



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2023 00169

(22) Data de depozit: 05/04/2023

(41) Data publicării cererii:  
29/12/2023 BOPI nr. 12/2023

(71) Solicitant:  
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE  
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU  
FIZICA MATERIALELOR-INCDFM  
BUCUREȘTI, STR. ATOMIȘTILOR  
NR.405A, MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:  
• KUNCSEI ANDREI CRISTIAN,  
STR.MĂRGEANULUI, NR.50, BL.M125,  
AP.30, SECTOR 5, BUCUREȘTI, B, RO

(54) PROCEDEU DE ESTIMARE A CONSTANTEI DE  
ANIZOTROPIE ȘI TIMPULUI DE RELAXARE ÎN SISTEME  
DE NANOPARTICULE MAGNETICE CU RELEVANȚĂ  
ÎN TERAPIILE CANCERULUI

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de estimare a constantei de anizotropie și a timpului de relaxare în sisteme de nanoparticule magnetice, cu relevanță în terapiile cancerului. Procedeu conform invenției cuprinde:

- realizarea de simulări micromagnetice folosind un software OOMMF (Object Oriented Micromagnetic Framework) pentru un set de nanoparticule magnetice la cel puțin două temperaturi,
- obținerea automată a timpului de salt superparamagnetic în relație cu temperatura și direcția axei de anizotropie pentru fiecare set de nanoparticule magnetice,
- obținerea automată a unor curbe de tip Arrhenius pentru fiecare set de nanoparticule magnetice,
- extragerea automatizată a timpului de relaxare și constantei de anizotropie pentru fiecare set de nanoparticule magnetice,
- generarea automată a unor fișiere ce conțin valorile constantelor de relaxare superparamagnetică și a energiilor de anizotropie uniaxială pentru întreg sistemul de nanoparticule magnetice, și

- prezentarea automată a datelor din fișiere sub forma unor histograme și extragerea de date statistice.

Revendicări: 2  
Figuri: 3

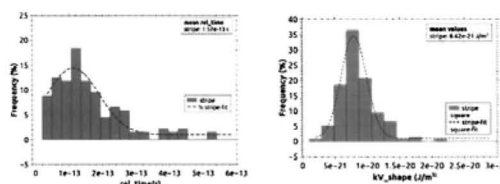


Fig. 2

Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



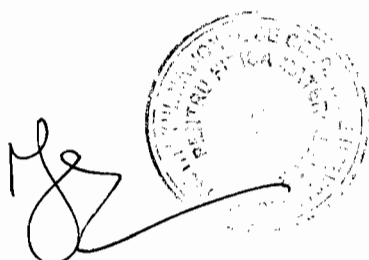
**Descrierea invenției**

OFICIUL DE STAT PENTRU BREVETE SI MARCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr. ....	a 2023 169
Data depozit .....	05-04-2023

Invenția se referă la o nouă metodologie de estimare a timpului de relaxare în sisteme de nanoparticule magnetice cu relevanță în terapiile cancerului pe baza de hipertermie magnetică. Acestea sunt terapii suport ale tratamentelor consacrate împotriva cancerului și implică încălzirea bine localizată a țesutului tumoral până la o temperatură de cca 45 de grade, suficientă pentru a favoriza degradarea celulară. În cazul hipertermiei magnetice încălzirea se face prin aplicarea unui câmp magnetic oscilant de radio-frecvență asupra unor nanoparticule magnetice (MNP) atașate de țesutul tumoral (Biomater. Sci., 2022, 10, 2103-2121, doi: 10.1039/D1BM01963E). Atât mecanismele fizice care determină creșterea de temperatură cât și eficiența de încălzire a țesutului prin această abordare sunt puternic legate de 2 parametri ai MNP: timpul de relaxare superparamagnetică și energia de anizotropie (Beilstein J Nanotechnol. 2019; 10: 1280-1289, doi: 10.3762/bjnano.10.127). Este de menționat că acești 2 parametri sunt sensibili la modul în care MNP magnetice se organizează pe țesutul tumoral.

Parametri mai sus menționați sunt în general evaluați prin tehnici magnetometrice precum Vibrating Sample Magnetometry (VSM) (Phys. Rev. Materials, 2021, 5, 054411, doi: 10.1103/PhysRevMaterials.5.054411), în general corelate cu tehnici spectroscopice tip Mossbauer (J Magn and Magn Mat, 2022, 539, 168382, doi: 10.1016/j.jmmm.2021.168382). În multe situații, interpretarea cât mai sigură a rezultatelor obținute prin aceste tehnici necesită informații preliminare legate de morfologia și structura sistemelor investigate. Aceste informații sunt obținute în general prin Difractie de Raze X (XRD) și/sau Microscopie Electronică prin Transmitivitate (TEM). Acest tip de abordare experimentală corelată prezintă următoarele dezavantaje:

- i) dificultatea accesului la infrastructura experimentală: datorită complexității sistemelor experimentale, a expertizei necesare pentru utilizarea lor precum și a costurilor mari de achiziție (de ordinul milioane de eur) aceste tipuri de măsurători se realizează în laboratoarele de magnetism din cadrul unor instituții de cercetare
- ii) costurile mari: efectuarea de experimente corelate VSM, Mossbauer și TEM implică niște costuri ridicate legate de manopere și consumabile.
- iii) înaltă calificare: datorită necesității unei abordări corelate de tip morfologie-structura-magnetism este necesară o expertiză vastă atât teoretică și experimentală, atât în domeniul magnetismului cât și al analizelor morfologice și structurale.
- iv) timp îndelungat de măsură și analiză. În funcție de complexitatea sistemelor investigate, timpul de măsură și analiză de date poate varia de la ordinul zilelor la ordinul săptămânilor.



În raport cu problematica MNP în aplicații de hipertermie, în special în cazul în care se dorește considerarea efectelor de organizare geometrică, apare și dificultatea experimentală de a controla și a menține organizarea MNP pe durata experimentelor.

Metodologia revendicată face posibilă evaluarea timpilor de relaxare și a energiilor de anizotropie în cazul unor sisteme de MNP cu organizare geometrică bine stabilită, prin realizarea de simulări micromagnetice și folosirea pachetului software Rel\_Times (de asemenea revendicat) pentru analiza datelor generate prin simulări. După cunoștința autorilor, nu există abordări similare în această problematică.

Invenția prezintă următoarele avantaje, în raport cu dezavantajele descrise mai sus:

- i) Accesul la infrastructura experimentală este facilitat. Fiind o metodologie computațională, este necesară cunoașterea unor parametri de input. În multe situații, acești parametri pot fi estimați din date morfo-structurale a priori. Necesitatea utilizării tehnicilor TEM, VSM și Mossbauer poate fi astfel eliminată sau mult optimizată.
- ii) Costurile sunt mult optimizate. Eliminarea sau optimizarea utilizării tehnicilor TEM, VSM și/sau Mossbauer se reflectă direct în costurile finale.
- iii) Utilizarea este mai ușoară. Expertiza necesară pentru obținerea de informații utile folosind metodologia revendicată este comparativ ușor de obținut.
- iv) Rezultate obținute mai rapid. Obținerea rezultatelor este legată în special de viteza infrastructurii de calcul. Folosind metodologia revendicată, rezultatele pot fi obținute în mai puțin de 24h.

După cunoștința autorilor, nu există metodologii similare de obținere a distribuțiilor statistice ale timpilor de relaxare și energiilor de anizotropie.

În continuare sunt descrise etapele metodologiei revendicate:

i) realizarea de simulări micromagnetice folosind programul OOMMF. În acest scop se definesc pozițiile MNP în cadrul unui mesh cu celule pătrate. MNP sunt implementate în simulare prin poziția și valoarea momentului magnetic, valoarea și direcția axei de anizotropie uniaxială. Se urmărește dinamica momentelor astfel implementate pe un interval de timp bine stabilit și la o temperatură bine stabilită. Simularile se realizează pentru cel puțin 2 temperaturi.

Programul de simulare generează fișiere care conțin 6 coloane: primele 3 coloane conțin coordonatele spațiale ale momentelor magnetice în cadrul meshului definit iar celelalte 3 definesc componentele momentelor magnetice în sistemul de coordonate al simulării. Se obțin seturi de fișiere pentru o serie de temperaturi. Fișierele se organizează după temperaturi, în foldere care au ca nume valoarea temperaturii.

ii) obținerea automatizată a timpului de salt superparamagnetic în relație cu temperatura și cu direcția axei de anizotropie pentru fiecare nanoparticulă. Se analizează fișierele din fiecare folder. Se

realizeaza rotatia componentelor magnetizarii de-a lungul directiei de anizotropie. Se număra câte oscilatii efectueaza momentul magnetic în timpul definit în simulare. Se calculează frecventa de salt prin raportarea numarului de oscilatii la timpul total de simulare. Timpul de salt se defineste ca inversul frecventei de salt.

iii) obtinerea automatizata de curbe tip Arrhenius pentru fiecare nanoparticula. Folosind informațiile obtinute la pas iii) se genereaza perechi de forma (logaritmul timpului de salt, inversul temperaturii)

iv) extragerea automatizata a timpului de relaxare și a energiei de anizotropie pentru fiecare MNP. Acest pas implica fitarea liniara a curbelor Arrhenius obtinute anterior. Panta dreptei de fitare reprezintă densitatea de energie de anizotropie raportata la energia de agitatie termica iar intersectia cu ordonata reprezintă logaritmul timpului de relaxare.

v) generarea automatizata a unor fisiere ce contin valorile constantelor de relaxare superparamagnetica si energiilor de anizotropie uniaxiala pentru intreg sistemul de nanoparticule. Datele obtinute pe fiecare MNP sunt salvate în fisiere pentru manipularea în programe terte.

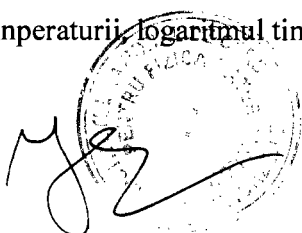
vi) prezentarea automatizata datelor din fisiere sub forma de histograme și extragerea de date statistice. La fiecare analiza a unei noi MNP sunt actualizate datele statistice legate de anizotropie și timp de relaxare pe întreg sistemul.

Programul revendicat implica o serie de algoritmi a caror descriere este organizata conform cu Revendicările:

i) extragerea automata a timpilor de oscilatie superparamagnetica pentru o nanoparticula data din setul de date generate de OOMMF luand in considerare directia axei de anizotropie.

Setul de algoritmi folosește ca date de intrare calea spre folderul de analizat precum și o lista cu directiile de anizotropie, generate în mod aleator. Pentru fiecare MNP în parte sunt citite pozițiile corespunzatoare din toate fisierele continute în folderule de temperatura. Se obțin astfel evolutiile în timp/oscilatiile ale componentelor momentului magnetic la o temperatura data, într-un anumit interval de timp (timpul de simulare) pentru o anumita MNP, în sistemul de coordonate propriu. Se realizeaza o rotire a sistemului de coordonate astfel încât axa Ox a sistemului de coordonate nou să fie de-a lungul axei de anizotropie al MNP investigate. Noile oscilatii ale magnetizarii sunt analizate și acele oscilatii considerate salturi superparamagnetice sunt numarate (sunt considerate salturi superparamagnetice numai acele oscilatii a caror componenta de-a lungul axei de anizotropie ating o fractie stabilită euristic din valoarea totala a momentului magnetic). In final, setul de algoritmi descrisi genereaza pereche (timp de salt, temperatura), pentru o MNP data

ii) organizarea timpilor de salt si a temperaturilor in curbe de tip Arhenius. Setul de date de tipul (timp de salt, temperatura) pentru fiecare nanoparticule este convertit în set de date de tipul (inversul temperaturii, logaritmul timpului de salt).

A handwritten signature in black ink is written over a circular official stamp. The stamp contains text in Romanian, including "ROMANIA" at the top and "CENTRUL DE RESEARCH" at the bottom, with some illegible text in the center.

iii) extragerea constantei de relaxare superparamagnetica și a densității de energie de anizotropie prin fitarea automată a curbelor tip Arrhenius. Având date pentru cel puțin 2 temperaturi, se realizează fitarea liniară a seturilor de date. Panta dreptei de fitare reprezintă densitatea de energie de anizotropie raportată la energia de agitație termică iar intersecția cu ordonata reprezintă logaritmul timpului de relaxare. Rezultatul final al acestui set de algoritmi este obținerea valorii timpului de relaxare și a energiei de anizotropie pentru o MNP individuală.

iv) prezentarea rezultatelor sub forma de histogramme și afișarea de valori statistice. Etapele descrise mai sus sunt repetate pentru fiecare MNP din sistem. La fiecare etapă sunt afișate date statistice (medie, eroare partitivă medie) pentru timpul de relaxare și energia de anizotropie. De asemenea, la fiecare etapă este prezentată histograma timpilor de relaxare.

Se dau în continuare două exemple de realizare a invenției, în legătură și cu Fig1, Fig2 și Fig3.

#### **Exemplul 1.** Aplicarea invenției pe o singură MNP

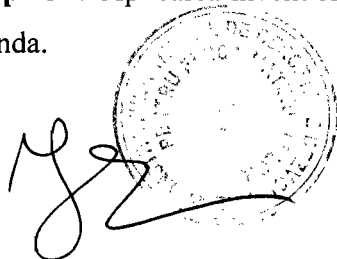
Acest exemplu are ca scop o primă verificare a validității programului. În acest scop au fost realizate simulări micromagnetice pe un sistem de 1 MNP folosind programul OOMMF. Spațiul de simulare cu dimensiuni totale  $L_x \times L_y \times L_z = 30 \text{ nm} \times 30 \text{ nm} \times 30 \text{ nm}$  a fost discretizat într-un mesh cu celule patrulate de dimensiune  $l_x \times l_y \times l_z = 10 \text{ nm} \times 10 \text{ nm} \times 10 \text{ nm}$ . În centrul acestui spațiu a fost considerată o MNP implementată ca și un moment magnetic de mărime  $m_{\text{MNP}} = 4 \cdot 10^{-19}$ . A fost considerată o anizotropie uniaxială de mărime  $1e4 \text{ J/m}^3$  orientată de-a lungul axei  $O_x$ .

Dinamica momentelor magnetice în configurația geometrică prezentată mai sus a fost urmărită la temperatura de 250, 300K, 350K și 400K timp de 200 ns.

Este de așteptat ca prin analiza cu programul Tel\_Times (Fig1) să se obțină o energie de anizotropie KV cât mai apropiată de valoarea de input  $= 1e-20 \text{ J}$ . S-a obținut  $KV = 0.975e-20 \text{ J}$  folosind pentru numărarea salturilor un prag de  $55\% \cdot m_{\text{MNP}}$  pentru componenta  $O_x$  a magnetizării. În cazul folosirii unui prag de  $30\% \cdot m_{\text{MNP}}$  s-a obținut  $KV = 1.02e-20 \text{ J}$ . În concluzie, pentru acest sistem particular simplificat, metodologia propusă a generat un rezultat cu o abatere mai mică de 3% față de rezultatul așteptat.

Evaluarea cât mai robustă a pragului de numărare a salturilor se face pe baza observării evoluției numărului de salturi la o baleiere  $1\% - 99\% \cdot m_{\text{MNP}}$  a acestuia.

**Exemplul 2.** Aplicarea invenției pentru un sistem de NP magnetice aranjate într-o configurație 2D tip banda.



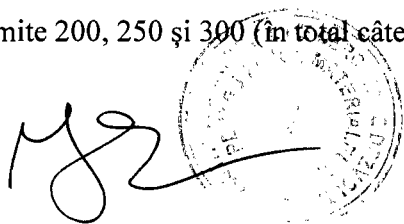
În acest scop au fost realizate simulări micromagnetice pe un sistem de MNP folosind programul OOMMF. Spațiul de simulare cu dimensiuni totale  $L_x \times L_y \times L_z = 600 \text{ nm} \times 200 \text{ nm} \times 10 \text{ nm}$  a fost discretizat într-un mesh cu celule patrulate de dimensiune  $l_x \times l_y \times l_z = 10 \text{ nm} \times 10 \text{ nm} \times 10 \text{ nm}$ . Implementarea MNP în spațiul de simulare a fost realizată prin asocierea unui moment magnetic de mărime  $m_{\text{MNP}} = 4 \cdot 10^{-19} \text{ A} \cdot \text{m}$  unor anumite celule cubice de volum  $l_x \times l_y \times l_z$ . Fiecare celulă cu moment magnetic  $m_{\text{MNP}} = 4 \cdot 10^{-19} \text{ A} \cdot \text{m}$  a fost urmată de 2 celule de moment magnetic  $m=0$  pe ambele direcții  $O_x$  și  $O_y$ . Pentru fiecare celulă a fost considerată o anizotropie uniaxială de mărime  $1 \text{e}4 \text{ J/m}^3$  și orientare aleatoare.

Dinamica momentelor magnetice în configurația geometrică prezentată mai sus a fost urmărită la temperatura de 200K, 250K și 300K timp de 100 ns. Direcția momentelor magnetice a fost salvată la fiecare 0.01 ns. Fișierele generate de programul OOMMF au fost convertite în fișiere tip text cu 6 coloane conținând informațiile despre poziția și orientarea momentelor magnetice la un anumit moment de timp. Fișierele corespunzătoare unei anumite temperaturi au fost aranjate în foldere denumite 200, 250 și 300 (în total câte 10000 fișiere/folder).

Programul Rel\_Times a fost folosit pentru analizarea fiecărui element din cele fiecare 30 000 de fișiere organizate în folderele mai sus menționate și extragerea timpului de relaxare și a densității de energie de anizotropie uniaxială pe fiecare nanoparticulă considerată în simulare. Rezultatele sunt prezentate în Fig2 ca și distribuții statistice.

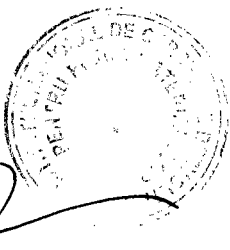
**Exemplul 3.** Aplicarea invenției pentru un sistem de NP magnetice aranjate într-o configurație 2D tip patrat. În acest scop au fost realizate simulări micromagnetice pe un sistem de MNP folosind programul OOMMF. Spațiul de simulare cu dimensiuni totale  $L_x \times L_y \times L_z = 200 \text{ nm} \times 200 \text{ nm} \times 10 \text{ nm}$  a fost discretizat într-un mesh cu celule patrulate de dimensiune  $l_x \times l_y \times l_z = 10 \text{ nm} \times 10 \text{ nm} \times 10 \text{ nm}$ . Implementarea MNP în spațiul de simulare a fost realizată prin asocierea unui moment magnetic de mărime  $m_{\text{MNP}} = 4 \cdot 10^{-19} \text{ A} \cdot \text{m}$  unor anumite celule cubice de volum  $l_x \times l_y \times l_z$ . Fiecare celulă cu moment magnetic  $m_{\text{MNP}} = 4 \cdot 10^{-19} \text{ A} \cdot \text{m}$  a fost urmată de 2 celule de moment magnetic  $m=0$  pe ambele direcții  $O_x$  și  $O_y$ . Pentru fiecare celulă a fost considerată o anizotropie uniaxială de mărime  $1 \text{e}4 \text{ J/m}^3$  și orientare aleatoare.

Dinamica momentelor magnetice în configurația geometrică prezentată mai sus a fost urmărită la temperatura de 200K, 250K și 300K timp de 100 ns. Direcția momentelor magnetice a fost salvată la fiecare 0.01 ns. Fișierele generate de programul OOMMF au fost convertite în fișiere tip text cu 6 coloane conținând informațiile despre poziția și orientarea momentelor magnetice la un anumit moment de timp. Fișierele corespunzătoare unei anumite temperaturi au fost aranjate în foldere denumite 200, 250 și 300 (în total câte 10000 fișiere/folder).



Programul Rel\_Times a fost folosit pentru analizarea fiecarui element din cele fiecare 30 000 de fișiere organizate în folderele mai sus menționate și extragerea timpului de relaxare și a densității de energie de anizotropie uniaxială pe fiecare nanoparticula considerată în simulare. Rezultatele sunt prezentate în Fig3 ca și distribuții statistice.

42



**Revendicari:**

1. O noua metodologie de estimare a timpului de relaxare in sisteme de nanoparticule magnetice cu relevanta in terapiile cancerului pe baza de hipertermie magnetica, caracterizata prin urmatoarea succesiune de etape: i) realizarea de simulari micromagnetice folosind software Object Oriented Micromagnetic Framework (OOMMF) pentru un set de nanoparticule magnetice (MNP) la cel puțin 2 temperaturi, ii) obtinerea automatizata a timpului de salt superparamagnetic in relatie cu temperatura si cu directia axei de anizotropie pentru fiecare MNP, iii) obtinerea automatizata de curbe tip Arrhenius pentru fiecare MNP, iv) extragerea automatizata a timpului de relaxare și a constantei de anizotropie pentru fiecare MNP, v) generarea automatizata a unor fisiere ce contin valorile constantelor de relaxare superparamagnetica si energiilor de anizotropie uniaxiala pentru intreg sistemul de MNP, vi) prezentarea automatizata datelor din fisiere sub forma de histograme și extragerea de date statistice
2. Program cu interfata grafica (Rel\_Times) pentru vizualizarea si analiza cantitativa a seriilor de fisiere obtinute din simulari micromagnetice folosind programul OOMMF ce se caracterizeaza prin i) extragerea automata a timpilor de oscilatie superparamagnetica pentru o nanoparticula data din setul de date generate de OOMMF luand in considerare directia axei de anizotropie, ii) organizarea timpilor de salt si a temperaturilor in curbe de tip Arhenius, iii) extragerea constantei de relaxare superparamagnetica și a densitatii de energie de anizotropie prin fitarea automata a curbelor tip Arrhenius, iv) prezentarea rezultatelor sub forma de histograme și afisarea de valori statistice



A handwritten signature in black ink is written over a circular official stamp. The stamp contains text in a circular arrangement, including the words "CENTRU DE RESEARCH" and "RESEARCH".



Figuri

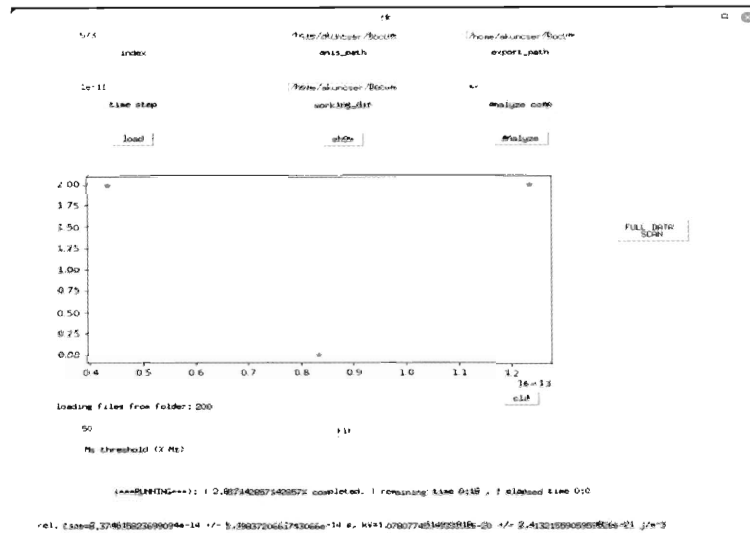


Fig1. Interfata grafica a programului Rel\_Times

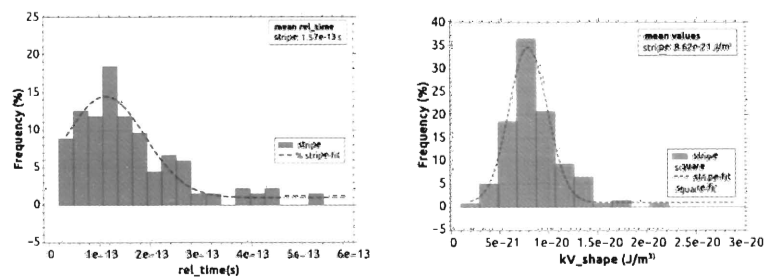


Fig2. Distributia timpilor de relaxare (a) și densitatatilor de energie de anizotropie uniaxiala de (b) pe un sistem de NP magnetice aranjate în configuratie 2-D tip banda

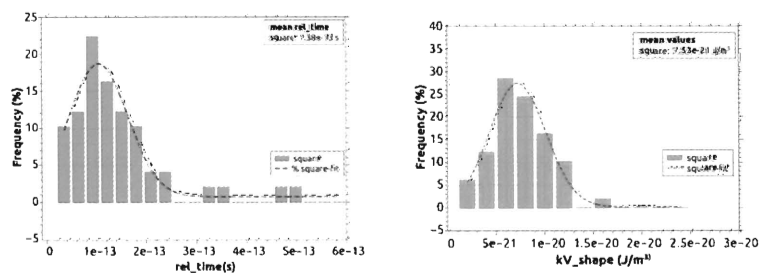


Fig3. Distributia timpilor de relaxare (a) și densitatatilor de energie de anizotropie uniaxiala (b) pe un sistem de NP magnetice aranjate în configuratie 2-D patrata.

