

Nanocząstki magnetytu powlekane polimerami do zastosowań biomedycznych

Cz. I. Otrzymywanie nanocząstek Fe_3O_4 z powłokami z polisacharydów

Dorota Chełminiak¹⁾, Marta Ziegler-Borowska¹⁾, Halina Kaczmarek^{1), *}

DOI: [dx.doi.org/10.14314/polimery.2015.012](https://doi.org/10.14314/polimery.2015.012)

Streszczenie: Artykuł stanowi przegląd literatury z ostatnich lat dotyczącej nanocząstek magnetycznych powlekanych różnymi polimerami, wykorzystywanych w wielu dziedzinach, głównie w biologii i medycynie. Przedstawiono metody otrzymywania Fe_3O_4 w postaci nanocząstek, modyfikacje ich powierzchni za pomocą polisacharydów (chitozan, dekstran), właściwości oraz różne zastosowania takich układów.

Słowa kluczowe: synteza nanocząstek magnetytu, modyfikacja powierzchni nanocząstek, chitozan, dekstran, zastosowania nanocząstek magnetycznych.

Polymer coated magnetite nanoparticles for biomedical applications. Part I. Preparation of nanoparticles Fe_3O_4 coated by polysaccharides

Abstract: This article is a review of the literature from the last years concerning magnetic nanoparticles coated with various polymers, which are widely used in many research fields, mainly in biology and medicine. The methods of preparation and surface modification of Fe_3O_4 nanoparticles as well as the properties and applications of magnetic nanoparticles coated by polysaccharides (chitosan, dextran) are described.

Keywords: synthesis of magnetite nanoparticles, surface modification of nanoparticles, chitosan, dextran, application of magnetic nanoparticles.

Nanomateriały zawierające metale, ze względu na swoje unikatowe właściwości, stanowią obecnie przedmiot badań w wielu dziedzinach nauki. Szczególną klasą takich materiałów są nanocząstki magnetytu [Fe_3O_4 , tlenek żelaza(II,III)], charakteryzujące się biogodnością, dużym powinowactwem chemicznym do wielu substancji, a przede wszystkim – superparamagnetyzmem.

Paramagnetyki wykazują stały, różny od zera wypadkowy moment magnetyczny, także ich podatność magnetyczna $\chi > 0$. Pod wpływem zewnętrznego pola magnetycznego wektory momentów magnetycznych atomów ulegają orientacji zgodnie z kierunkiem sił tego pola [1].

Obiekty superparamagnetyczne, dzięki obecności w nich krystalitów o wymiarach nanometrycznych, już przy niewielkich wartościach indukcji magnetycznej uzyskiwanych przy użyciu prostych magnesów trwałych, osiągają swój maksymalny moment magnetyczny i zarazem silnie oddziałują z zewnętrznym polem mag-

netycznym. W superparamagnetykach pole magnetyczne wpływa na momenty magnetyczne całych krystalitów, a ich podatność magnetyczna jest znacznie większa niż w typowych związkach charakteryzujących się paramagnetyzmem.

Magnetyt to minerał występujący w przyrodzie w postaci rud żelaza stanowiących domieszkę wielu skał magmowych i osadowych. Krystalit magnetytu znaleziono również w organizmach żywych (w niektórych bakteriach, mięczakach, a także w tkankach kręgowców, również ludzi), w których pod wpływem zewnętrznych pól magnetycznych pojawia się zjawisko biomagnetyzmu [1, 2]. Znane są też proste metody syntezy magnetytu w warunkach laboratoryjnych.

Obecnie magnetyt jest wykorzystywany w magnetycznej separacji materiałów, jako nośnik leków oraz czynnik kontrastujący, niezbędny w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego (MRI, ang. *Magnetic Resonance Imaging*) [3]. Znajduje on również bardzo szerokie zastosowanie w katalizie przeprowadzanej zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i na skalę przemysłową [4].

Zapewnienie nanocząstkom magnetycznym lepszej trwałości oraz zwiększenie obszaru zastosowania jest

¹⁾ Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Chemii, Katedra Chemii i Fotochemii Polimerów, ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń.

^{*} Autor do korespondencji; e-mail: halina@chem.umk.pl

możliwe w wyniku pokrywania ich różnego rodzaju stabilizatorami. Ponadto, w toku syntezy nanomateriału jest możliwe utworzenie, poza magnetytem, także wodorotlenku żelaza(III) wykazującego słabsze niż magnetyt właściwości magnetyczne. Dodatek stabilizatora, adsorbującego się na powierzchni nanomateriału magnetycznego, skutecznie niweluje ten problem, zapobiegając jednocześnie aglomeracji nanocząstek. Wykorzystywane do tego celu stabilizatory można podzielić na małowadujące (nieorganiczne i organiczne) oraz polimerowe. Związanie materiału magnetycznego z warstwą odpowiednio dobranego polimeru pozwala na modyfikację właściwości mechanicznych, biologicznych oraz powierzchniowych układu.

METODY OTRZYMYWANIA NANOCZĄSTEK MAGNETYTU

W warunkach laboratoryjnych nanocząstki magnetytu otrzymuje się metodami: współwytrącania, mikroemulsji, rozkładu termicznego odpowiednich organicznych związków żelaza, techniką zol-żel oraz na drodze syntezy hydro- lub sonochemicznej [5–8]. Najczęściej stosowane, a zarazem najlepiej opracowane są metody współwytrącania i mikroemulsyjne.

Metoda współwytrącania polega na dodaniu zasady do wodnej mieszaniny soli zawierającej jony żelaza(II) i (III), w stosunku molowym 1:2 (schemat A). Wytrącenie nanocząstek Fe_3O_4 następuje po zalkalizowaniu mieszaniny do $\text{pH} = 9-14$.



Schemat A

Bardzo ważne jest zapewnienie beztlenowych warunków reakcji zapobiegających przemianie magnetytu w tlenek żelaza(III) (Fe_2O_3), a następnie wodorotlenek żelaza(III) (schemat B), co jest niekorzystne zwłaszcza w przypadku aplikacji biomedycznych. Aby zapobiec utlenianiu magnetytu do układu wprowadza się różne stabilizatory.



Schemat B

Kolejną, często wykorzystywaną metodą otrzymywania nanocząstek magnetycznych jest metoda mikroemulsyjna, szczegółowo opisana w pracy Bortela i współpr. [7]. Do wytwarzania nanocząstek magnetycznych najczęściej wykorzystuje się odwróconą mikroemulsję woda/olej (W/O) [3]. Pozwala to na uzyskanie nanocząstek Fe_3O_4 o małym stopniu polidispersji, których wymiary zależą od wielkości miceli w fazie wodnej. Jako alternatywę opisanej metody W/O stosuje się syntezę hydrotermalną, polegającą na krystalizacji substancji w roztworze wodnym w wysokiej temperaturze i pod wysokim ciśnieniem (na ogół w zakresie od 0,3 do 4 MPa).

Nanocząstki wytwarzane tą metodą charakteryzują się wysokim stopniem krystaliczności [3].

MODYFIKACJA POWIERZCHNI NANOCZĄSTEK Fe_3O_4

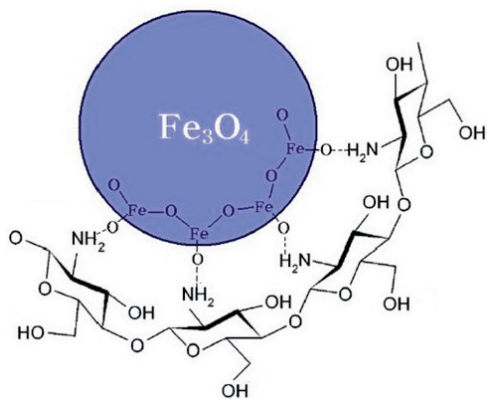
Stabilizatory zabezpieczające nanocząstki magnetytu przed dostępem tlenu pełnią jednocześnie funkcję modyfikatora powierzchni. Niektóre z nich, np. surfaktanty i polimery, zwykle są dodawane w trakcie syntezy nanocząstek, aby zapobiec ich agregacji. W taki sposób otrzymywane nanocząstki charakteryzują się zmodyfikowanymi właściwościami powierzchniowymi.

Utworzone na powierzchni nanocząstek powłoki polimerowe czasem poddaje się sieciowaniu za pomocą odpowiednich związków chemicznych. Powstający, stabilny układ nanocząstki/polimer jest na ogół odporny na zmiany temperatury oraz pH. Do pokrywania rdzenia magnetytowego stosuje się zarówno polimery syntetyczne, jak i naturalne. W I cz. artykułu przedstawiono nanocząstki magnetytu pokryte chitozanem i dekstranem, natomiast układy z powłokami syntetycznymi będą opisane w cz. II.

Nanocząstki magnetytu pokryte chitozanem

Chitozan ze względu na swoją wytrzymałość mechaniczną, biogodność, nietoksyczność oraz podatność na modyfikacje chemiczne jest powszechnie stosowany do produkcji materiałów medycznych [9–12]. W strukturze chitozanu występują wolne grupy aminowe, które po sprotonowaniu w środowisku kwaśnym zyskują ładunek dodatni i mogą reagować z ujemnie naładowanymi grupami kwasów nukleinowych, co jest wykorzystywane np. w obrazowaniu MRI [13]. Chitozan ułatwia również ruch cząstek w obrębie bariery komórkowej [14–16].

Magnetyczne nanocząstki stabilizowane chitozanem otrzymuje się najczęściej jako zawiesinę koloidalną w roztworach wodnych, często z dodatkiem środka powierzchniowo czynnego. W taki sposób materiał magnetyczny uzyskał Hong i współpr. [17]. Osiągnięciem tych autorów jest wyjaśnienie struktury i mechanizmu oddziaływań magnetytu z grupami funkcyjnymi chitozanu, mającymi wpływ na właściwości układu proponowanego jako środek kontrastujący w metodzie MRI. Na podstawie analizy widm FT-IR stwierdzono, że grupy aminowe chitozanu wiążą się z atomami tlenu magnetytu za pomocą wiązań wodorowych $\text{N-H}\cdots\text{O}$, podczas gdy grupy hydroksylowe pozostają wolne (rys. 1). Dzięki tym oddziaływaniom atomy azotu grup NH_2 uzyskują częściowo ładunek dodatni, co sprzyja stabilizacji roztworu koloidalnego oraz ułatwia oddziaływanie z naładowanymi ujemnie komórkami biologicznymi. Zaletą opisanego układu są dłuższe czasy relaksacji spinów jądrowych w roztworach wodnych w porównaniu z odpowiednimi wartościami czasów relaksacji spinów jądrowych obecnie stosowanych, handlowych środków kontrastujących



Rys. 1. Wiązanie grup aminowych chitozanu na powierzchni magnetycznych nanocząstek [17]

Fig. 1. The binding of chitosan amine groups at the surface of magnetic nanoparticles [17]

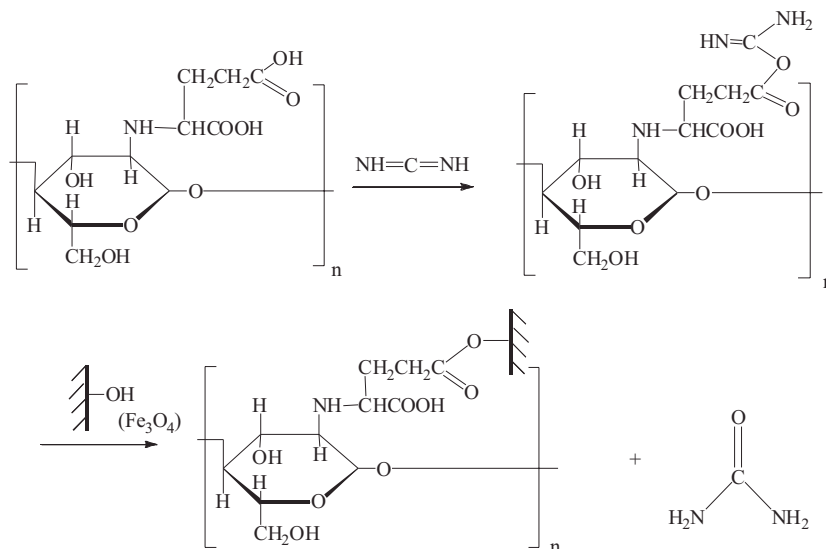
typu chelatów gadolinu z kwasem dietylenotriamino-pentaocetowym.

Nanocząstki magnetytu są wykorzystywane również w procesie immobilizacji enzymów. Li i współpr. [18] użyli magnetycznych nanocząstek pokrytych chitozaniem do immobilizacji dehydrogenazy alkoholowej (YADH), pochodzącej z bakterii *Saccharomyces cerevisiae*. Materiał magnetyczny uzyskano w wyniku trzyetapowej reakcji chemicznej obejmującej: przyłączenie kwasu α -ketoglutarynowego do chitozanu, wprowadzenie cyjanamidu do podstawionej grupy w chitozanie, a następnie przyłączenie tak zmodyfikowanego polisacharydu do powierzchni magnetytu (schemat C) [18]. Wytworzony układ służył do kowalencyjnego wiązania enzymu YADH. Zbadanie wpływu różnych czynników (czas reakcji, stężenie YADH, temperatura, pH) na proces immobilizacji i aktywności enzymu pozwoliło na określenie optymalnych warunków stosowania takiego materiału magnetycznego. Dodatkowymi jego zaletami są: zwiększona stabilność w podwyższonej temperaturze z zachowaniem 65 % aktywności enzymu (w stosunku do

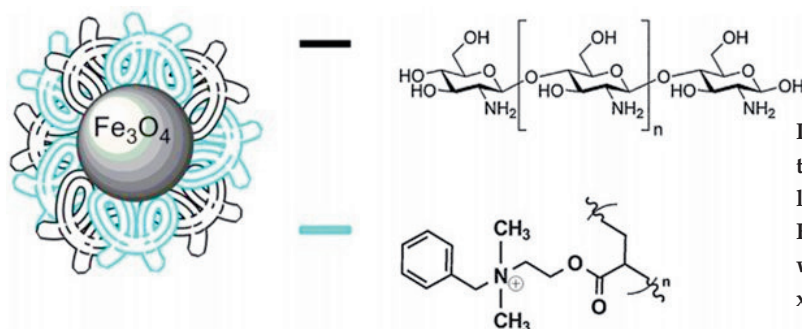
aktywności wolnego, nieimmobilizowanego YADH) oraz możliwość odzyskania magnetycznych cząstek z medium reakcyjnego w wyniku separacji w polu magnetycznym.

Duże znaczenie praktyczne mają układy otrzymane na drodze pokrycia nanocząstek magnetytu mieszaniną chitozanu i polimeru amfifilowego z dodatnio naładowanymi grupami amoniowymi w podstawnikach bocznych. W pracach [19, 20] takim amfifilowym polimerem był poli[bromek *N,N*-dimetylo-*N*-benzyl-*N*-(etyloetakrylanu) amonu]. Tego rodzaju materiały magnetyczne (rys. 2) uzyskuje się metodą współwytrącania *in situ* w obecności epichlorohydryny, aldehydu glutarynowego i etylenodiaminy, dzięki której zwiększa się liczba wolnych grup aminowych na powierzchni nanocząstek, wpływających korzystnie na adhezję związków biologicznie czynnych. Nanocząstki magnetytu pokryte chitozaniem z dodatkiem polimeru amfifilowego stanowiły podłoże do immobilizacji lipazy. Tak przygotowany układ wykorzystano z powodzeniem do rozdzielania enancjomerów ibuprofenu metodą chromatografii z chiralną fazą stacjonarną, co stanowi osiągnięcie ważne dla rozwoju farmakologii. Jak wiadomo enancjome-ry *R* i *S* różnią się aktywnością terapeutyczną (enancjomer *S* jest 160 razy aktywniejszy niż enancjomer *R*, który wykazuje ponadto działania uboczne), a ich rozdzielanie nie jest proste.

Zastosowanie polimeru amfifilowego przyczyniło się do zmniejszenia rozmiarów powlekaných nanocząstek w porównaniu z rozmiarami cząstek materiału stabilizowanego wyłącznie chitozaniem. Jednocześnie zaobserwowano zwiększenie trwałości i aktywności enzymu na tym podłożu w reakcji estryfikacji ibuprofenu różnymi alkoholami [19, 20]. Ważną zaletą tak zaprojektowanego materiału biokatalitycznego jest możliwość odzyskiwania enzymu ze środowiska reakcji w prosty i szybki sposób, z wykorzystaniem zwykłego magnesu. Należy podkreślić, że zachowana duża aktywność i selektywność takiego materiału umożliwia jego, co najmniej pięciokrotne, użycie, mające wpływ na obniżenie kosztów stosowania enzymu.



Schemat C



Rys. 2. Model magnetycznych nanocząstek pokrytych chitozaniem i poli[bromkiem *N,N*-dimetylo-*N*-benzylo-*N*-(etyloetakrylanu) amonu] [20]

Fig. 2. Model of magnetic nanoparticles coated with chitosan and poly[*N*-benzyl-2-(acryloyl)-*N,N*-dimethylethanaminium bromide] [20]

Nanocząstki magnetytu pokryte dekstranem

Dekstran jest wykorzystywany m.in. w produkcji podłoży do hodowli osteoblastów służących do uzyskania implantów kości [21], jako środek kontrastujący w MRI, a także jako stabilizator nanocząstek magnetytu, badanych metodami zarówno *in vivo* [22], jak i *in vitro* [16]. Dekstran, podobnie jak inne polisacharydy, można łatwo modyfikować chemicznie, poza tym jest dostępny, tani i nietoksyczny.

Współczesne biomedyczne zastosowania tego typu nanocząstek zależą w znacznym stopniu od ich wielkości [23]. Stwierdzono, że optymalna wielkość nanocząstek pokrytych dekstranem, stosowanych jako leki, wynosi 10–100 nm. Cząstki o średnicy mniejszej niż 10 nm lub większej niż 200 nm zbyt szybko opuszczają krwiobieg lub organy, do których są aplikowane.

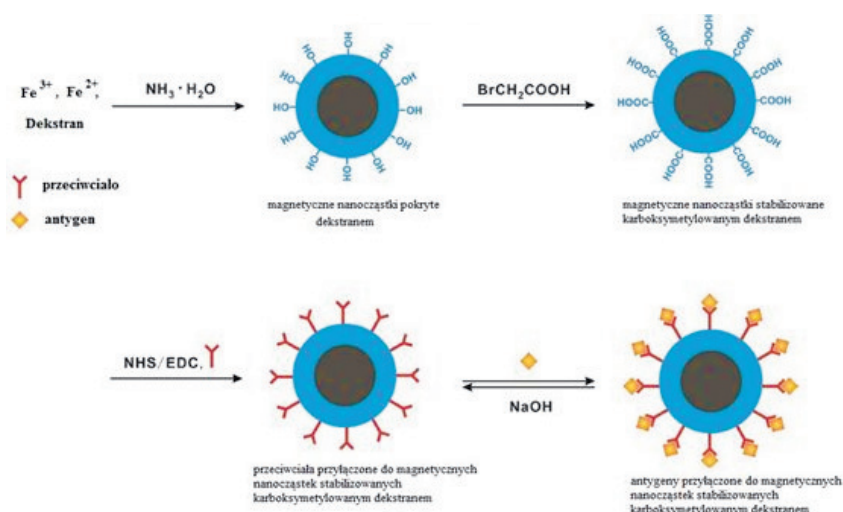
W pracy [23] opisano magnetyczne nanocząstki pokryte dekstranem, syntetyzowane w temperaturze 80–100 °C w obecności mocznika, pełniącego tu rolę regulatora pH. Mocznik w temperaturze 80 °C ulega rozkładowi z wydzieleniem amoniaku, zapewniającego stopniowy wzrost pH środowiska, co sprzyja tworzeniu jednorodnych pod względem wielkości nanocząstek Fe_3O_4 i jednocześnie zapobiega ich aglomeracji.

Zbadano cytotoksyczność tak otrzymanego materiału klasyczną metodą pomiaru zahamowania wzrostu liczby komórek za pomocą MTT (formazan błękitu triazolowego).

Nanocząstki pokryte roztworem dekstranu w małym stężeniu (do ok. 75 $\mu\text{g Fe/cm}^3$) wykazywały niewielki wpływ na żywotność (w porównaniu z żywotnością komórek próby kontrolnej) zaadsorbowanych na ich powierzchni komórek fibroblastów. Dopiero nanocząstki w stężeniu > 100 $\mu\text{g Fe/cm}^3$ spowodowały znaczne zmniejszenie ilości żywych komórek.

W pracy [24] opisano różne metody otrzymywania nanocząstek magnetycznych pokrytych dekstranem, w wyniku wytrącania z roztworów. Najczęściej stosowana technika polega na współwytrącaniu tlenku żelaza(II,III) w obecności dekstranu lub dodaniu tego polisacharydu do uprzednio wytrąconego magnetytu. Rozmiary nanocząstek zależą od stężenia użytego roztworu dekstranu. Porównanie obu metod prowadzi do wniosku, że korzystniejsze jest uzyskiwanie układów do zastosowań biomedycznych metodą współwytrącania z zachowaniem określonego stosunku dekstranu do magnetytu, dzięki któremu w dyspersji nie są obecne niezwiązane cząstki komponentów [24]. W omawianej pracy wykazano ponadto przydatność chromatografii żelowej do charakteryzowania układów cząstek magnetytu pokrytych dekstranem w roztworach koloidalnych.

Metodą współwytrącania otrzymano również magnetyczne nanocząstki pokryte dekstranem karboksymetylowanym (CMD), stosowane w odnawialnej bioseparacji (rys. 3) [25]. Dzięki hydrofilowości takiej powłoki jest zapewniona dobra dyspersja oraz stabilność nanocząstek magnetycznych. Obecność grup karboksylowych umo-



Rys. 3. Schemat otrzymywania magnetycznych nanocząstek stabilizowanych karboksymetylowanym dekstranem, do których przyłączono przeciwciała anti-BSA [25]

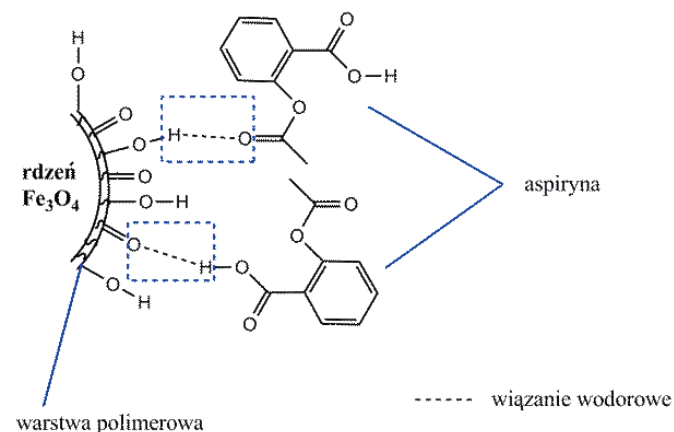
Fig. 3. Scheme of preparation of magnetic nanoparticles stabilized by carboxymethylated dextran and covered with anti-BSA antibody [25]

zliwia kowalencyjne przyłączenie przeciwciał. Badania wykonano z wykorzystaniem przeciwciał BSA (albumina z surowicy wołowej) oraz przeciwciał anti-BSA. Wykazano, że cząstki magnetytu powleczone modyfikowanym dekstranem z przyłączonymi przeciwciałami umożliwiają wychwyt antygeny, a dzięki właściwościom superparamagnetycznym rdzenia łatwo można je wydzielić z roztworu. W pracy [25] stwierdzono, że ważną zaletą zastosowania CMD jest wyeliminowanie niespecyficznego adsorpcji BSA do nanocząstek. Ponadto, w roztworze alkalicznym zachodzi odwracalny rozkład układu z wydzielaniem antygeny (spowodowany denaturacją BSA), co pozwala na odzysk materiału magnetycznego i jego ponowne użycie.

Regeneracja przeciwciał anti-BSA przyłączonych do magnetycznych nanocząstek pokrytych karboksymetylowanym dekstranem nie powoduje istotnego zmniejszenia ich aktywności, a powtarzane etapy rozdzielania magnetycznego i przemywania wpływają jedynie na niewielki ubytek ilości materiałów wyjściowych. Duża specyficzność reakcji stwarza realne szanse na wykorzystanie takich materiałów do rozdzielania antygenów lub w charakterze biosensorów.

Nanocząstki magnetytu pokryte spolimeryzowaną glukozą

Nanocząstki powlekane spolimeryzowaną glukozą otrzymano stosunkowo prostą metodą glikotermaalną [26]. Na pierwszym etapie zsyntezowano nanocząstki magnetytu z odpowiednich soli żelaza w obecności glikolu etylenowego. Powierzchnię otrzymanych nanocząstek Fe_3O_4 pokryto glukozą i poddano polimeryzacji w autoklawie w temp. 180 °C. Spolimeryzowana warstwa glukozy, dzięki obecności w niej grup hydroksylowych, może oddziaływać z biocząsteczkami zawierającymi grupy karboksylowe ($-\text{COOH}$), tiolowe ($-\text{SH}$) i aminowe ($-\text{NH}_2$). Uzyskany materiał jest biokompatybilny i może



Rys. 4. Schemat tworzenia wiązania wodorowego między cząsteczkami aspiryny a nanokompozytami magnetycznymi [26]

Fig. 4. Scheme of hydrogen bond formation between aspirin molecules and magnetic nanocomposites [26]

być wykorzystany jako nośnik leków. Zbadano to na przykładzie kwasu acetylosalicylowego (aspiryna), tworzącego wiązania wodorowe z powierzchniowymi grupami hydroksylowymi nanocząstek magnetytu (rys. 4). Zdolność adsorpcji i uwalniania substancji czynnej określono w roztworach o różnym pH, różnej sile jonowej i temperaturze. Zaobserwowano stosunkowo dużą wydajność osadzania leku na nanocząstkach w środowisku kwaśnym (do pH ok. 4), malejącą w warunkach pH o większych wartościach. Jest to związane z obecnością niedysocjowanej formy tego słabego kwasu organicznego (aspiryny) w środowisku o małym pH, sprzyjającej powstawaniu wiązań wodorowych. Wzrost temperatury (0–100 °C), powodujący rozrywanie wiązań wodorowych, również wpływał na zmniejszenie adsorpcji cząstek aspiryny na nanocząstkach. Te dwa czynniki – pH i temperatura – oddziałują też na szybkość uwalniania leku. Stwierdzono ponadto znaczne zwiększenie wydajności wydzielania leku, zwłaszcza na początkowym etapie, w roztworze NaCl (w porównaniu z wydajnością wydalania z wody dejonizowanej lub buforu fizjologicznego), co tłumaczono oddziaływaniami jonów chlorkowych z powierzchnią nanocząstek.

BIOMEDYCZNE ZASTOSOWANIE MAGNETYCZNYCH NANOCZĄSTEK Fe_3O_4

Nanocząstki magnetyczne stabilizowane polimerami znajdują obecnie zastosowanie w biomedycynie i nowoczesnej biotechnologii. Wykorzystuje się je jako biologiczne czujniki [27] oraz środki kontrastujące w obrazowaniu metodą rezonansu magnetycznego (MRI) [28–31]. Stosuje się tu głównie nanocząstki magnetytu pokryte polimerowymi stabilizatorami, takimi jak: chitozan, dekstran i poliwinylpirolidon (który będzie omówiony w Cz. II).

Równie ważne i powszechne jest zastosowanie materiału magnetycznego w hipertermii. Jest to selektywna terapia przeciwnowotworowa polegająca na poddawaniu tkanek zmienionych nowotworowo ekspozycji na zmienne pole magnetyczne. Selektywność terapii wynika z faktu, że zdrowe komórki nie absorbują promieniowania. Nanocząstki magnetyczne umieszcza się w okolicy guza oraz w oscylującym polu magnetycznym, a następnie ogrzewa je do żądanej temperatury, warunkującej efekt terapeutyczny. Ogólnie przyjmuje się, że komórki nowotworowe obumierają w temp. 43,1 °C. Wykazano, że w celu poprawy skuteczności leczenia, metoda ta powinna być stosowana w połączeniu z chemioterapią lub radioterapią [31, 32].

Nanocząstki magnetyczne pokryte glukozą, a także poli(glikolem etylenowym) (cz. II) stanowią doskonały materiał do zastosowań farmakologicznych [26, 33, 34]. Przede wszystkim mogą służyć do kontrolowanego dostarczania leków. Wykazują korzystną zdolność do przenoszenia zróżnicowanych chemicznie substancji w optymalnych ilościach, ponadto mogą stosunkowo długo cyr-

kulować we krwi, bez powodowania reakcji immunologicznej ze strony tkanki.

Kolejnym sposobem zastosowania nanocząstek magnetycznych jest wykorzystanie ich jako podłoża do immobilizacji enzymów, dzięki rozwiniętej powierzchni, zdolności do przenikania przez błony komórkowe oraz możliwości odzyskiwania nanocząstek przy użyciu pola magnetycznego.

Dotychczas w badaniach procesu immobilizacji używano magnetycznych nanocząstek pokrytych modyfikowanym chitozaniem [18] lub mieszaniną chitozanu z polimerem o charakterze amfifilowym [19, 20]. Najczęściej immobilizowanymi enzymami są hydrolazy, w tym głównie lipaza. Immobilizacja enzymów na materiale magnetycznym poprawia ich aktywność katalityczną, a przede wszystkim, dzięki separacji magnetycznej umożliwia wielokrotne użycie, zazwyczaj drogiego enzymu, w procesie biokatalizy [35].

Separacja substancji organicznych osadzonych na magnetycznych nanocząstkach za pomocą pola magnetycznego jest procesem ekonomicznym i ekologicznym, ponieważ nie wymaga ani stosowania kosztownej aparatury chromatograficznej czy ultrawirówek, ani użycia toksycznych rozpuszczalników organicznych.

LITERATURA

- [1] Pikul A.P.: „Wybrane zagadnienia z fizyki magnetyków”. <http://www.wfa.uni.wroc.pl/pub/content/2280/files/Fizyka%20magnetyk%C3%B3w%20-%20Pikul.pdf> (data dostępu 29.11.2012).
- [2] Kirschvink J.L., Kobayashi A., Diaz-Ricchi J.C., Kirschvink S. J.: *Bioelectromagnetics Supplement* **1992**, 1, 101. <http://dx.doi.org/10.1002/bem.2250130710>
- [3] Gupta A.K., Gupta M.: *Biomaterials* **2005**, 26, 3995. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.10.012>
- [4] Kmieciak J., Wójcik M.: *Inż. Ap. Chem.* **2009**, 48, 61.
- [5] Wang J., Sun J., Sun Q., Chen Q.: *Mater. Res. Bull.* **2003**, 19, 1113. [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-5408\(03\)00129-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-5408(03)00129-6)
- [6] Kim E.H., Lee H.S., Shao H.: *Key Eng. Mater.* **2005**, 277, 1044. <http://dx.doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.277-279.1044>
- [7] Bortel E., Witek E., Kochanowski A., Pazdro M.: *Polimery* **2005**, 50, 489.
- [8] Reisfeld R.: *Polimery* **2006**, 51, 95.
- [9] Kucińska-Lipka J., Gubańska I., Janik H.: *Polimery* **2013**, 58, 678. <http://dx.doi.org/10.14314/polimery.2013.678>
- [10] Mucha M., Michalak I., Balcerzak J., Tylman M.: *Polimery* **2012**, 57, 714. <http://dx.doi.org/10.14314/polimery.2012.714>
- [11] Gorczyca G., Tylingo R.: *Polimery* **2011**, 56, 709.
- [12] Gorczyca G., Tylingo R.: *Polimery* **2011**, 56, 791.
- [13] Qiao T., Wu Y.H., Jin J., Gao W., Xie Q., Wang S., Yhang Z., Deng H.: *Colloids Surf., A* **2011**, 380, 169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.02.038>
- [14] Kuroiwa T., Noguchi Y., Nakajima M., Sato S.: *Proc. Biochem.* **2008**, 43, 62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2007.10.014>
- [15] Zhu L.Z., Ma J.W., Jia N.Q., Zhao Y.: *Colloids Surf., B* **2009**, 68, 1. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2008.07.020>
- [16] Muthiah M., Park I.K., Cho Ch.S.: *Biotechnol. Adv.* **2013**, 31, 1224. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.03.005>
- [17] Hong S., Chang Y., Rhee I.: *J. Korean Phys. Soc.* **2010**, 56, 868. <http://dx.doi.org/10.3938/jkps.56.868>
- [18] Li G., Zhi-de Zhou, Li Y., Huang K.: *J. Mag. Mag. Mater.* **2010**, 322, 3862. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmmm.2010.08.008>
- [19] Siódmiak T., Ziegler-Borowska M., Marszał M.P.: *J. Mol. Cat., B* **2013**, 94, 7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.04.008>
- [20] Ziegler-Borowska M., Siódmiak T., Chełminiak D., Cyganiuk A., Marszał M.P.: *Appl. Surf. Sci.* **2014**, 288, 641. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.10.088>
- [21] Fabianowski W., Polak B., Lewandowska-Szumiel M.: *Polimery* **2004**, 49, 522.
- [22] Hsieh W.J., Liang C.J., Chieh J.J., Wang S.H., Lai I.R., Chen J.H., Tseng W.K., Yang S.Y., Wu C.C., Chen Y.L.: *Int. J. Nanomed.* **2012**, 7, 2833. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S32154>
- [23] Easo S.L., Mohanan P.V.: *Carbohydr. Polym.* **2013**, 92, 726. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.09.098>
- [24] Hradil J., Pisarev A., Babic M., Horak D.: *China Particuology* **2007**, 5, 162. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpart.2007.01.003>
- [25] Li J., Zhou Y., Li M., Xia N., Qiyu H., Huy D., Liu Y.H., Feimeng Z.: *J. Nanosci. Nanotechnol.* **2011**, 11, 10 187. <http://dx.doi.org/10.1166/jnn.2011.5002>
- [26] Chen Ch., Jiang X., Kaneti Y.V., Yu A.: *Powder Technol.* **2013**, 236, 157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.powtec.2012.03.008>
- [27] Chen H.J., Zhang Z.H., Luo L.J., Yao S.Z.: *Sens. Actuat., B* **2012**, 163, 76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2012.01.010>
- [28] Lee H.Y., Lee S.H., Xu Ch., Xie J. et al.: *Nanotechnology* **2008**, 19, 165 101. <http://dx.doi.org/10.1088/0957-4484/19/16/165101>
- [29] Arsalani N., Fattahi H., Nazarpour M.: *Express Polym. Lett.* **2010**, 4, 329. <http://dx.doi.org/10.3144/expresspolymlett.2010.42>
- [30] Lacava L.M., Lacava Z.G., Da Silva M.F., Silva O., Chaves S.B., Azevedo R.B., Pelegrini F., Gansau C., Buske N., Sabolovic D., Morais P.C.: *Biophys. J.* **2001**, 80, 2483. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)76217-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3495(01)76217-0)
- [31] Kim D.H., Kim K.N., Kim K.M., Lee Y.K.: *Biomed. Mater. Res., A* **2009**, A 88, 1. <http://dx.doi.org/10.1002/jbm.a.31775>
- [32] Wydra R.J., Kruse A.M., Bae Y., Anderson K.W., Zach Hilt J.: *Mater. Sci. Eng., C* **2013**, 33, 4660. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2013.07.019>
- [33] Mahmoudi M., Simchi A., Imani M., Häfeli U.O.: *J. Phys. Chem., C* **2009**, 113, 8124. <http://dx.doi.org/10.1021/jp900798r>
- [34] Kayal S., Ramanujan R.V.: *Mater. Sci. Eng., C* **2010**, 30, 484. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2010.01.006>
- [35] Dong H., Huang J., Koepsel R.R., Ye P., Russel A.J., Matyjaszewski K.: *Biomacromolecules* **2011**, 12, 1305. <http://dx.doi.org/10.1021/bm200031v>