Nanoparticules de fer de taille contrôlée pour l'hyperthermie

Lise-Marie Lacroix, Sébastien Lachaize, Julian Carrey, Marc Respaud, Bruno Chaudret

▶ **To cite this version:**

Lise-Marie Lacroix, Sébastien Lachaize, Julian Carrey, Marc Respaud, Bruno Chaudret. Nanoparticules de fer de taille contrôlée pour l'hyperthermie. Actualités chimiques, 2011. hal-03156667

HAL Id: hal-03156667
https://hal.science/hal-03156667

Submitted on 2 Mar 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Nanoparticules de fer de taille contrôlée pour l'hyperthermie

Lise-Marie Lacroix*[1], Sébastien Lachaize[1], Julian Carrey[1], Marc Respaud[1], Bruno Chaudret[2]

* Auteur à contacter : lmlacroi@insa-toulouse.fr, MdC, Tél : 05-61-55-96-63, Fax : 05-61-55-96-97
Sébastien Lachaize, slachaiz@insa-toulouse.fr MdC, Tél : 05-61-55-96-77, Fax : 05-61-55-96-97
Julian Carrey, julian.carrey@insa-toulouse.fr MdC, Tél : 05-61-55-96-63, Fax : 05-61-55-96-97
Marc Respaud, respaud@insa-toulouse.fr, Prof., Tél : 05-61-55-96-48, Fax : 05-61-55-96-97
Bruno Chaudret, chaudret@lcc-toulouse.fr, DRCE, Tél : 05-61-33-31-69, Fax : 05-61-55-30-03

[1.] Université de Toulouse; INSA; UPS; LPCNO (Laboratoire de Physique et Chimie des Nano-Objets), 135 avenue de Rangueil, 31077 Toulouse and
CNRS; UMR 5215 ; LPCNO, 31077 Toulouse
[2.] Laboratoire de Chimie de Coordination-CNRS, 205 rte de Narbonne, 31077 Toulouse cedex 4

Résumé :

Les nanoparticules magnétiques (NPM) présentent un fort potentiel pour le traitement des tumeurs par hyperthermie ; leur efficacité dépend de leur taille et de la nature du matériau employé. Alors que des particules d'oxyde de fer sont déjà utilisées dans des essais cliniques, il est intéressant d'étudier le comportement de NPM de fer métallique, théoriquement plus efficaces, qui pourraient permettre le traitement de tumeurs de plus petite taille. Une étude complète couplant synthèse chimique des particules et caractérisation physique de leurs propriétés a été menée. Un large panel de NPM a été obtenu (sphères entre 1.5 et 11 nm, cubes de 7 à 90 nm, étoiles, cubes creux…) et des puissances d'échauffement inégalées ont pu être mesurées sur des cubes de 16 nm, ferromagnétiques (1700 $W.g^{-1}_{Fe}$).

Mots-clés : nanoparticules magnétiques, fer, hyperthermie magnétique, spectroscopie Mössbauer, mécanisme de croissance

Title : Iron Nanoparticles with tuneable sizes for hyperthermia applications

Abstract :

Magnetic nanoparticles (NPM) are of particular interest for hyperthermia of tumors. Their efficiency depends on their size, their surface state and on the material used. Eventhough iron oxide NPM are already tested in clinical trials, metallic iron NPM are promising candidates for the treatment of smaller tumors (metastases). A detailed study of these metallic iron NPM, theoretically more efficient that their oxide counterparts, is reported from their synthesis to their peculiar physical properties. A large variety of NPM has been obtained (spheres from 1.5 to 11nm, cubes from 7 to 90nm, stars, porous cubes….) and unprecedent heating efficiency have been measured on ferromagnetic 16nm cubes (1700$W.g^{-1}_{Fe}$).

Key Words : magnetic nanoparticles, iron, magnetic hyperthermia, Mössbauer spectroscopy, growth mechanism.

Objets d'étude à l'interface entre chimie, physique et biologie, les nanoparticules (10^{-8}-10^{-9} m) suscitent un fort intérêt pour la médecine, notamment pour la détection et le traitement de cancers [1-2]. Leur taille réduite, couplée à une vectorisation efficace, leur assure en effet de pouvoir traverser les différentes barrières biologiques et ainsi d'atteindre les zones tumorales. En particulier, les nanoparticules magnétiques (NPM) sont déjà largement développées comme agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique [3-4]. Des résultats préliminaires prometteurs laissent envisager d'autres applications telles que la vectorisation de médicament [5], le tri magnétique de protéines et de cellules [6-7], la biodétection de molécules [8] ou encore le traitement par hyperthermie pour des tumeurs difficilement opérables ou faiblement vascularisés (cf Figure 1) [9].

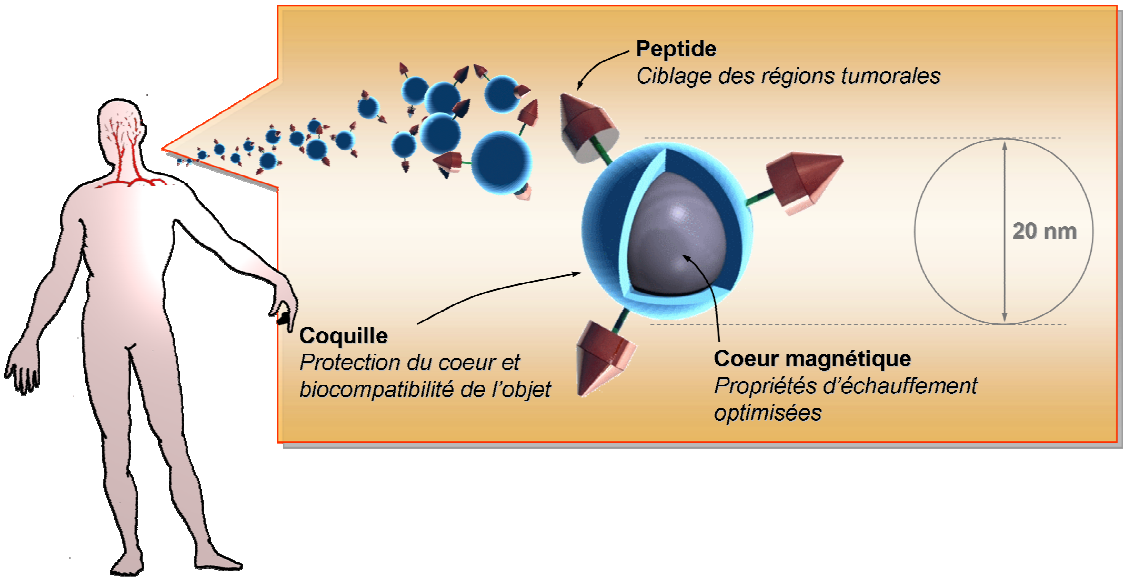

Figure 1 : Représentation schématique de nanoobjets : formées d'un cœur magnétique (gris), protégées par une coquille biocompatible (bleu) sur laquelle sont greffés des peptides permettant le ciblage de tumeurs. Ces particules sont destinées à être injectées directement par voie intraveineuse.

Le principe de l'hyperthermie repose sur le traitement de tumeurs par échauffement. Les cellules cancéreuses étant très sensibles à une variation de

température, un échauffement modéré (T = 43-45°C) permet d'augmenter l'efficacité des traitements classiques (radio-, chimio- thérapies) voire d'induire une nécrose (T > 50°C) [10]. Jusqu'alors ce traitement nécessitait le recours à des chirurgies parfois très invasives pour générer l'échauffement aux abords de la tumeur, mais l'émergence des nanoparticules magnétiques a permis de les envisager comme sources de chaleur locales et ciblées. En effet, des NPM ne s'échauffent qu'une fois exposées à un champ alternatif (cf. encadré 1). A Berlin, les premiers essais cliniques sont ainsi actuellement menés avec des particules d'oxyde de fer pour le traitement de glioblastomes (tumeur du cerveau). Les particules, directement injectées dans la tumeur, sont ensuite excitées par un champ magnétique, au cours de séances d'1h [11]. Les résultats obtenus, encore insuffisants, pourraient être améliorés par l'utilisation de NPM spécifiquement optimisées pour l'hyperthermie, leurs efficacité pouvant être encore considérablement augmentée d'après des études théoriques récentes [12].

**** Critères d'optimisation des NPM.***

Dans une dynamique toulousaine forte, couplant physiciens, chimistes, biochimistes, biologistes et chirurgiens, ce défi de nano-oncologie est à l'étude. Plusieurs objectifs doivent être atteints:

- <u>l'efficacité</u> : les particules doivent permettre de chauffer leur environnement jusqu'à 45°C. Cette efficacité est quantifiée par la puissance absorbée spécifique (*PAS*) – et donc réémise – par la particule. Plus cette efficacité est grande, i) plus la quantité de particules à injecter pourra être limitée, ii) plus des tumeurs de petite taille pourront être

traitées [13]; ces tumeurs étant très vascularisées une puissance de chauffe importante est requise.

- la vectorisation : afin d'envisager le traitement de tumeurs difficilement accessibles ou très diffuses, il serait crucial de remplacer l'injection intra-tumorale comme effectuée à Berlin, par une injection intraveineuse. La vectorisation serait un moyen efficace pour cibler spécifiquement les nanoparticules vers les cellules tumorales.

Un cahier des charges drastique s'ajoute à ces problématiques :

- le champ magnétique : pour des contraintes physiologiques (stimulation neuromusculaire, échauffement de tout le corps), les gammes de fréquences et d'amplitudes sont limitées à respectivement 50-300 kHz et 15-30 mT [13].

- la non-toxicité : les matériaux potentiellement cancérigènes sont à proscrire (ex : Co) ; le fer et plus particulièrement ses oxydes sont des candidats potentiels.

- la biocompatibilité / biodisponibilité : les particules ne doivent pas être capturées par les organes filtrants (foie, rein). Des sucres ou des polymères sont ainsi souvent greffés en surface des particules pour leurrer les défenses immunitaires [14]. Une longue circulation permet d'augmenter la probabilité que les particules atteignent leurs cibles. De plus il leur faut aussi passer différentes barrières biologiques. Finalement une taille inférieure à 20 nm est donc recommandée.

- la sélectivité : seules les cellules cancéreuses doivent être visées. Des anticorps ou des peptides spécifiques pourraient être greffés en surface des particules pour reconnaître des cellules cancéreuses [14].

**** Objectifs : des nanoparticules de fer métallique.***

Dans ce projet ambitieux, ma thèse n'était qu'une première étape, dont le but était d'optimiser la synthèse du cœur magnétique et de mesurer le potentiel réel des NPMs de fer en hyperthermie. Le phénomène d'hyperthermie, détaillé dans l'encadré 1, provient de la rotation du moment magnétique de la particule entre deux positions opposées (cf. figure 2a), un peu comme une boussole oscillant entre les positions nord et sud. La différence cependant avec une boussole est que ce retournement est hystérétique. Sous l'effet d'un champ magnétique oscillant, il est possible de forcer ces retournements (cf. figure 2b). L'échauffement engendré, et donc l'efficacité des particules (*PAS*), est directement relié à l'aire *A* du cycle d'hystérésis et à la fréquence *f* de retournement (imposée par le champ) :

$$PAS = A.f$$

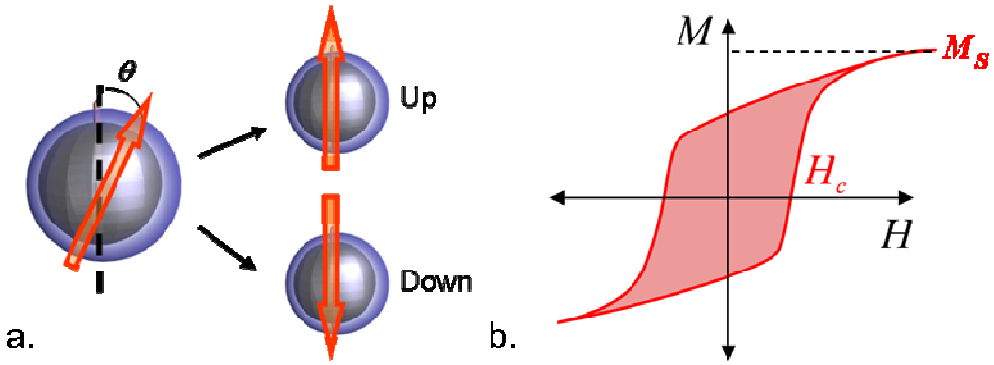

Figure 2 : Vue schématique (a) du retournement de l'aimantation dans une particule. (b) Cycle d'hystérésis d'une assemblée de NPMs obtenu après retournement de l'aimantation sous l'effet du champ magnétique H. H_C est le champ coercitif et M_S l'aimantation à saturation.

La fréquence d'excitation étant limitée (*f*), seule nous reste l'aire du cycle pour augmenter l'efficacité d'échauffement des NPMs. Ce cycle est fonction, entre autre, de l'aimantation des particules, de leur taille (au travers du champ coercitif H_C), et de

l'amplitude du champ *H*. Pour décrire un cycle complet il faut que le champ appliqué *H* soit supérieur au champ de retournement pour que le moment magnétique de la particule puisse se retourner. Dans le cas inverse, seul un cycle mineur est décrit. Or, l'amplitude du champ appliqué étant limitée à 20 mT [13], le champ de retournement doit être ajusté en-deçà. En résumé pour maximiser l'aire du cycle, il nous faut des particules : i) à forte aimantation (M_S), et ii) de taille optimisée. Les particules d'oxyde de fer (M_S=100 Am^2kg^{-1}), jusqu'alors utilisées, pourraient donc être avantageusement remplacées par des particules métalliques de Fe (M_S=220 Am^2kg^{-1}). Cependant cet objectif se révèle être un véritable défi à la fois en chimie, concernant la synthèse et le contrôle de taille de ces NPMs, mais aussi en physique où le couplage entre les propriétés magnétiques et l'échauffement doit être étudié. Nous allons dans un premier temps nous intéresser à la synthèse, puis, une fois les objets obtenus, nous détaillerons leurs propriétés.

**** Synthèse de particules de fer métallique de taille contrôlée :***

La synthèse de nanoparticules de fer de taille ajustable représente à plusieurs titres un challenge. Tout d'abord, le contrôle de la taille des nanoparticules nécessite une compréhension fine de leur mécanisme de croissance. Ensuite, la réactivité intrinsèque du fer impose des conditions drastiques de synthèse, à l'abri de toute trace d'air et d'eau, sous peine de formation d'un oxyde en surface. Ainsi, la plupart des synthèses chimiques décrites dans la littérature conduisent à des particules de fer enrobées d'une couche d'oxyde et présentent donc une aimantation moindre.[15] Cette baisse d'aimantation compromet leur efficacité en hyperthermie. Cependant en 2004, notre équipe a montré que la réduction sous dihydrogène d'un précurseur organométallique conduisait à des

cubes de fer de 7 nm [16], sans oxyde et présentant l'aimantation du fer massif (M_S = 212 Am^2kg^{-1}). Le problème du contrôle de la taille restait cependant ouvert.

Partant de cette expertise sur la synthèse par voie organométallique, nous avons essayé de comprendre quels étaient les paramètres réactionnels qui influençaient la taille finale des nanoparticules. Le système réactionnel initial est composé des produits suivants :

- une source d'atome de fer(II) très réactive ($Fe\{N[Si(CH_3)_3]_2\}_2)_2$,
- des tensio-actifs formés par un mélange d'acide (R'COOH) et d'amine (RNH_2) à longues chaines carbonées,
- un agent réducteur, le dihydrogène gazeux (H_2).

Le bilan réactionnel est le suivant :

$$Fe\{N[Si(CH_3)_3]_2\}_2 + 2RNH_2 + xR'COOH \xrightarrow[3bars\ H_2\ M\acute{e}sitylène]{150°C} NPMs + esp\grave{e}ces\ mol\acute{e}culaires$$

En augmentant progressivement la quantité *x* d'acide introduite, nous avons observé une augmentation nette de la taille des particules, passant de 1.5 à 21 nm (cf Figure 3a) [17-18]. Parallèlement, nous avons également remarqué une modification de la forme des particules. Sphériques pour des quantités d'acide < 1.4 équivalents par rapport aux atomes de fer (éq.) (Figure 3b), les particules deviennent des cubes au-delà (Figure 3c). Ces cubes sont organisés en aiguilles micrométriques, on peut supposer que cette organisation résulte de l'interaction magnétique entre particules mais aussi, comme nous le décrirons plus loin, de l'influence forte des ligands.

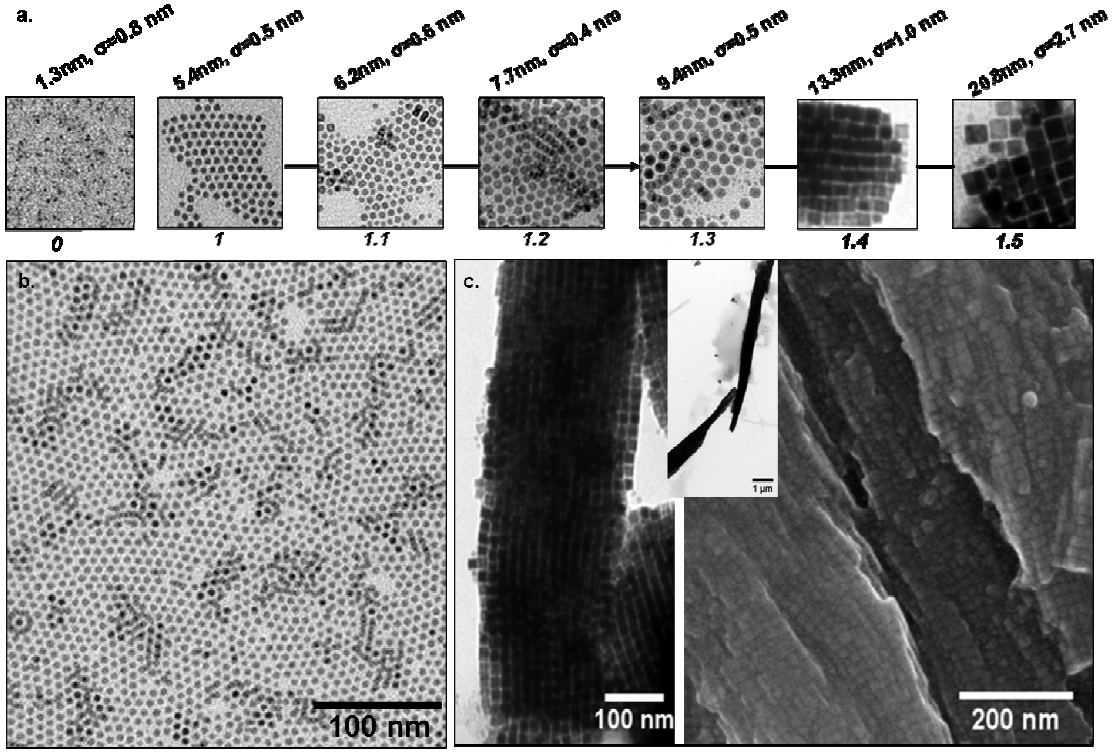

Figure 3 : Clichés de microscopie électronique de nanoparticules de fer. (a) Evolution de la taille en fonction de la quantité d'acide, modulée entre 0 et 1.5 équivalents. (b) Nanoparticules sphériques de 5.5 nm obtenues pour 1éq. d'acide, (c) nanocubes de 13.3nm. Les particules s'auto-organisent dans des fils micrométriques.

Pour comprendre cette tendance, nous avons réalisé une étude détaillée du mécanisme de croissance des particules, c'est-à-dire essayé de répondre aux questions concernant :

- la nature des espèces présentes dans notre réaction,

- leurs cinétiques de réaction/décomposition,

- leurs phases d'intervention, lors de la nucléation ou de la croissance.

La RMN ne pouvant être mise en œuvre pour l'étude de notre système réactionnel, qui comprend des espèces magnétiques, nous avons eu recours à la spectroscopie Mössbauer [19] (cf. encadré 2). Cette technique moins courante, permet de

sonder le degré d'oxydation et l'environnement électronique d'atomes de fer et, par extension, de caractériser la nature des espèces moléculaires présentes.

En étudiant plus précisément la réaction conduisant à des cubes (1.5 éq. d'acide), nous avons pu nous rendre compte de la complexité de cette synthèse. En effet, alors que nous ne partions que d'un seul précurseur de fer, pas moins de trois espèces différentes de fer, des intermédiaires dans la formation des NPMs de Fe(0), ont pu être détectées. Le précurseur, très instable, réagit dès l'ajout des tensio-actifs à température ambiante avant même la mise sous dihydrogène, pour former des espèces plus stables, de type carboxylate de fer, qui se décomposeront tout au long de la réaction. Nous voici donc face à plusieurs espèces moléculaires de fer(II) :

- certaines, stabilisées essentiellement par des amines, restent réactives. Elles contribuent majoritairement alors à la nucléation,

- d'autres, stabilisées par des acides, font office de « réservoir » ; elles se décomposent lentement et interviennent plutôt dans la seconde étape de la réaction, c'est à dire pour la croissance des particules.

Ceci explique pourquoi la taille moyenne des particules augmente lorsque nous augmentons la concentration d'acide : il y a alors plus d'espèces stables, de « réservoir », qui assure la croissance de germes, qui eux sont en nombre plus limité.

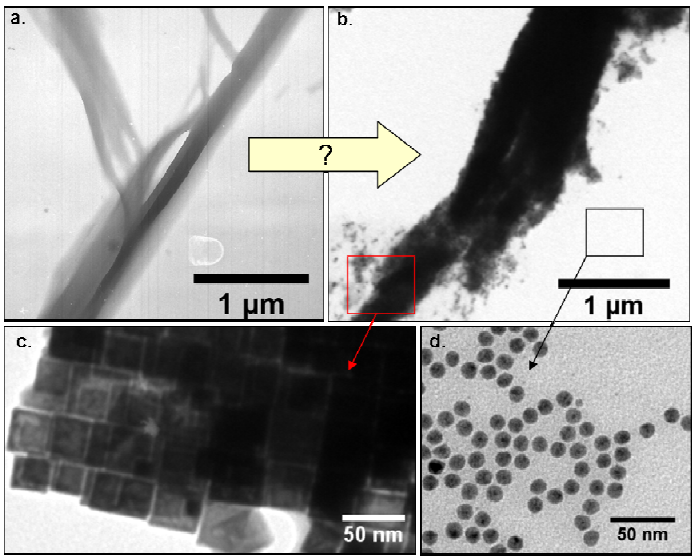

Figure 4 : Clichés de microscopie électronique (a) d'organisation obtenue avant mise sous H_2 et 150°C, (b) organisation de cube observée après 48h. Zoom des populations (c) de cubes et (d) de sphères observés respectivement dans ou en dehors des organisations.

Quant à la forme cubique des particules, nous avons pu observer une certaine similitude entre des objets micrométriques, déjà présents en solution avant la mise sous dihydrogène (cf. figure 4a), et les organisations de cube après 48h de réaction (cf. figure 4b). Chose étonnante, les cubes sont confinés dans ces organisations alors que des sphères sont présentes en périphérie. Grâce à un suivi par microscopie électronique de la morphologie des NPMs au cours de la réaction, nous avons pu observer une différence notable dans le mécanisme de croissance des particules en fonction de leur environnement (cf. figure 5). Les sphères grossissent de manière isotrope, c'est-à-dire dans les 3 directions, tout au long de la réaction. En revanche, les particules dans les organisations passent par des étapes de coalescence, puis de réparation pour au final aboutir à la forme stable en milieu confiné, à savoir le cube. Mais quelle est donc la nature de ces organisations initialement présentes ? Même si nous manquons encore de données pour étayer nos hypothèses, nous pensons que ces objets sont des organisations

lamellaires des tensio-actifs acide/amine dans lesquelles les atomes de Fe(II) jouent un rôle structurant. Ce type d'organisation est très analogue des organisations obtenues avec des catanioniques en milieu aqueux par M. Dubois et T. Zemb [20].

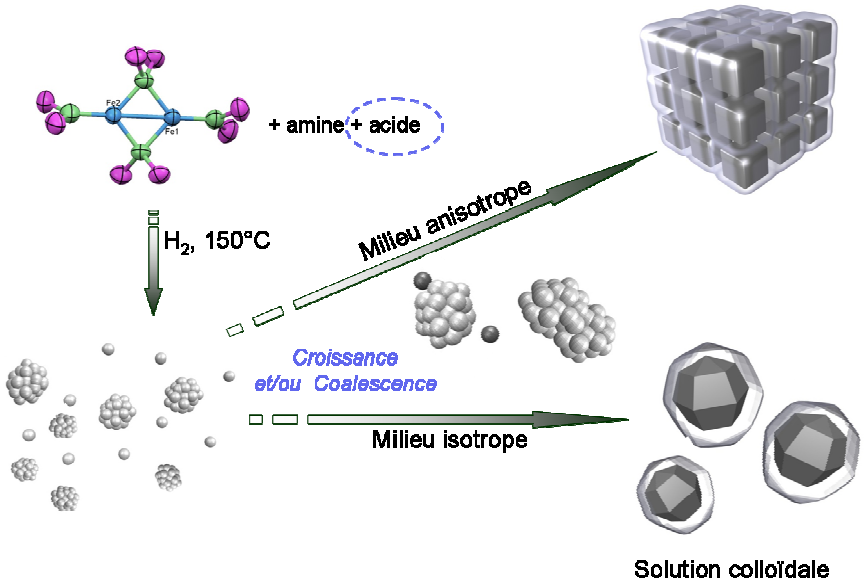

Figure 5 : Vue schématique du mécanisme de croissance des nanoparticules de fer. L'environnement de croissance, la présence ou non de mésophases lamellaires, permettant la synthèse de particules de forme sphérique (isotrope) ou de cubes (auto-organisés).

En jouant avec la concentration d'acide, nous pouvons favoriser ou non ces organisations, moduler également la « rigidité » de ces superstructures et donc la pression exercée par elles lors de la croissance en jouant sur la température de réaction ou sur la longueur des chaines R et R' utilisées [21]. Grâce à cette versatilité, nous avons pu obtenir une large gamme de taille pour les cubes (entre 7 et 90 nm), ainsi que des formes exotiques pour le fer comme des étoiles ou des cubes creux (cf. Figure 6).

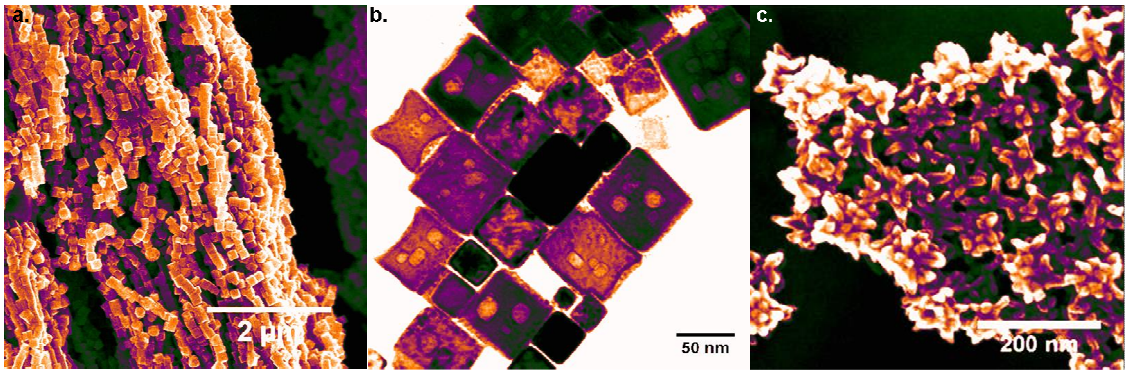

Figure 6 : Clichés de microscopie électronique (a) de cubes de 90 nm, (b) de cubes creux de 50 nm, (c) d'étoiles avec des branches de 30 nm.

**** Propriétés magnétiques et d'hyperthermie de ces nanoparticules :***

Toutes les particules synthétisées présentent une aimantation analogue à celle du fer massif [17-18, 22]. Le contrat initial fixé semble atteint, puisque nous avons obtenu des particules de fer sans oxyde détecté, de taille et de forme variable. Mais quelles sont leurs puissances de chauffe ? Ces particules sont-elles potentiellement intéressantes pour un traitement par hyperthermie ? Même si nous sommes encore loin d'une visée thérapeutique, il est crucial de déterminer les potentialités de ces objets. Nous avons donc mis en place au laboratoire un banc de mesure dédié, couplant un champ magnétique alternatif, à une fréquence entre 50 et 500 kHz, et de 10 à 50 mT d'amplitude et une mesure précise de température (cf. figure 7a) [23]. Les particules n'étant pour l'instant ni protégées de l'oxydation ni soluble dans l'eau, nous ne pouvons mesurer directement, à l'air ou dans l'eau, leur échauffement, sous peine de ruiner les efforts de synthèse consentis. Pour effectuer une mesure, les NPMs sont donc conditionnées dans une ampoule scellée sous atmosphère inerte (cf. figure 7b). Cette ampoule est ensuite immergée dans un calorimètre contenant de l'eau et nous mesurons l'élévation de température de cette eau, environnant l'ampoule [24].

Des particules de fer de 5.5 nm ont été mesurées [25]. Loin de l'optimum de taille, ces particules chauffent très peu, et ne sont donc pas intéressantes pour un traitement par hyperthermie. En revanche, des mesures réalisées par Boubkher Mehdaoui et Anca Meffre à la suite de cette thèse ont montré que des cubes de 16 nm, présentaient une puissance de chauffe jusqu'alors inégalée (cf. figure 7c-d) [26].

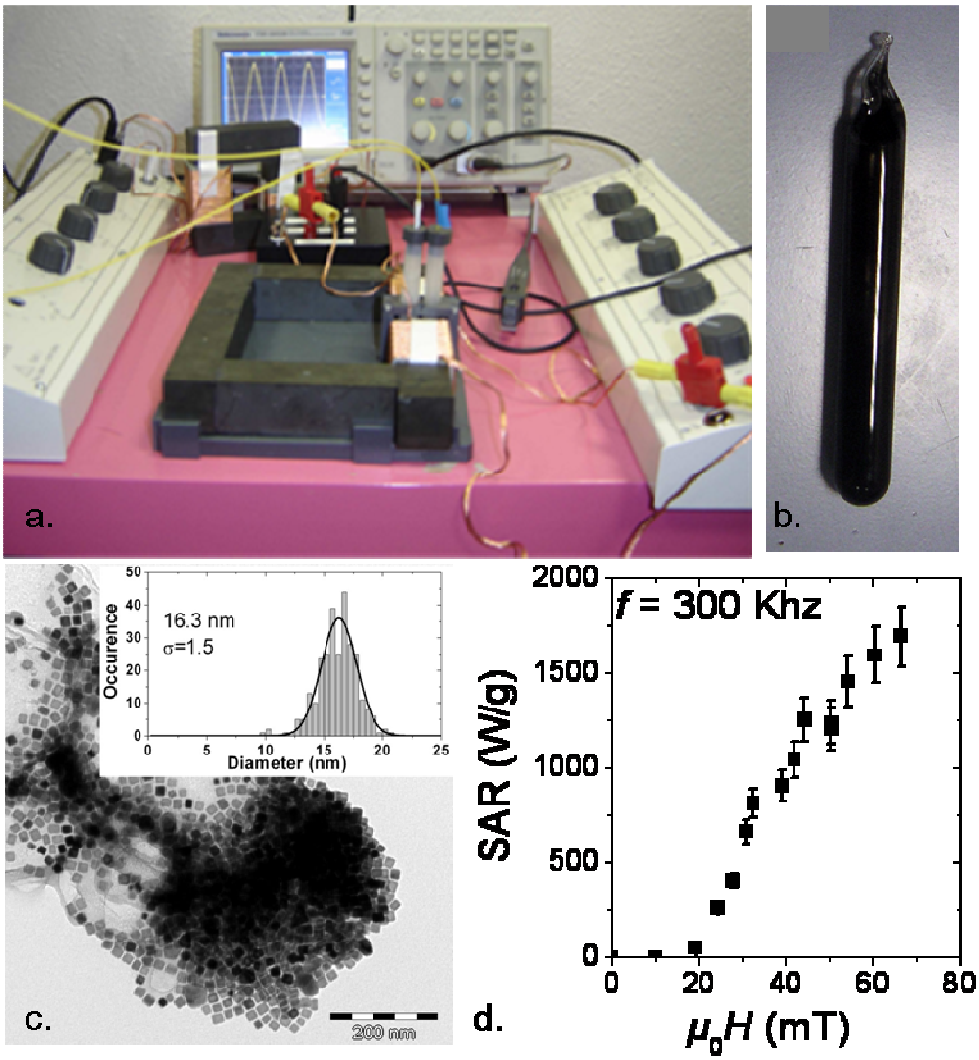

Figure 7 : (a) Banc de mesure d'hyperthermie ajustable en fréquence mis en place au laboratoire [21], (b) ampoule scellée contenant la solution de nanoparticules, (c) cliché TEM de cubes de fer de 16 nm et (d) leur efficacité (PAS) en fonction du champ magnétique appliqué.

Par conséquent, l'utilisation de particules métalliques de fer, de taille optimale, permet d'atteindre des puissances de chauffe très élevées (1700 W/g_{Fe}), qui devraient ainsi permettre de réduire la quantité de particules à injecter et/ou le traitement de tumeurs de plus petite taille. Néanmoins, plusieurs défis restent encore à relever pour envisager une utilisation thérapeutique de ces nanoparticules. En effet, des problématiques de protection contre l'oxydation de ces cœurs magnétiques, de biocompatibilité/biodisponibilité de ces objets et de vectorisation vers les cellules cancéreuses restent à résoudre. Parallèlement à cette thèse, une synthèse originale de silice en milieu organique a été développée au laboratoire [27] afin de pouvoir protéger les particules de fer par une couche biocompatible, sans induire d'oxydation du cœur optimisé [28]. Concernant le greffage et la vectorisation des particules, les membres de l'unité U563 de l'INSERM et de l'Institut Claudius Régaud ont débuté les premières études.

Conclusion :

Grâce à une étude couplant chimie, magnétisme, microscopie électronique et spectroscopie Mössbauer, nous avons pu mieux appréhender la croissance de nanoparticules de fer métallique par voie chimique. En jouant sur les paramètres, nous avons pu ainsi obtenir des échantillons dans une large gamme de taille et de forme. Les premiers résultats d'hyperthermie sont extrêmement encourageants, les particules obtenues présentant des puissances de chauffe inégalées. En revanche, un gros travail reste encore à fournir quant à l'optimisation de ces nanoparticules pour une application *in-vivo*, notamment vis-à-vis de leur protection contre l'oxydation et de leur passage en

phase aqueuse, condition *sine qua non* pour toute application en médecine. Les résultats prometteurs de cette thèse sont poursuivis (projet Nano-Oncologie), un enrobage par une couche de silice est à l'étude pour assurer à la fois une protection contre l'oxydation et augmenter la biocompatibilité des objets. Au terme de ces étapes, il sera encore nécessaire d'étudier les mécanismes d'élimination de ces objets par le corps. En effet il faut prévenir tout effet secondaire potentiellement toxique. Cette étude conditionnera les applications réelles de ces objets.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier A. Mari, L. Rechignat, J.-F. Meunier pour les mesures magnétiques, V. Collière pour les clichés MEB, A. Falqui pour les clichés HRTEM, C. Crouzet pour les questions d'électronique. Ces travaux ont été financés grâce à une bourse MNERT.

Références

1. P. Alivisatos, The use of nanocrystals in biological detection, *Nature Biotech.*, **2004**, *22(1)*, p. 47.
2. Y. Xia, Nanomaterial at work in biomedical research, *Nature Mater.*, **2008**, *7*, p. 758
3. W. Lin, T. Hyeon, G. M. Lanza, M. Zhang, T. J. Meade, Magnetic nanoparticles for early detection of cancer by magnetic resonance imaging, *MRS Bull.*, **2009**, *34*, p. 441
4. S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. V. Elst, R. N. Muller, Magnetic iron oxide nanoparticles : stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications, *Chem. Rev.*, **2008**, *108(6)*, p. 2064
5. J. D. G. Durán, J. L. Arias, V. Gallardo, A. V. Delgado, Magnetic colloids as drud vehicles, *J. Pharm. Sci*., **2008**, *97(8)*, p.2948
6. N. De, P. S. Gosh, V. M. Rotello, Applications of nanoparticles in biology, *Adv. Mater.*, **2008**, *20*, p. 4225
7. S. A. Corr, Y. P. Rakovich, Y. K. Gun'ko, Multifunctional magnetic-fluorescent nanocomposites for biomedical applications, *Nanoscale Res. Lett.*, **2008**, *3*, p. 87

8. T. Osaka, T. Matsunaga, T. Nakanishi, A. Arakaki, D. Niwa, H. Iida, Synthesis of magnetic nanoparticles and their application to bioassays, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2006**, *384*, p. 593
9. S. Mornet, S. Vasseaur, F. Grasset, E. Duguet, Magnetic nanoparticle design for medical diagnosis and therapy, *J. Mat. Chem.*, **2004**, *14*, p. 2161
10. O. S. Nielsen, M. Horsman, J. Overgaard, J., A future for hyperthermia in cancer treatment?, *Eur. J. Cancer*, **2001**, *37*, 1587 - 1589
11. B. Thiesen, A. Jordan, Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia, *Int. J. Hyperthermia*, **2008**, *24 (6)*, p. 467
12. J. Carrey, B. Mehdaoui, M. Respaud, Simple models for dynamic hysteresis loops calculation: Application to hyperthermia optimization, *J. Appl. Phys., sous presse*
13. R. Hergt, S. Dutz, Magnetic particle hyperthermia – biophysical limitations of a visionary tumour therapy, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2007**, *311*, p. 187
14. A. K. Gupta, M. Gupta, Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications, *Biomater.*, **2005**, *26*, p. 3995
15. S. Peng, C. Wang, J. Xie, S. Sun, Synthesis and Stabilization of Monodisperse Fe Nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, p. 10676
16. F. Dumestre, B. Chaudret, C. Amiens, P. Renaud, P. Fejes, Superlattices of Iron Nanocubes Synthesized from Fe[N(SiMe3)2]2, *Science*, **2004**, *303*, p. 821
17. L.-M. Lacroix, S. Lachaize, A. Falqui, T. Blon, J. Carrey, M. Respaud, F. Dumestre, C. Amiens, O. Margeat, B. Chaudret, P. Lecante, E. Snoeck, Ultrasmall iron nanoparticles: Effect of size reduction on anisotropy and magnetization, *J. Appl. Phys.*, **2008**, *103*, p. 07D521
18. L.-M. Lacroix, S. Lachaize, A. Falqui, M. Respaud, B. Chaudret, Iron Nanoparticle Growth in Organic Superstructures, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 549
19. C. Janot, Effet Mössbauer et applications à la physique du solide, *Pure & Appl. Chem.*, **1976**, *48*, p. 53
20. M. Dubois, V. Lizunov, A. Mesiter, T. Gulik-Krzywicki, J. M. Verbavatz, E. Perez, J. Zimmerberg, T. Zemb, Shape control through molecular segregation in giant surfactant aggregates, *PNAS.*, **2004**, *101*, p. 15082
21. L.-M. Lacroix, S. Lachaize, M. Respaud, B. Chaudret, en préparation.
22. E. Snoeck, C. Gatel, L.-M. Lacroix, T. Blon, S. Lachaize, J. Carrey, M. Respaud, B. Chaudret, Magnetic configurations of 30 nm iron nanocubes studied by electron holography, *Nano. Lett.*, **2008**, *8*, p. 4293
23. L.-M. Lacroix, J. Carrey, M. Respaud, A frequency-adjustable electromagnet for hyperthermia measurements on magnetic nanoparticles, *Rev. Sci. Instrum.*, **2008**, *79*, p. 093909
24. L.-M. Lacroix, R. Bel Malaki, J. Carrey, S. Lachaize, G. F. Goya, B. Chaudret, M. Respaud, Magnetic hyperthermia in single-domain monodisperse FeCo nanoparticles : Evidence for Stoner-Wohlfarth behaviour and large losses, *J. Appl. Phys.*, **2009**, *105*, p. 023911
25. B. Mehdaoui, A. Meffre, L.-M. Lacroix, J. Carrey, S. Lachaize, M. Respaud, M. Gougeon, B. Chaudret, Magnetic anisotropy determination and magnetic hyperthermia properties of small Fe nanoparticles in the superparamagnetic regime, *J. Appl. Phys.*, **2010**, *107*, 09A324

26. B. Mehdaoui, A. Meffre, L.-M. Lacroix, J. Carrey, S. Lachaize, M. Respaud, M. Gougeon, B. Chaudret, Large specific absorption rates in the magnetic hyperthermia properties of metallic iron nanocubes, *J. Magn. Magn. Mater.*, **2010**, *322,* L49
27. N. El Hawi, C. Nayral, F. Delpech, Y. Coppel, A. Castel, B. Chaudret, Silica nanoparticles grown and stabilised in organic non-alcoholic media, *Langmuir*,**2009**, *25*, p.7540
28. N. El Hawi, C. Nayral, F. Delpech, Brevet FR07/0817; PCT/FR 2008/052076

Encadré 1 : L'hyperthermie magnétique.

Afin de comprendre le phénomène d'hyperthermie, il est important d'avoir une idée générale sur le magnétisme et plus particulièrement le magnétisme dans des objets de taille nanométrique. Certains matériaux (ex : Fe, Ni, Co), possèdent une aimantation, c'est-à-dire que les moments magnétiques portés par les atomes sont couplés entre eux parallèlement. La configuration de ces moments résulte de la compétition entre trois énergies : i) l'échange entre les moments magnétiques atomiques et ii) l'anisotropie qui tendent à aligner les moments suivant une direction définie relative au réseau cristallin ou à la géométrie de l'objet et iii) l'interaction dipolaire qui tend à fermer le flux et donc à faire tourner les moments. Pour des objets macroscopiques, on observe une configuration en domaines dans lesquels les moments sont alignés (cf Figure A1). Plus la taille diminue, plus il est couteux d'avoir de tels domaines ; en dessous d'une certaine taille critique (d<28nm pour le fer) tous les moments s'alignent: on parle de configuration monodomaine.

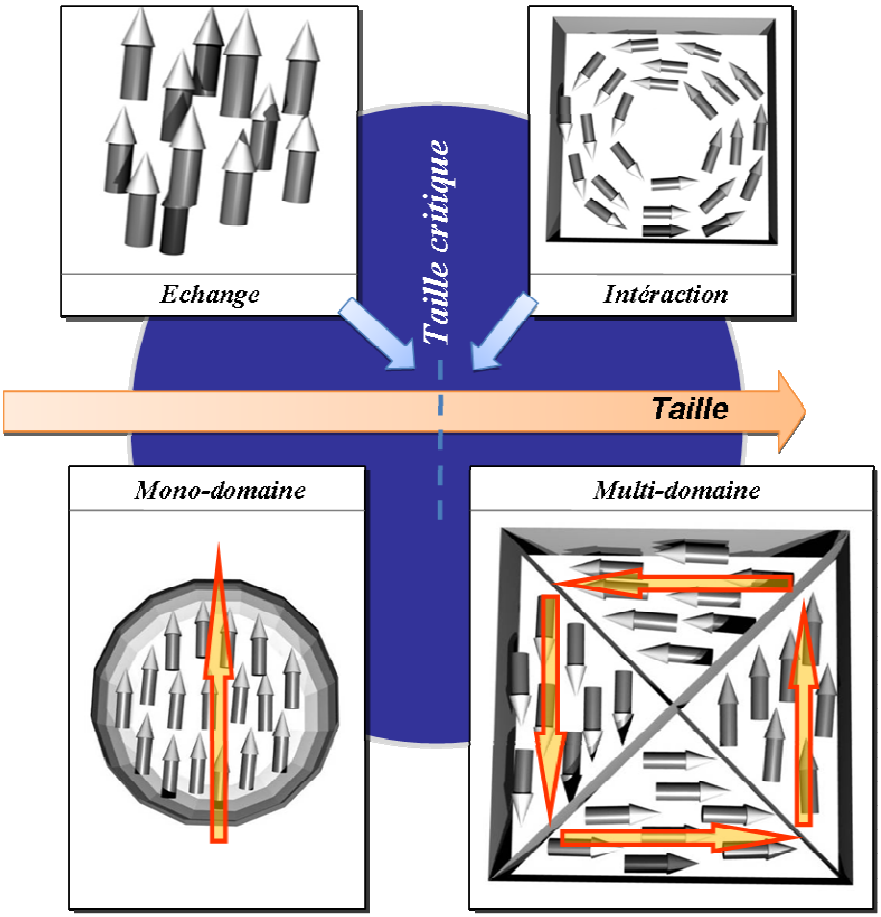

Figure A1. Schéma représentatif des énergies en compétition et des différentes configurations magnétiques observées en fonction de la taille de l'objet.

Pour une nanoparticule monodomaine, les moments étant tous colinéaires, nous pouvons assimiler l'aimantation de la particule à un moment géant (macro-spin). Si l'objet possède une anisotropie uniaxiale (résultat de leur forme ou de leur structure cristalline), ce moment possède deux configurations stables : parallèles et antiparallèles à la direction définie par l'anisotropie (appelé axe de facile aimantation). Ces deux états sont séparés par une barrière énergétique KV produit de l'anisotropie magnétique K par le volume de la particule V.. Le moment magnétique oscille spontanément entre ces deux configurations avec un temps caractéristique τ_N, (temps de relaxation de Néel) : $\tau_N = \tau_0 \exp\left(\frac{KV}{k_B T}\right)$ avec τ_0 le temps de relaxation critique (~10^{-9}s), k_B la constante de Boltzmann et T la température. Si ce temps est grand par rapport à notre temps de mesure, le moment a peu de probabilité de se retourner : on parle de moment « bloqué » et de ferromagnétisme (cf Figure A2a). Si en revanche ce temps est court, le moment de la particule oscillera au cours de la mesure : on parle alors de superparamagnétisme (cf Figure A2b). La distinction entre ces deux états est importante pour l'hyperthermie car l'aire A du cycle d'hystérésis, correspondant au retournement du moment, sous champ, du moment, dépend fortement de l'état. Or l'efficacité des particules, quantifiée par le PAS, est directement reliée à cette aire : $PAS = A \times f$. Là où une particule superparamagnétique aura une hystérésis faible, une particule ferromagnétique présentera elle une aire d'hystérésis plus large, donc plus avantageuse (cf Figure A3).

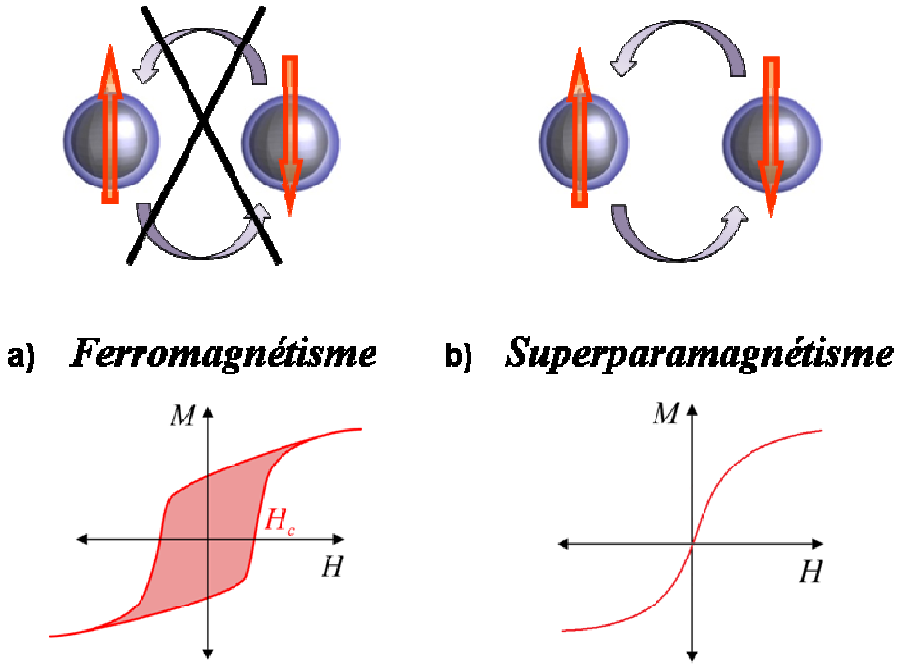

Figure A2. Vues schématiques du comportement a) ferromagnétique ou b) superparamagnétique ou le moment est respectivement bloqué ou oscillant. Le comportement sous champ évolue ainsi d'un cycle d'hystérésis ouvert à une fonction réversible.

La transition entre ferromagnétisme et superparamagnétisme n'est pas abrupte mais plutôt progressive : le cycle d'hystérésis se ferme progressivement lorsque la barrière *KV* se réduit, ou bien en augmentant la température *T*, ou encore pour une fréquence de mesure plus basse (cf Figure A3). A ces paramètres contrôlant l'état magnétique, s'ajoutent également d'autres paramètres tels que l'amplitude du champ magnétique *H* ou l'aimantation du matériau M_S. Par conséquent, même s'il est très difficile de prévoir ces cycles et leurs aires - seules les deux configurations extrêmes (ferromagnétisme / superparamagnétisme) sont modélisées théoriquement -, nous pouvons essayer de les maximiser. Pour cela il faut optimiser :

i) le matériau utilisé : un fort moment (aimantation) conduit à un cycle plus large.

ii) la taille des particules : suffisamment grosses pour être ferromagnétiques, leurs moments doivent néanmoins pouvoir osciller sous l'effet du champ faible utilisé en hyperthermie (10 mT). Par conséquent, il faut un compromis, qui, pour le fer, se situe autour de 13-15 nm.

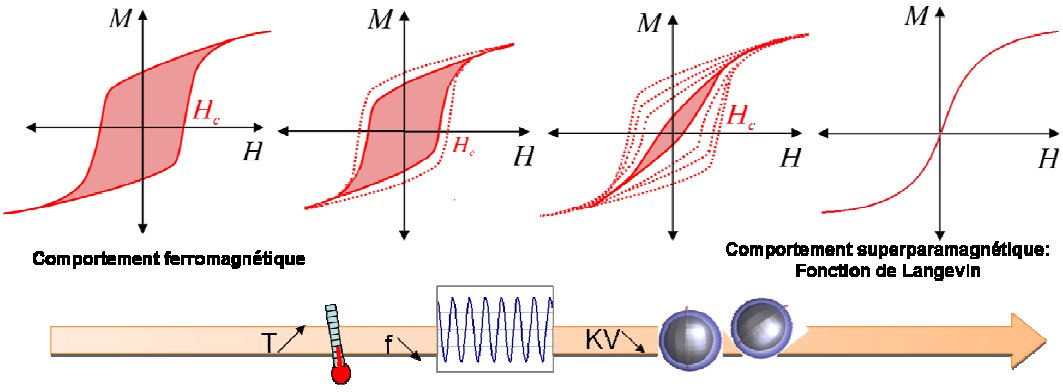

Figure A3. Evolution progressive du comportement ferromagnétique vers un comportement superparamagnétique. Cette évolution est dirigée par la température T, la fréquence du champ magnétique f et la barrière énergétique de la particule KV.

Encadré 2 : La spectroscopie Mössbauer

La spectroscopie Mössbauer est une technique « classique » de spectroscopie, qui permet d'étudier l'absorption, par un échantillon, d'un faisceau de radiations dont on fait varier la longueur d'onde. Comme pour les techniques de spectroscopie UV ou Infrarouge, les pics d'absorption observés correspondent à des énergies de transition de l'échantillon, cette « empreinte » permettant de remonter à la nature de l'échantillon. La particularité de cette technique réside dans le type des photons employés : les rayons γ utilisés ont une énergie de ~10 keV (soit 10^3 et 10^6 fois supérieure à l'énergie des photons UV et IR). Grâce à une telle énergie, il est possible de sonder les transitions nucléaires d'un matériau, plus énergétiques que les transitions électroniques.

Les éléments qui composent un montage de spectroscopie Mössbauer sont donc (cf. figure B1):

- une source de rayons γ, souvent à base de Co^{57}, que l'on déplace par rapport à l'échantillon pour faire varier l'énergie par effet Doppler.
- un échantillon à étudier contenant des atomes absorbants (atome Fe pour une source Co).
- un détecteur pour enregistrer le spectre.

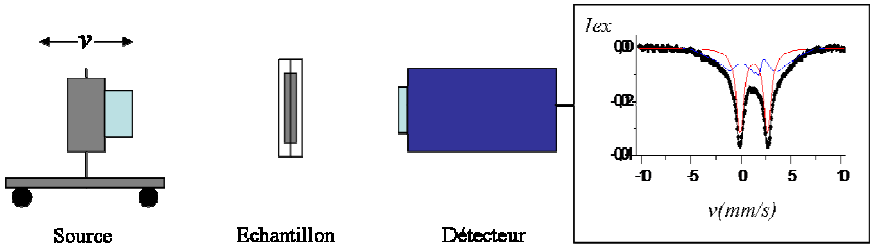

Figure B1 : Schéma de principe d'un spectromètre Mössbauer.

Le spectre obtenu permet de tirer des informations quantitatives sur l'environnement d'un atome. Alors qu'isolé, l'atome présente un seul état nucléaire non perturbé, dans un réseau cristallin ou dans une espèce moléculaire, l'atome absorbant est soumis à un environnement électrique et magnétique, ce qui conduit a une levée de dégénérescence. Ainsi d'un pic unique -pour des atomes dans un environnement semblable à celui des noyaux de la source–, le spectre passe à un doublet pour un environnement électrique anisotrope voire à un sextuplet si l'échantillon est magnétique (cf Figure B2). Les paramètres quantitatifs à partir desquels nous pouvons baser l'interprétation sont :

- le <u>déplacement isométrique δ</u> (en mm/s), qui correspond à une variation d'énergie de transition i.e. à la différence entre l'origine et la position du spectre observé. δ renseigne sur la nature des liaisons et le degré d'oxydation de l'atome.

- <u>l'effet quadrupolaire Q</u>, qui renseigne sur la symétrie électrique du noyau, c'est-à-dire sur la présence d'un gradient de champ électrique autour de l'atome, il est mesurée par l'éclatement du doublet.

- le <u>champ hyperfin H_{hyp}</u>, qui correspond au champ magnétique interne dans l'échantillon, il est directement mesuré par l'éclatement du sextuplet.

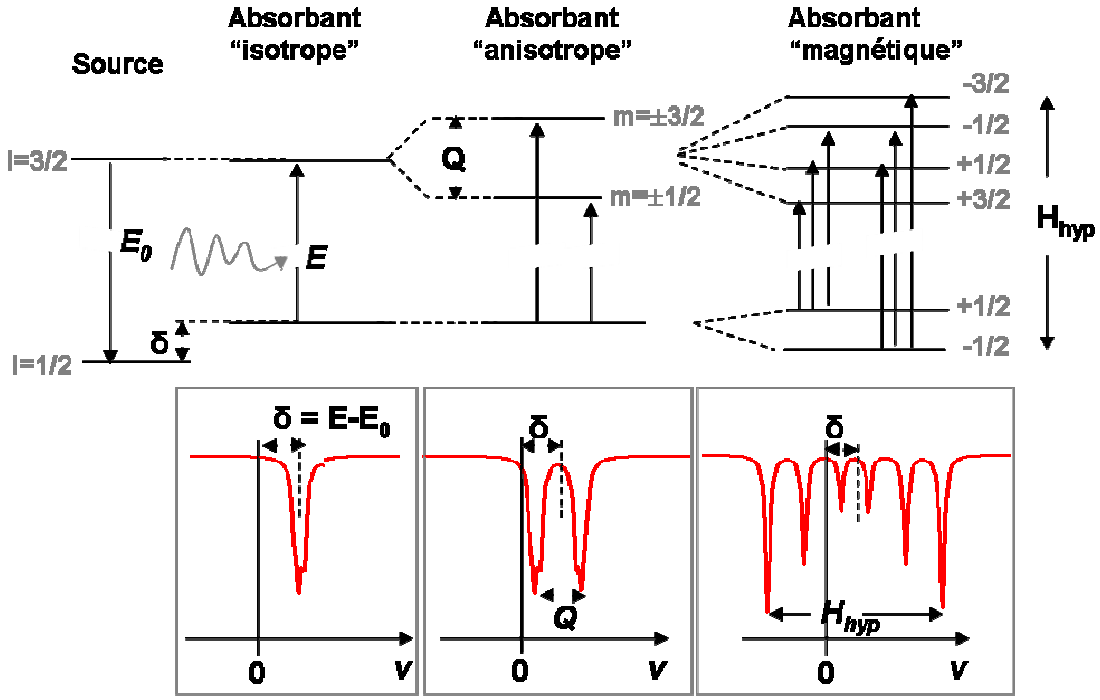

Figure B2: Evolution des spectres Mössbauer en fonction de l'environnement électrique et magnétique de l'atome sondé. δ déplacement isomérique, Q effet quadripolaire, H_{hyp} champ hyperfin, E_0 et E énergies de transition respectivement de la source et de l'absorbant.

De par sa forte sensibilité, cette technique est tout à fait appropriée pour déterminer le degré d'oxydation d'atomes de fer. C'est d'ailleurs une de ses principales utilisations. Il est également possible de suivre l'évolution de diverses espèces moléculaires au cours d'une réaction (cf Figure B3a). Chaque spectre peut être décomposé en plusieurs contributions (des doublets ou des sextuplets, cf Figure B3b) qui sont autant d'environnement de fer différents, et donc d'espèces. L'évolution du pourcentage de ces contributions permet de suivre leur cinétique de décomposition / formation (cf Figure B3c). Bien entendu l'interprétation de la nature de ces espèces est basée sur les paramètres δ, Q et H_{hyp}. Les valeurs attendues de ces paramètres en fonction du degré d'oxydation de l'atome de Fe sont récapitulées dans le tableau B1.

	δ (mm/s)	Q (mm/s)	$\mu_0 H_{hyp}$ (T)
Fe (0)	0	0	33-34
Fe (II)	0.6-1.4		
Fe (III)	0.1-0.5		

Tableau B1 : Valeurs classiques attendues des paramètres dans le cas du fer métallique, Fe^{2+} et Fe^{3+}.

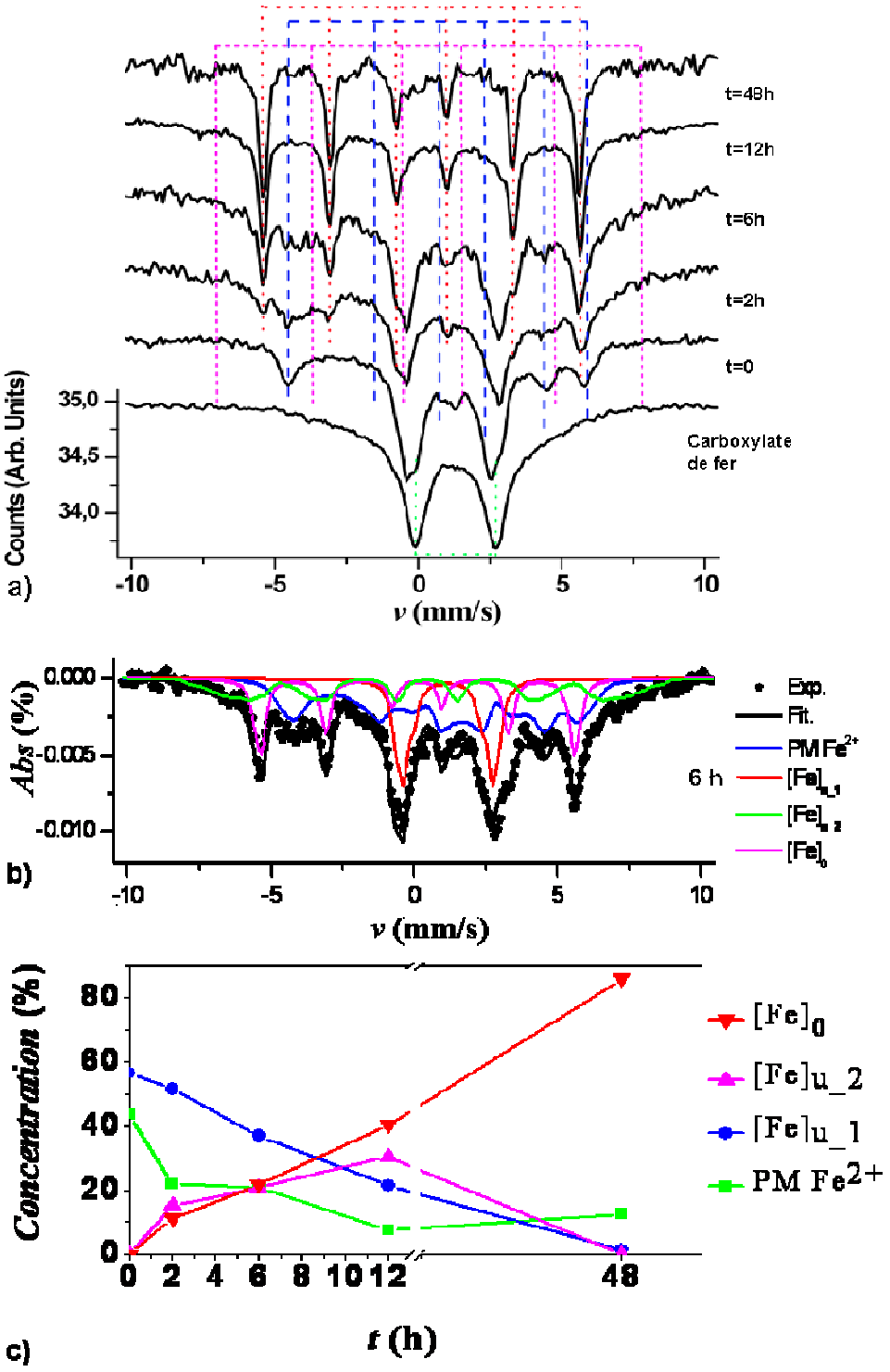

*Figure B3 : Exemple d'une étude cinétqiue réalisée lors de la formation de NPMs de fer. a) Evolution des spectres Mössbauer en fonction du temps de réaction. b) Chaque spectre est décomposé en de multiples sextuplets et doublets, provenant d'espèces paramagnétiques de fer (PM Fe^{2+}), de fer métallique ([Fe]0) ou de complexes de fer encore non identifiés ([Fe]u_1 et [Fe]u_2). c) L'évolution au cours du temps des différentes espèces peut donc être quantifiée._