text{Mn}(\text{phen})_2(\text{C}_{12}\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_5)](\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2) \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XIV) . . . | 71 |
| 2.30. Infrared spectra of HnicOH and its coordination compounds (VI–XI) | 73 |
| 2.31. TGA thermograms of complexes of 3-hydroxypicolinic acid (I–V) | 75 |
| 2.32. TGA thermograms of complexes of 2-hydroxynicotinic acid (VII, X–XI) | 76 |
| 2.33. TGA thermograms of complexes of 2-mercaptonicotinic acid (XII–XIV) | 77 |
| 2.34. Magnetic properties of compound $\text{Co}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$ (IX) | 79 |
| 2.35. Plots of χ vs. T and χ^{-1} vs. T of compound $\text{Mn}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]$ (X) | 80 |
| 2.36. Plot of magnetization M vs. field H of compound $\text{Mn}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]$ (X) . . . | 80 |
| 2.37. Magnetization loops of compound $\text{Mn}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]$ (X) without linear component | 81 |
| 2.38. Reduced magnetization $M/N\beta$ vs. applied field H at 1.9 K of compound $\text{Mn}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]$ (X) | 81 |
| 2.39. $[\text{Co}(\text{picOH})_2(\text{H}_2\text{O})_2]$ and <i>mer</i> - $[\text{N}(\text{CH}_3)_4][\text{Co}(\text{picOH})_3] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (I, II): Plots of χT vs. T | 83 |
| 2.40. $[\text{Cu}(\text{picOH})_2]$ (III), $[\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})]_2 \cdot [\text{Cu}(\text{picOH})_2(\text{BPE})_2] \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ (IV) and $\text{Cu}(\text{HnicOH})_2$ (XI): Plots of χ^{-1} vs. T | 84 |
| 2.41. Plot of χT vs. T of compound $\text{Ni}(\text{picOH})_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (V) | 84 |
| 2.42. Plot of χT vs. T of compound $\text{Ni}[\text{HnicO}]_2[\text{H}_2\text{O}]_2$ (VII) | 85 |
| 2.43. χ vs. T plots of $[\text{Ni}(\text{phen})_3](\text{H}_2\text{nic}_2\text{S}_2)_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XII) and $[\text{Mn}(\text{phen})_2(\text{C}_{12}\text{H}_7\text{N}_2\text{O}_5)](\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2) \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (XIV) | 86 |
| Coordination compounds of lanthanides with picolinic acid and glutaric acid | 91 |
| 3.1. Scheme of the antenna effect and Jablonski diagram | 97 |

| | |
|--|------------|
| 3.2. Powder X-ray diffraction patterns for compound [Eu(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XVII) | 100 |
| 3.3. Microscope images of crystals of [Ln(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XV, XVI) | 101 |
| 3.4. Building unit of [Sm(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XV) | 102 |
| 3.5. Ligands' coordination modes in compound [Sm(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XV) | 102 |
| 3.6. Crystal packing and intra-dimer hydrogen bonds of [Sm(pic)(glu)(H ₂ O) ₂] (XV) | 104 |
| 3.7. Crystal packing of [Sm(pic)(glu)(H ₂ O) ₂] (XV) | 105 |
| 3.8. Excitation spectra of [Ln(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XV–XVII) | 107 |
| 3.9. Emission spectra of [Ln(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XV–XVII) | 108 |
| 3.10. Plots of χ vs. T and χ^{-1} of [Tb(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XVI) | 109 |
| 3.11. Plot of χT vs. T for [Tb(glu)(pic)(H ₂ O) ₂] (XVI) | 110 |
| Magnetic behaviour of organic-inorganic hybrids of N-(phosphonomethyl) iminodiacetic acid and 1st row transition metals | 115 |
| 4.1. N-(phosphonomethyl)iminodiacetic acid | 116 |
| 4.2. Scheme of the three five-membered chelate rings formed by the pmida ⁿ⁻⁴ residues with metal centres | 116 |
| 4.3. Coordination environment of the Fe ²⁺ centres in [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII) | 117 |
| 4.4. Neutral coordination polymer of 1D _∞ [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII) | 119 |
| 4.5. Crystal packing of [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII) | 120 |
| 4.6. Temperature dependences of the magnetic susceptibility and effective magnetic moment of [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII) | 121 |
| 4.7. χT vs. T : Fits of the experimental data to the models of Griffith, Figgis, and Mabbs and Machin (compound [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII)) | 121 |
| 4.8. χT vs. T : Fits of the experimental data to the models for high-spin and low-spin Fe(III) (compound [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII)) | 122 |
| 4.9. χT vs. T : All the fits of the experimental data to models describing Fe(II) and Fe(III) (compound [Fe(H ₂ pmida)(H ₂ O) ₂] (XVIII)) | 122 |
| 4.10. Anionic [Co ₂ (Hpmida) ₂ (pyr)(H ₂ O) ₂] ²⁻ moiety present in the hybrid complex [Co(pyr)(H ₂ O) ₄][Co ₂ (Hpmida) ₂ (pyr)(H ₂ O) ₂] · 2 (H ₂ O) (XIX) | 123 |
| 4.11. One-dimensional cationic [Co(pyr)(H ₂ O) ₄] ²ⁿ⁺ coordination polymer present in the complex [Co(pyr)(H ₂ O) ₄][Co ₂ (Hpmida) ₂ (pyr)(H ₂ O) ₂] · 2 (H ₂ O) (XIX) | 124 |
| 4.12. Crystal packing of [Co(pyr)(H ₂ O) ₄][Co ₂ (Hpmida) ₂ (pyr)(H ₂ O) ₂] · 2 (H ₂ O) (XIX) | 125 |
| 4.13. Plots of χT vs. T of [M(pyr)(H ₂ O) ₄][M ₂ (Hpmida) ₂ (pyr)(H ₂ O) ₂] · 2 (H ₂ O) (XIX, XX) | 126 |
| 4.14. SEM images of (4,4'-bpyH) ₂ [M(4,4'-bpy)(H ₂ O) ₄][V ₂ O ₂ (pmida) ₂] · 2 H ₂ O (XXI, XXII) | 127 |
| 4.15. Cationic one-dimensional [Mn(4,4'-bpy)(H ₂ O) ₄] ²ⁿ⁺ coordination polymer in compound (4,4'-bpyH) ₂ [Mn(4,4'-bpy)(H ₂ O) ₄][V ₂ O ₂ (pmida) ₂] · 2 H ₂ O (XXI) | 128 |
| 4.16. Polyhedral representations of the dimeric anionic [V ₂ O ₂ (pmida) ₂] ⁴⁻ moieties in (4,4'-bpyH) ₂ [M(4,4'-bpy)(H ₂ O) ₄][V ₂ O ₂ (pmida) ₂] · 2 H ₂ O (XXI, XXII) | 129 |

| | |
|--|------------|
| 4.17. Crystal packing of $(4,4'-\text{bpyH})_2[\text{Mn}(4,4'-\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})_4][\text{V}_2\text{O}_2(\text{pmida})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $(4,4'-\text{bpyH})_2[\text{Co}(4,4'-\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})_4][\text{V}_2\text{O}_2(\text{pmida})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (XXI, XXII) | 129 |
| 4.18. Plots of χT vs. T of $(4,4'-\text{bpyH})_2[\text{M}(4,4'-\text{bpy})(\text{H}_2\text{O})_4][\text{V}_2\text{O}_2(\text{pmida})_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (XXI, XXII) | 131 |
| 4.19. Neutral complex $[\text{Cu}_5(\text{pmida})_2(4,4'-\text{bpy})_3] \cdot 6.5\text{H}_2\text{O}$ (XXIII) | 131 |
| 4.20. Crystal packing of the neutral complex $[\text{Cu}_5(\text{pmida})_2(4,4'-\text{bpy})_3] \cdot 6.5\text{H}_2\text{O}$ (XXIII) | 132 |
| 4.21. SEM image of $[\text{Cu}_5(\text{pmida})_2(4,4'-\text{bpy})_3] \cdot 6.5\text{H}_2\text{O}$ (XXIII) | 133 |
| 4.22. Plot of χ vs. T of $[\text{Cu}_{10}(\text{pmid})_4^{4-}(4,4'-\text{bpy}) \cdot 12\text{H}_2\text{O}]$ (XXIII) | 133 |
| Magnetic nanoparticles for removal of heavy metals from water | 139 |
| 5.1. Powder XRD pattern of magnetite (XXIV) | 144 |
| 5.2. Mössbauer spectra of Fe_3O_4 and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (XXIV, XXV) | 145 |
| 5.3. FT-IR and ATR spectra of magnetite materials (XXIV-XXVII) | 147 |
| 5.4. SEM images of magnetite and its functionalized materials | 148 |
| 5.5. TEM image and electron diffraction pattern of magnetite (XXIV) | 149 |
| 5.6. TEM images of silica coated magnetite (XXV) | 149 |
| 5.7. Size distribution of pure magnetite particles | 150 |
| 5.8. Magnetic hysteresis loops of Fe_3O_4 and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ at room temperature | 150 |
| 5.9. Plot of the concentration of Hg^{2+} in aqueous solution and/or sorbed onto the synthesized magnetite nanoparticles as function of contact time. Compound $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ | 151 |
| 5.10. Plot of the concentration of Hg^{2+} in aqueous solution and/or sorbed onto the synthesized magnetite nanoparticles as function of contact time. Compound $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{NH@CS}_2^-$ | 152 |
| 5.11. Variation of concentration of Cd^{2+} and Pb^{2+} ions as function of time in solutions | 153 |
| Experimental and characterisation techniques | 161 |
| 7.1. Reactional scheme of synthesis and functionalization of magnetite | 167 |
| 7.2. Magnetite nanoparticles without applied magnetic field and under the action of a strong NdFeB magnet | 167 |
| 7.3. Experimental details about the magnetite silica coating procedure and the test of the nanomaterials' efficiency | 168 |
| 7.4. Scheme of synthesis of DTC's | 169 |
| 7.5. Reaction autoclave | 172 |
| Appendices | 179 |
| B.1. The magnetic dipole moment μ due to a current loop | 182 |