

PRODUCTION PAR CO-BROYAGE DE MATERIAUX COMPOSITES POREUX BIODEGRADABLES A USAGE ORTHOPEDIQUE

Nadine LE BOLAY *, Véronique SANTRAN**, Christèle COMBES***, Gérard DECHAMBRE***, Christophe DROUET***, Alain LAMURE***, Christian REY***

*Laboratoire de Génie Chimique – UMR CNRS 5503 – ENSIACET – 5 rue Paulin Talabot, BP 1301, 31106 Toulouse cedex 1 – Tel : +33 (0)5 34 61 52 67 ;

Fax : +33 (0)5 34 61 52 53 Nadine.LeBolay@ensiacet.fr

**Laboratoire de Biologie Cellulaire U 531 – 38 rue des 36 ponts – 31400 Toulouse

***CIRIMAT – UMR CNRS 5085 – ENSIACET – 118 route de Narbonne – 31077 Toulouse cedex 4

Résumé. L'article présente les résultats d'une étude sur la production de matériaux composites poreux biodégradables par co-broyage suivi d'une mise en forme. De l'acide polylactique et une apatite nanocristalline carbonatée analogue au minéral osseux, sous forme de poudres, ont été cobroyés dans un broyeur à boulets afin de disperser la charge minérale dans le polymère. Des implants poreux ont ensuite été réalisés en moulant à chaud le mélange des deux constituants et un agent porogène qui a ensuite été éliminé par lessivage. La résistance mécanique des implants a enfin été caractérisée. Il a été montré que des pourcentages de 30 % de charge et 70 % d'agent porogène permettent de produire des implants suffisamment poreux et résistants.

Mots Clés. Biopolymère, biodégradable, co-broyage, propriétés

1. INTRODUCTION

Les matériaux composites à matrice polymère offrent des potentialités importantes en chirurgie réparatrice du tissu osseux en raison de leur analogie avec l'os, qui constitue un nanocomposite naturel. Cependant, leurs développements industriel et commercial restent, à ce jour, limités.

Une des voies n'ayant pas encore été explorée pour obtenir ces matériaux est l'utilisation du co-broyage de la charge minérale et du polymère. Ce procédé a déjà été utilisé pour la synthèse de matériaux composites à matrice polymère et charge minérale constituée de calcite [1,2], et il a été démontré que le co-broyage permettait d'améliorer nettement les propriétés mécaniques du matériau par rapport à un simple mélange des constituants.

Il s'agit ici de produire des composites poreux biocompatibles et biodégradables par co-broyage des constituants, suivi d'une mise en forme, en vue d'offrir une alternative aux substituts osseux à base de céramiques frittées à haute température actuellement utilisés. Ces composites offrent des avantages indéniables sur ces dernières. Ils permettent en particulier une mise en forme contrôlée et réalisée à basse température, limitant ainsi les pertes en réactivité de surface de la charge minérale. Par ailleurs, leurs propriétés mécaniques sont adaptables et autorisent de nombreuses applications. Enfin, plusieurs associations entre le biomatériau et des principes actifs (ions minéraux biologiquement actifs, facteurs de croissance, ...) peuvent être envisagés par l'intermédiaire de la charge minérale, permettant de moduler l'activité cellulaire après implantation [3,4].

L'article présente une étude sur la production, par co-broyage dans un broyeur à boulets et mise en forme, de composites poreux biodégradables offrant plusieurs caractéristiques : porosité et distribution de taille des pores imposées, bonne résistance à la compression. Le polymère utilisé est l'acide polylactique, couramment choisi comme biomatériau, alors que la charge est constituée d'une apatite nanocristalline carbonatée de synthèse, analogue au minéral osseux [5,6]. Ce choix permet ainsi d'associer la biodégradabilité de la matrice polymère et les propriétés biologiques, de biodégradabilité et mécaniques de la charge minérale.

2. PRODUITS, APPAREILLAGES ET ANALYSES

La matrice polymère retenue pour cette étude est de l'acide polylactique L,D (PLA, Galactic), disponible sous forme de granulés d'environ 3 mm de diamètre. Ces granulés sont prébroyés pendant 10 minutes dans un broyeur à couteaux de laboratoire thermostaté à 20 °C pour éviter, sous l'effet

des lames des couteaux, un échauffement local du produit pouvant engendrer son passage à l'état caoutchoutique [7]. Le polymère est ensuite tamisé, et seules les particules dont la taille est inférieure à 250 µm sont conservées. La taille moyenne du produit initial est égale à 157,7 µm.

La charge minérale utilisée dans ce travail est constituée d'apatite carbonatée nanocristalline obtenue par double décomposition entre une solution de nitrate de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (52.2 g dans 750 ml d'eau désionisée) et une solution d'hydrogénophosphate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (90 g) et d'hydrogencarbonate de sodium NaHCO_3 (90 g), dans 1500 ml d'eau désionisée. Le précipité formé a été laissé mûrir dans les eaux mères pendant 15 jours, puis filtré, lavé à l'eau désionisée, puis lyophilisée, et la poudre a été conservée au congélateur jusqu'à utilisation. Son taux de carbonatation initial a été déterminé à 4.5% massique, avec un rapport Ca/P de 1.46. La taille des nanocristallites individuelles (sous forme de plaquettes) a été évaluée à partir des données de diffraction des rayons X à 160 Å en longueur et une moyenne de 54 Å en largeur/épaisseur, par application de la formule de Scherrer. Ces plaquettes présentent cependant une forte agglomération, et la taille moyenne initiale des particules agglomérées de charge minérale a été évaluée à 37,4 µm.

L'opération de co-broyage a été réalisée en voie sèche dans un broyeur à boulets de laboratoire constitué d'une jarre en céramique d'un litre contenant des boulets en céramique de 10 mm de diamètre occupant 20 % du volume de la jarre. La vitesse de rotation de la jarre a été fixée à 100 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$ (soit 75% de la vitesse critique), afin d'obtenir un mouvement en cataracte des boulets. Des particules d'acide polylactique, d'apatite ou de mélange des deux constituants en proportions variables (10 à 40 % massique de charge minérale) ont été introduites dans la jarre, l'ensemble de la poudre occupant 10% du volume vide interstitiel des boulets. Ce pourcentage de poudre peut paraître faible par rapport à ceux habituellement utilisés avec ce type de broyeur (40 à 50 %), mais il a été choisi afin de minimiser la consommation des produits qui sont coûteux. Différents temps de co-broyage, variant entre 10 minutes et 10 heures, ont été fixés.

Plusieurs propriétés des échantillons de poudres produits par co-broyage ont été caractérisées : la taille des particules (granulomètre laser Malvern Mastersizer 2000 couplé à un accessoire de dispersion en voie sèche de type Sirocco) ; la morphologie des particules (microscope électronique à balayage LEO 435 VP) ; la température de transition vitreuse (thermobalance SDT Q600 TA Instruments).

La faisabilité de mise en forme d'implants a été testée en fabriquant des pastilles poreuses. A cet effet, un agent porogène (du chlorure de sodium de taille moyenne égale à 300 µm) a été ajouté aux poudres produites par co-broyage, le sel représentant de 50 à 90 % massique de l'ensemble. Les échantillons ont ensuite été mélangés pour obtenir des systèmes homogènes en composition, puis ils ont été placés dans un moule en Teflon afin de former des pastilles de 1 cm de diamètre et 3 mm d'épaisseur. Ils ont été portés à 190 °C pendant 45 minutes, puis refroidis à température ambiante. Les pastilles obtenues ont été placées dans de l'eau pour dissoudre totalement le chlorure de sodium et générer ainsi la porosité. La tenue des pastilles poreuses a été contrôlée en les observant qualitativement dans l'eau. Les pastilles ont ensuite été retirées de l'eau et séchées à l'air ambiant. Leur porosité a été contrôlée par microscopie électronique à balayage et mesurée à l'aide d'un porosimètre multi gaz (ASAP 2010 M, Micromeritics).

Enfin, compte tenu de la forme des échantillons (disques), l'évaluation de la résistance mécanique d'éprouvettes par tests classiques en compression requérant un rapport hauteur/diamètre supérieur à 1,5 n'a pas été possible, et celle-ci a été réalisée en traction indirecte ou « test brésilien ». Au cours de cet essai, une force de compression croissante (F) est appliquée sur un cylindre (ou disque) en position horizontale, des contraintes de traction proportionnelles à l'effort se développent perpendiculairement au plan passant par les deux génératrices supportant la charge. La rupture se produit alors lorsque la contrainte de traction est maximale. La résistance mécanique du disque est déterminée par σ (contrainte), qui est reliée à F par l'équation :

$$\sigma = 2F / (\pi DH)$$

où D et H représentent respectivement le diamètre et la hauteur du disque.

3. CARACTERISATION DES POUDRES PRODUITES PAR CO-BROYAGE

Chaque système particulière ayant un comportement spécifique lors du broyage ou du co-broyage, il convient tout d'abord de broyer les deux constituants séparément en suivant leur taille au cours du temps.

En ce qui concerne l'acide polylactique, dont la taille moyenne initiale est de 157,7 μm , le broyage ne permet pas de fragmenter les particules. Au contraire, la taille augmente progressivement au cours du broyage en raison de phénomènes d'agglomération. Ainsi, elle atteint 189,8 μm après une heure de traitement et 415 μm après 3 heures. Au delà de ce temps, on observe la formation d'écaillés résultant de l'agglomération des particules entre elles puis de la compaction des agglomérats sous l'effet des boulets.

Pour ce qui est de l'apatite utilisée, sa taille est rapidement réduite comme le montre la figure 1, puisqu'une taille limite de 4 μm est atteinte après 6 minutes de traitement. Cette fragmentation rapide provient du fait que les particules sont constituées d'agglomérats de nanocristaux, qui sont partiellement dissociés lors du broyage. Ceci laisse présager que lors du co-broyage, la charge pourra se répartir aisément au sein de la matrice.

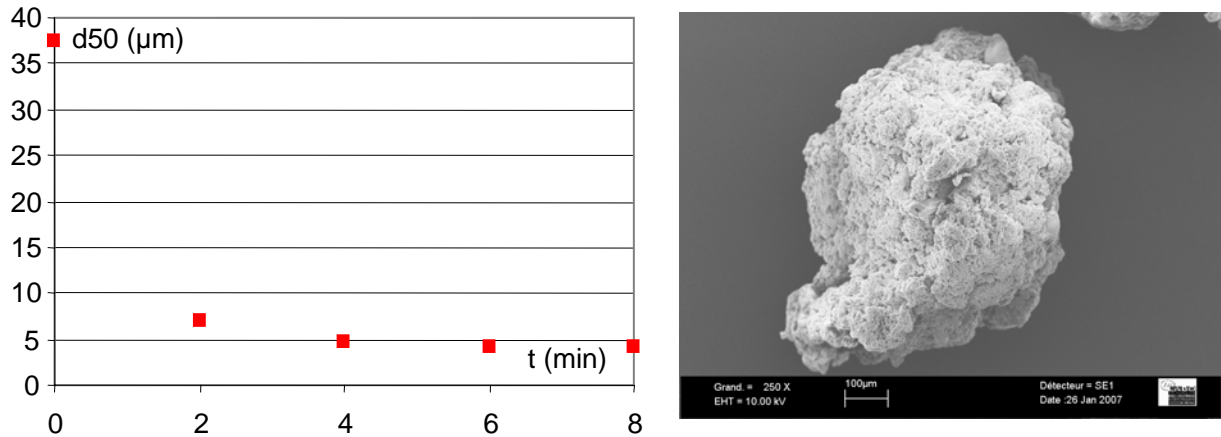


Figure 1 : Variation de la taille de l'apatite et photo MEB d'une particule (échelle = 100 μm)

En ce qui concerne les mélanges, leur comportement diffère selon la proportion de la charge. En effet, avec 10 % d'apatite, le mélange tend à s'agglomérer comme le polymère seul. Par contre, à partir de 30 %, on note une réduction progressive de la taille moyenne des particules, puisque après 10 heures de co-broyage, celle-ci atteint 90,8 μm avec 30 % de charge, et 62,7 μm avec 40 %. Sous l'effet des boulets, les particules d'apatite se fragmentent. Lorsque les fragments ont atteint quelques microns, ils adhèrent à la surface des particules de polymère, empêchant celles-ci de s'agglomérer entre elles. Un traitement prolongé permet même d'éroder les fragments de charge et d'en réduire davantage la taille que par broyage de la charge seule. Ainsi, on peut voir sur les photos MEB de la figure 2 que des fragments de charge de taille inférieure au μm sont collés sur le polymère. Nous avons vérifié par EDX que les petits fragments étaient le minéral. La charge est ainsi parfaitement dispersée au sein de la matrice, dispersion favorisée par la réduction de la taille des particules de polymère. De plus, l'adhésion de la charge sur le polymère permet d'éviter une ségrégation ultérieure des constituants lors de la manutention, conservant ainsi l'homogénéité du mélange.

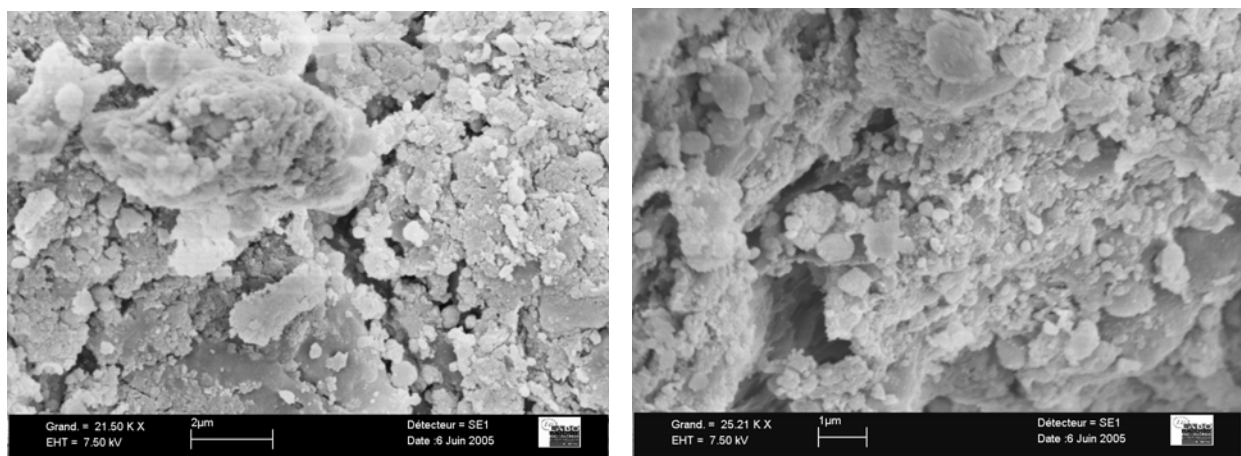


Figure 2 : Photos MEB du mélange après 10 heures de co-broyage

De par l'analyse de la taille et de la morphologie des particules, on peut dire qu'un pourcentage de charge de 30 ou 40 % massique est à retenir pour la suite de l'étude, proportion suffisamment élevée pour participer à la réparation tissulaire (ostéoconduction) en favorisant la colonisation cellulaire de l'implant et la minéralisation de la matrice extracellulaire.

La température de transition vitreuse d'échantillons de polymère prébroyé, sans apatite, et de mélanges contenant 30 et 40 % massique de charge, broyés 10 minutes et 10 heures, a été déterminée. Elle est égale à 54 °C pour le polymère prébroyé (ce qui est en accord avec la bibliographie [3] et les spécifications du fournisseur), comme pour les mélanges co-broyés 10 minutes. Pour les mélanges co-broyés 10 heures cette température augmente jusqu'à 58,5 °C et le pourcentage de charge n'influe pas sur sa valeur. Ces résultats montrent que la charge rigidifie la structure supramoléculaire du polymère quelle que soit l'épaisseur de la couche d'apatite déposée.

4. FAISABILITE DE MISE EN FORME D'IMPLANTS

S'agissant de reconstruction osseuse, les implants composites doivent permettre la migration des cellules et la vascularisation. Il s'agit alors de produire des implants suffisamment poreux, en terme de pourcentage de porosité et de taille des pores, mais ayant suffisamment de maintien.

Nous avons donc fabriqué des pastilles constituées d'une part des mélanges pulvérulents co-broyés pendant différents temps, contenant 30 ou 40 % massique d'apatite, et d'autre part de chlorure de sodium à raison de 50 à 90 % massique d'agent porogène dans le mélange. Le sel a ensuite été éliminé par lessivage à l'eau. Les pastilles ont été lessivées pendant 48 heures et nous avons contrôlé par microscopie électronique à balayage que tout le sel avait été éliminé. De plus, les pastilles ont été observées qualitativement afin de contrôler leur tenue lors de cette étape de lessivage.

Enfin, les pastilles poreuses ont été séchées. Leur tenue a également été contrôlée à ce stade puis elles ont été observées au microscope électronique à balayage et leur porosité a été mesurée.

Les pastilles contenant 90 % massique de chlorure de sodium se sont transformées en poudre dès l'étape de lessivage car le composite n'était pas présent en quantité suffisante pour constituer un réseau continu autour des cristaux de sel. Les pastilles contenant 80 % de sel et moins ont satisfait à cette étape de la mise en forme.

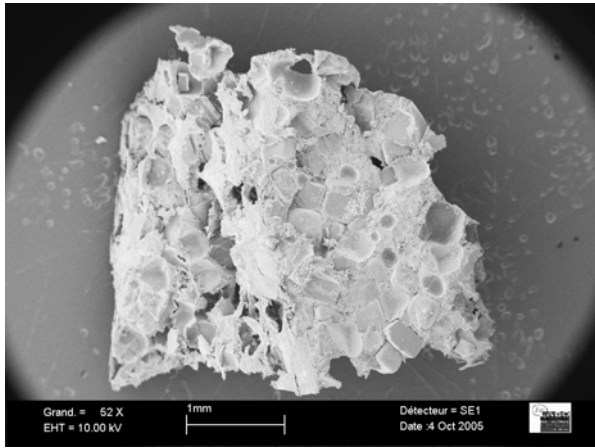
Les pastilles contenant le composite à 40 % d'apatite ont été très friables après l'étape de séchage et elles se sont transformées en poudre dès leur manipulation. La proportion de charge dans les mélanges était probablement trop élevée, ne permettant pas à la matrice de jouer correctement son rôle de liant.

Seules les pastilles contenant les mélanges à 30 % d'apatite et 80 % de chlorure de sodium ou moins ont été conservées pour les analyses ultérieures.

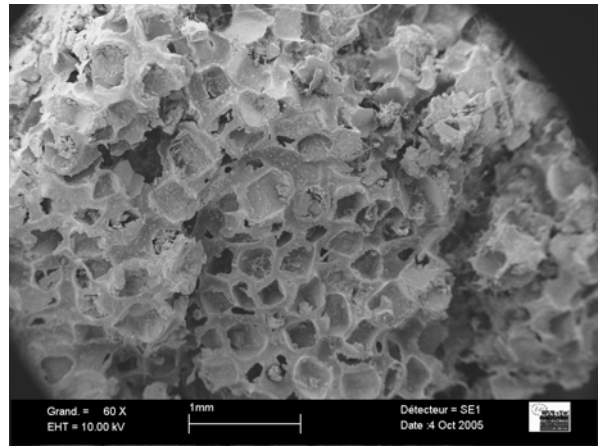
Les photos des figures 3.a et 3.b montrent des vues de pastilles avant et après lessivage. Sur la première photo, les cristaux de sels sont bien visibles, emprisonnés dans le composite. Après lessivage, des pores sont créés, de forme cubique et d'une taille de l'ordre de 200 – 300 µm. Le grossissement de la photo 3.c permet de constater que des cristaux (agglomérats) d'apatite tapissent les pores, signe qu'ils seront accessibles après implantation. De plus, on relève des interconnexions entre pores (photos 3.c et 3.d), de diamètre variant entre 100 et 200 µm, résultant des contacts entre cristaux de sel lors de la fabrication des pastilles.

La distribution des pores au sein des pastilles a été déterminée par porosimétrie au mercure. Un exemple est présenté sur la figure 4 dans le cas d'une pastille contenant un mélange à 30 % massique d'apatite et pour laquelle 80 % massique de chlorure de sodium (soit 74 % volumique) ont été initialement introduits.

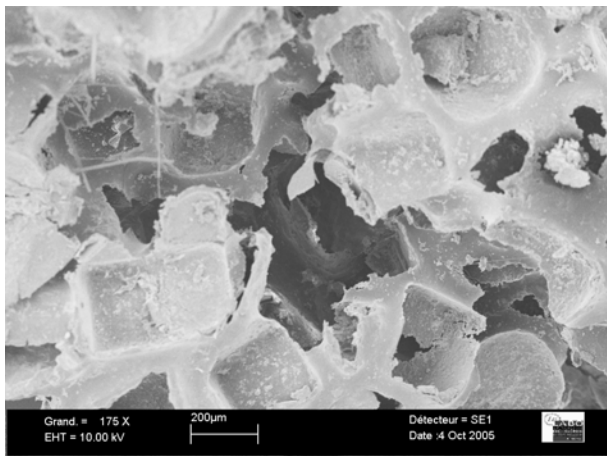
La taille moyenne des pores a été déterminée à 133,4 µm et la porosité à 60 % volumique. Ce pourcentage est un peu inférieur à celui du sel initialement introduit. En effet, lors de la constitution des pastilles, le chlorure de sodium étant plus dense que le mélange composite, une légère ségrégation se produit, de sorte que la proportion de sel réellement au cœur des pastilles est un peu inférieure à la valeur initiale. Des résultats similaires ont été obtenus avec toutes les pastilles contenant le composite à 30 % massique de charge, quel que soit le temps de co-broyage. Néanmoins, la différence entre le pourcentage de porosité des implants et le pourcentage d'agent porogène initialement introduit se réduit avec ce dernier en raison d'une diminution des phénomènes de ségrégation entre les constituants. La taille des pores et le taux de porosité sont satisfaisants pour permettre l'accessibilité de l'ensemble de l'implant aux cellules.



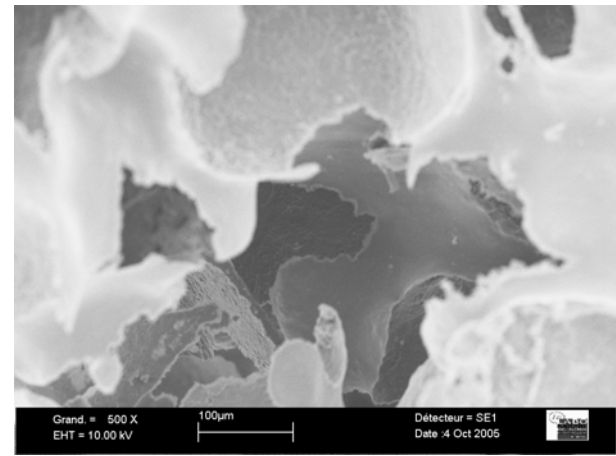
a. Pastille avant lessivage (échelle = 1 mm)



b. Pastille après lessivage (échelle = 1 mm)



c. Présence de cristaux minéraux (échelle = 200 µm)



d. interconnexions entre pores (échelle = 100 µm)

Figure 3 : Photos MEB de pastilles

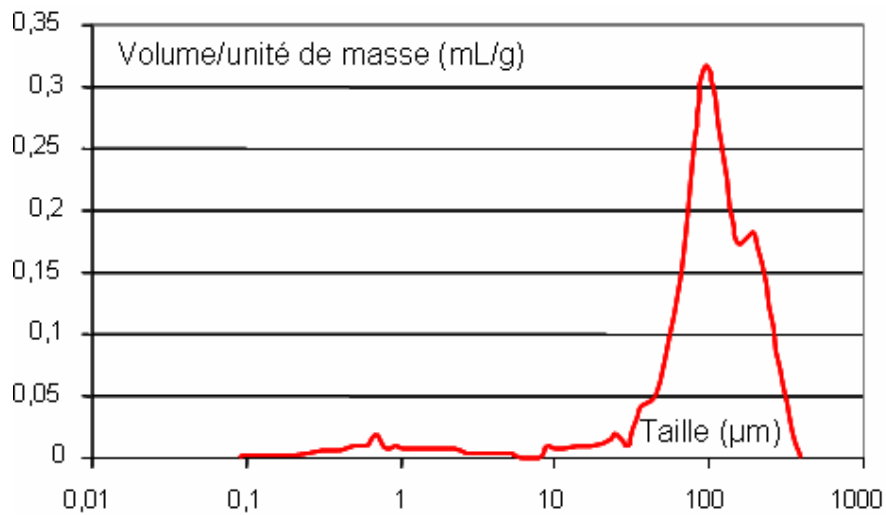


Figure 4 : Distribution en volume des pores

5. RESISTANCE MECANIQUE DES IMPLANTS

Un autre critère d'exigence concernant les implants est leur résistance mécanique. En effet, ils doivent être facilement manipulables par le chirurgien, et conserver leur forme après implantation

dans le corps humain (avant résorption). D'une manière générale, le renfort minéral joue ce rôle. Néanmoins, dans le cas de composites poreux présentant une porosité élevée, la présence des pores peut annuler l'effet de la charge. C'est pourquoi des tests de résistance mécaniques ont été réalisés.

A cet effet, deux séries d'expériences ont été menées. Au cours de la première, des tests brésiliens ont été effectués sur des pastilles obtenues dans des conditions identiques à celles présentées dans le paragraphe précédent : pourcentage massique d'apatite = 30 % ; temps de co-broyage = 10 minutes ; pourcentage massique de sel = 65, 70, 75 et 80 % ; température de chauffe = 190 °C ; mise en œuvre à pression ambiante. Le tableau 1 présente les résultats de résistance mécanique pour les différents pourcentages d'agent porogène utilisés.

% sel	65	70	75	80
Résistance (MPa)	2,17	2,21	1,03	faible

Tableau 1 : Influence du pourcentage de sel sur la résistance des pastilles poreuses

On peut noter que jusqu'à 70 % d'agent porogène, la résistance mécanique est satisfaisante. Par contre, elle diminue nettement pour des pourcentages supérieurs car le composite est présent en proportion trop faible pour constituer une structure suffisamment rigide.

Une deuxième série d'expériences a été réalisée en diminuant la température de travail et en exerçant une pression sur la surface de la pastille au moment de sa mise en forme. Une température de 130 °C a été fixée dans le but éventuel de limiter les pertes en réactivité de surface de l'apatite à température plus élevée. En ce qui concerne la pression, elle a été fixée à 20, 50 et 75 MPa. Les résultats sont rassemblés dans le tableau 2.

Pression (MPa)	% sel	Résistance (MPa)
75	65	1,98
	70	0,87
	75	0,11
	80	0,12
50	65	0,62
	80	0,12
20	65	0,59
	80	faible

Tableau 2 : Influence de la pression et du pourcentage de sel sur la résistance des pastilles poreuses

Comme précédemment, on peut noter que les résultats sont plus satisfaisants avec les pourcentages de sel les plus faibles. En outre, la résistance des pastilles est améliorée par une augmentation de la pression exercée à leur surface lors de la mise en forme. Toutefois, quelles que soient les conditions de mises en œuvre, les résistances restent inférieures à celles de la première série d'expériences.

CONCLUSIONS

Le co-broyage en voie sèche a été mis en œuvre pour produire des matériaux composites biodégradables. A cet effet, de l'acide polylactique a été chargé par une apatite nanocristalline carbonatée analogue au minéral osseux. Il a été démontré que l'ajout de 30 à 40 % de charge favorise le broyage du polymère et permet une dispersion satisfaisante du minéral au sein de la matrice. Néanmoins, le pourcentage le plus élevé est défavorable à une mise en forme d'implants poreux car trop important pour que la matrice puisse jouer son rôle de liant. La réalisation des implants a été effectuée par ajout d'un agent porogène qui a ensuite été dissout, générant ainsi une porosité. Le pourcentage d'agent porogène introduit dans le mélange définit le taux de porosité des implants. Pour conserver le maintien de ceux-ci, il ne faut pas ajouter plus de 80 % d'agent porogène. Un autre critère important est la résistance mécanique des implants. Elle est satisfaisante si le pourcentage d'agent porogène ne dépasse pas 70 %.

Pour que les qualités d'un implant puissent être considérées comme satisfaisantes, il faut que celui-ci contienne un taux suffisant d'apatite favorisant la minéralisation et l'adhésion cellulaire, des pores de taille et en nombre suffisants pour faciliter la pénétration des cellules et la vascularisation de l'implant, et qu'il possède une résistance mécanique suffisante pour ne pas se briser une fois qu'il est implanté. Un pourcentage de charge de 30 %, un temps de co-broyage de 10 minutes et un

pourcentage et une taille d'agent porogène respectivement égaux à 70 % et 300 µm permettent d'atteindre ces objectifs.

REFERENCES

- [1] ZAPATA – MASSOT C., FRANCES C., LE BOLAY N., On the use of scanning electron microscopy for the modelling of co-grinding kinetics in a tumbling ball mill, *Powder Technol.*, 143-144, 215-229 (2004).
- [2] ZAPATA C., FRANCES C., LE BOLAY N., MOLINA – BOISSEAU S., Production of small composite particles by co-grinding in a media mill – Characterization of the granulometric and the mechanical properties, *Trans. IChemE, Part A, Chem. Eng. Res. Des.*, 82 (A5), 631-636 (2004).
- [3] KHAN Y. M., KATTI D.S., LAURENCIN C.T., Novel polymer-synthesized ceramic composite-based system for bone repair: an in vitro evaluation., *J. Biomed. Mater. Res.*, 69(4), 728-737 (2004)
- [4] DUTTA ROY T., SIMON J.L., RICCI J.L., REKOW E.D., THOMPSON V. P., PARSONS J.R., Performance of hydroxyapatite bone repair scaffolds created via three-dimensional fabrication techniques, *J. Biomed. Mater. Res.*, 67(4), 1228-1237 (2003)
- [5] EICHERT D., COMBES C., DROUET C., Formation and evolution of hydrated surface layers of apatites, *Key Engineering Materials (Bioceramics 17)*, 284-286, 3-6 (2005).
- [6] CAZALBOU S., EICHERT D., DROUET C., COMBES C., REY C., Minéralisations biologiques à base de phosphates de calcium, *Compte-rendu Palévol (paléontologie générale)*, 3, 563-572 (2004).
- [7] RABETAFIKA H.N., PAQUOIT M., DUBOIS P., Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10(3), 185-196 (2006).