

## Elaboration de biocéramiques phosphocalciques

### Processing of calcium phosphate bioceramics

Eric Champion<sup>1</sup>, Chantal Damia<sup>1</sup>, Marylène Viana<sup>1</sup>, K. Beaubrun-Giry<sup>1</sup>, C. Drouet<sup>2</sup>  
et D. Grossin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Université de Limoges, CNRS, SPCTS UMR 7315, Limoges, France

<sup>2</sup>Université de Toulouse, CIRIMAT Institut Carnot, UMR CNRS/IINPT/UPS 5085, France

**Abstract.** Calcium phosphate ceramics (hydroxyapatite, tricalcium phosphate) are commonly used as synthetic bone graft substitutes. The development of new ceramic implants with improved performances requires the mastering of many chemical and physical parameters involved in their processing: synthesis of specific powders, shaping of complex architectures, sintering and functionalization. This paper illustrates a few examples of the work in the field of processes of these calcium phosphate bioceramics for applications in bone tissue engineering.

**Résumé.** Les céramiques phosphocalciques (hydroxyapatite, phosphate tricalcique) sont couramment utilisées comme implants synthétiques en substitution osseuse. Le développement de nouveaux implants céramiques aux performances accrues nécessite la maîtrise de nombreux paramètres chimiques et physiques intervenant dans leurs procédés d'élaboration : synthèse de poudres spécifiques, mise en forme d'architectures complexes contrôlées, frittage et fonctionnalisation. Cette contribution illustre à travers quelques exemples les travaux menés dans le domaine des procédés d'élaboration de ces biocéramiques phosphocalciques pour des applications en ingénierie des tissus osseux.

#### INTRODUCTION

Certains phosphates de calcium (i.e., hydroxyapatite, phosphate tricalcique) de composition chimique proche de celle du minéral osseux présentent un intérêt majeur pour des applications dans le domaine de l'ingénierie des tissus osseux. Ces matériaux céramiques, dits de seconde génération, sont connus pour leur bioactivité et leur propriété d'ostéconduction, c'est-à-dire leur capacité à conduire la repousse de tissus osseux à leur surface [1].

La fabrication des biocéramiques phosphocalciques comporte classiquement trois étapes majeures : synthèse de poudres spécifiques, mise en forme des pièces et consolidation par frittage. Une quatrième étape, post frittage, de fonctionnalisation de la surface des biocéramiques par des molécules actives fait l'objet de nombreux travaux de recherche actuels. Elle vise à développer une troisième génération d'implants céramiques phosphocalciques, capable d'induire la repousse osseuse et/ou de délivrer un traitement de façon contrôlée.

De nombreux paramètres interviennent au cours du procédé d'élaboration qui peuvent modifier les propriétés finales des biocéramiques. La compréhension et la maîtrise de l'ensemble de ses étapes est donc indispensable en vue d'optimiser la performance de ces implants, c'est-à-dire de favoriser l'ostéointégration (ostéinduction, bioactivité/résorption, traitement...). Les exemples présentés ici illustrent les travaux menés sur :

- (i) la synthèse de poudres spécifiques d'hydroxyapatites partiellement carbonatées ou silicatées et d'apatites biomimétiques nanocristallines,
- (ii) le contrôle d'architectures poreuses par des procédés de microstéréolithographie ou d'hétérocoagulation,

- (iii) la consolidation à haute température par frittage naturel ou sous atmosphère contrôlée ou à basse température par frittage flash (Spark Plasma Sintering),
- (iv) la fonctionnalisation par inclusion et libération contrôlée de principe actifs ou par des biomolécules actives dans les processus de formation de tissus osseux (peptides, protéines, facteurs de croissances).

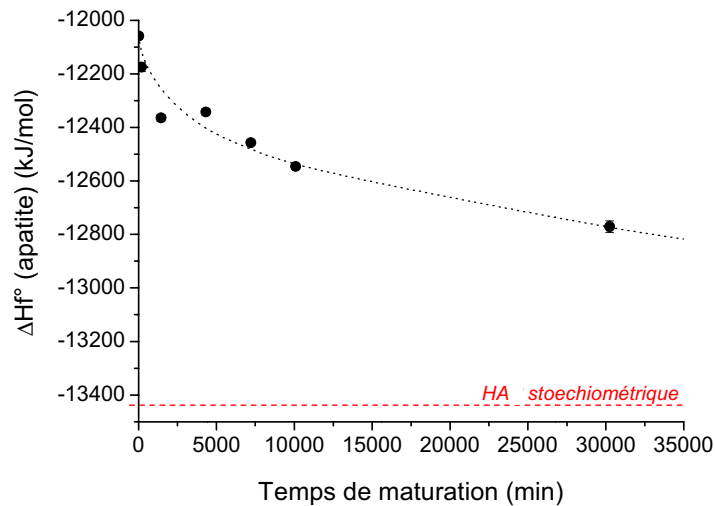
#### SYNTHÈSE DE POUDRES SPÉCIFIQUES

La synthèse de poudres spécifiques utilise dans la grande majorité des cas la précipitation en milieu aqueux d'une apatite phosphocalcique. Sur la base de l'hydroxyapatite stœchiométrique (HA) de formule  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  cette méthode permet l'obtention d'apatites partiellement substituées [2–4]. Parmi ces substitutions, celles du carbonate et du silicium ont été particulièrement étudiées des dernières années. Par extension, cette approche a également conduit plus récemment à la synthèse d'apatites nanocristallines «biomimétiques» [5].

L'objectif visé est une augmentation de la bioréactivité (dégradation ostéoclastique, dissolution) favorisant la biorésorption et /ou la formation de nouveaux tissus osseux.

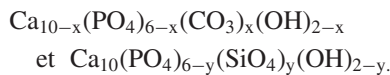
#### APATITES CARBONATÉES OU SILICATÉES

La substitution partielle des groupements phosphates par des carbonates ou des silicates dans le réseau cristallin de l'apatite mène respectivement aux compositions



**Figure 1.** Evolution de l'enthalpie standard de formation des apatites nanocristallines en fonction de la durée de maturation en solution.

suivantes :



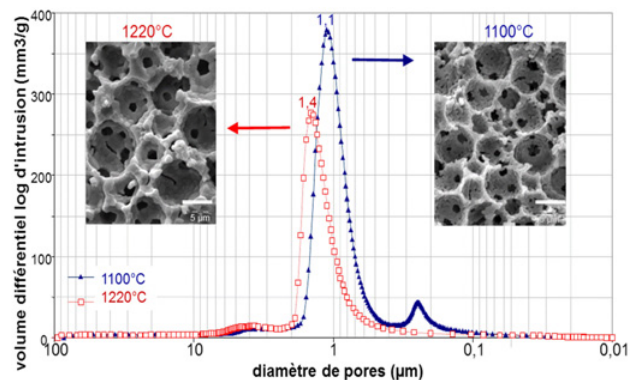
Elle peut être contrôlée durant la synthèse en fonction des quantités de précurseurs de carbonate ou de silicate introduits dans le milieu réactionnel. Ces synthèses sont généralement conduites à pH basique et à température élevée ( $> 50^\circ\text{C}$ ) et impliquent des réactions d'hydrolyse au cours desquelles la composition évolue avec la maturation pour aboutir à un pseudo équilibre. La synthèse de ces composés est aujourd'hui maîtrisée. La principale difficulté vient des précurseurs de silicium peu ou pas solubles qui conduisent à la précipitation de composés biphasés [4]. Des étapes préliminaires de solubilisation du silicium sous forme d'anion silicate en milieu aqueux semblent nécessaires à son incorporation directe dans l'apatite durant la précipitation [6].

## APATITES NANOCRYSTALLINES BIOMIMÉTIQUES

Ces apatites sont également synthétisées par précipitation dans des conditions proches du milieu physiologique. Les cristaux sont constitués d'un cœur d'apatite entouré d'une couche hydratée contenant des ions de forte mobilité. Il en résulte une bioréactivité très supérieure à celle de l'HA. Cette couche hydratée disparaît avec la durée de maturation pour tendre vers l'HA stœchiométrique, composé thermodynamiquement le plus stable (Fig. 1). Ceci implique une diminution de la solubilité et de la réactivité de surface des cristaux [7].

## MISE EN FORME D'ARCHITECTURES POREUSES

De nombreux procédés innovants de mise en forme sont actuellement étudiés pour développer des dispositifs implantables d'architecture contrôlée et à porosité multi-échelle. Il est possible de distinguer des procédés faisant appel à des agents porogènes sacrifiés comme ceux faisant appel à l'hétérocoagulation de suspensions ou



**Figure 2.** Porogrammes de céramiques d'hydroxyapatite frittées à différentes températures.

de prototypage rapide telle la microstéréolithographie. Dans les deux cas la formulation des suspensions et leur comportement rhéologique sont des paramètres prépondérants pour la qualité des pièces mises en forme.

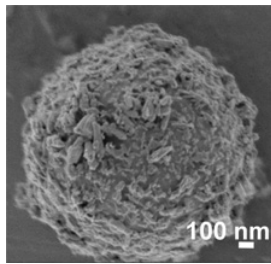
## HÉTÉROCOAGULATION

L'hétérocoagulation à partir de suspensions de phosphates de calcium (CaP) et d'un agent porogène de taille calibrée (microbilles de polymère) permet d'élaborer des céramiques à microporosité contrôlée et interconnectée [8]. Le rapport de taille des particules CaP/polymère doit être très élevé pour permettre la formation de structures core-shell (Fig. 2) et *in fine* d'une céramique microporeuse homogène (Fig. 3).

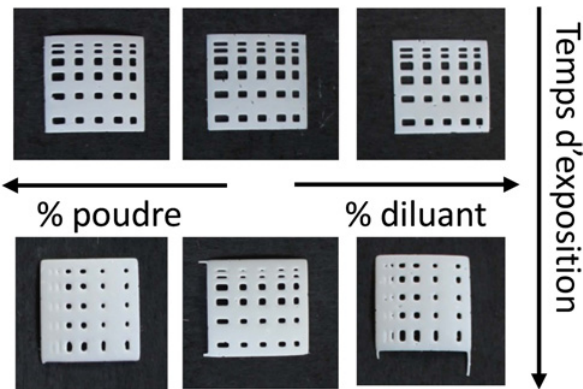
La difficulté réside dans le contrôle de la dispersion et la mise en suspension stable en d'une poudre nanométrique de phosphate de calcium ( $\approx 50 \text{ nm}$ ) et de billes polymère micrométriques ( $\approx 5 \mu\text{m}$ ) de charges de surface opposées.

## MICROSTÉRÉOLITHOGRAPHIE

Différentes technologies CAD/CAM de prototypage, telle que la stéréolithographie, autorisent la fabrication de



**Figure 3.** Hétérocoagulation de nanoparticules d'HA (shell) autour d'une microbille de polymère (core).



**Figure 4.** Tests de définition en microstéréolithographie.

pièces de géométrie complexe incluant un réseau de macropores de taille contrôlée ( $>50\ \mu\text{m}$ ). Une voie de développement est de pouvoir mettre en forme des pièces de géométrie complexe à taux de porosité très élevée et formant un réseau d'architecture contrôlée, donc de pouvoir fabriquer des parois fines ce qui est difficilement réalisable par les technologies actuelles. La microstéréolithographie offre un potentiel dans ce domaine. Ici encore la formulation des suspensions (poudre céramique, agents organiques photopolymérisables) revêt une importance capitale. Elle influence directement la définition et la précision géométrique des architectures de pièces comme illustré à la figure 4.

### FRITTAGE

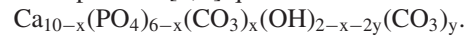
Le frittage, traitement thermique de consolidation et /ou de densification, est une étape cruciale du procédé d'élaboration car il conditionne les caractéristiques chimiques et physiques de cœur et de surface (composition chimique, taille des grains, taille et distribution de la porosité...) qui gouvernent les propriétés mécaniques et biologiques finales des biocéramiques.

L'HA peut être densifiée sans difficulté par frittage naturel. Seule une deshydroxylation peut se produire. Cette réaction est renversable en présence de vapeur d'eau dans l'atmosphère. Dans le cas des apatites contenant des ions en substitution, la stabilité thermique de ces composés est le premier critère à prendre en compte [9].

### APATITES CARBONATÉES OU SILICATÉES

La décarbonatation associée à la décomposition de ces composés se produit à très basse température et

leur frittage nécessite une atmosphère comportant des pressions partielles de  $\text{CO}_2$  et de vapeur d'eau. Dans ces conditions, il est possible de prévoir le domaine de stabilité thermodynamique ( $T$ ,  $P_{\text{CO}_2}$ ,  $P_{\text{H}_2\text{O}}$ ) dans lequel le frittage est possible sans décomposition et de contrôler cette composition [3,9] qui est de la forme :



### APATITES SILICATÉES

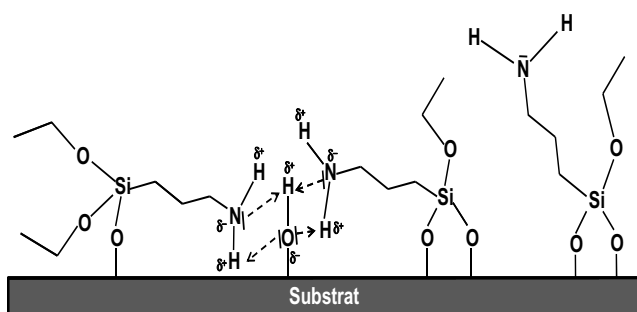
La présence de silicates dans le réseau de l'apatite en diminue la stabilité thermique. Celle-ci est d'autant plus faible que le taux de silicium est élevé [9]. Il apparaît difficile de densifier totalement des apatites silicatées contenant plus de 0,5 mole de silicium par frittage naturel. Des travaux récents ont montré que la présence de vapeur d'eau dans l'atmosphère semble jouer ici aussi un rôle en augmentant la stabilité thermique de ces apatites [6].

### APATITES NANOCRISTALLINES BIOMIMÉTIQUES

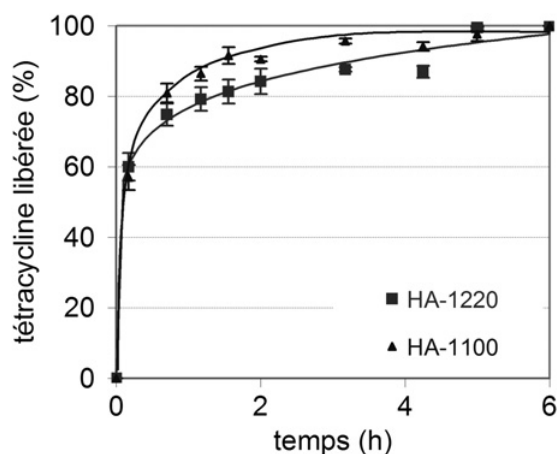
L'intérêt de ces apatites réside dans un degré de très cristallinité faible et dans la présence d'une couche hydratée de surface, ce qui leur confère une grande bioréactivité. Pour fabriquer des pièces cohésives préserver ces caractéristiques un frittage à haute température est exclu. L'utilisation de méthodes frittage flash tel que le Spark Plasma Sintering (SPS) permet de consolider en quelques minutes des apatites à très basse température ( $T = 150^\circ\text{C}$ ) [10]. Cette consolidation s'effectue par un phénomène de «fusion intercrystalline» entre les nanoparticules *via* leur couche hydratée de surface.

### FONCTIONNALISATION

La fonctionnalisation des biocéramiques par des molécules actives peut s'envisager de plusieurs manières, soit indirectement par inclusion dans une couche polymère déposée à la surface de la céramique, soit directement par adsorption en surface de la céramique ou inclusion dans des micropores ou par immobilisation à la surface *via* une liaison covalente. Cette dernière approche est la plus complexe à mettre en œuvre car elle nécessite le greffage de molécules organiques intermédiaires entre la céramique et la molécule active. Elle est envisagée pour conférer aux biocéramiques des propriétés d'ostéoinduction par le greffage covalent à leur surface de peptides dont le rôle sur le processus de formation osseuse est connu [11]. Notre approche consiste à établir des liaisons préférentielles de type Si-O-Si entre des éthoxysilanes et une apatite silicatée pour contrôler le taux de greffage à la surface de la biocéramique. La présence de silicium étant par ailleurs susceptible d'être intrinsèquement favorable à la formation osseuse. L'analyse montre que pour ces greffages, la nature des liaisons céramique-molécule organique dépend de la fonctionnalité du silane (nombre de groupements éthoxy) et que des interactions de plus faible énergie peuvent exister entre les molécules organiques (Fig. 5).



**Figure 5.** Représentation schématique du greffage de silane à la surface du substrat céramique.



**Figure 6.** Cinétiques *in vitro* de libération de tétracycline à partir de céramiques d'HA microporeuses frittées à 1100 °C et 1220 °C (porogrammes donnés Fig. 2).

Pour l'immobilisation de principes actifs, un réseau de micropores interconnectés peut être utilisé [12]. Dans ce cas, la libération du principe actif peut être modulée par la taille des interconnexions comme illustré sur la figure 6.

Les auteurs remercient l'Agence Nationale de la Recherche pour le soutien financier apporté aux projets BiocerPorDDS et NanoBiocer.

## Références

- [1] L.L. Hench, Bioceramics. *J Am Ceram Soc* 1998;81:1705–28.
- [2] S. Raynaud, E. Champion, D. Bernache Assollant, P. Thomas, Calcium phosphate apatites with variable

Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterisation and thermal stability of powders. *Biomaterials* 2002;23:1065–72.

- [3] Lafon JP, Champion E, Bernache-Assollant D. Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}(\text{CO}_3)_y$  ceramics with controlled composition. *J Eur Ceram Soc* 2008;28:139–47.
- [4] M. Palard, S. Foucaud, E. Champion, Synthesis of silicated hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ , *J Solid State Ionics* 2008;181:1950–1960.
- [5] D. Eichert D, C. Drouet, H. Sfihi, C. Rey, C. Combes, Nanocrystalline apatite-based biomaterials: synthesis, processing and characterisation. In *Biomaterials research advances*. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers; 2007, 93–143.
- [6] D. Marchat, M. Zymelka, C. Coelho, L. Gremillard, L. Joly-pottuz, F. Babonneau, C. Esnouf, J. Chevalier, D. Bernache-assollant, Accurate characterization of pure silicon-substituted hydroxyapatite powders synthesized by a new precipitation route. *Acta Biomater* 2013;9:6992–7004.
- [7] S. Rollin-Martinet, A. Navrotsky, E. Champion, D. Grossin, C. Drouet Bone remodeling: a thermodynamic necessity?, *Amer Mineralogist*, accepted for publication.
- [8] R. Chotard-Ghodsnia, S. Lucas, C. Pagnoux, E. Champion, M. Viana, D. Chulia, K. Anselme, T. Chartier, Elaboration of a well-ordered porous bioceramic via a heterocoagulation colloidal process. *Key Engng Mat* 2009;396-398:515–518.
- [9] E. Champion, Sintering of calcium phosphate bioceramics, *Acta Biomater* 2013;9:5855–5875.
- [10] D. Grossin, S. Rollin-Martinet, C. Estournes, F. Rossignol, E. Champion, C. Combes et al. Biomimetic apatite sintered at very low temperature by spark plasma sintering: physico-chemistry and microstructure aspects. *Acta Biomater*, 2010;6: 577–85.
- [11] M. C. Durrieu, S. Pallu, F. Guillemot, R. Bareille, J. Amédée, Ch. Baquey, C. Labrugère, M. Dard, Grafting RGD containing peptides onto hydroxyapatite to promote osteoblastic cells adhesion. *J Mat Sci Mater Med* 2004;15:779–786.
- [12] H Baradari, C. Damia, M. Dutreih-Colas, E. Laborde, N. Pécout, E. Champion, D. Chulia, M. Viana, Calcium phosphate porous pellets as drug delivery systems: Effect of drug carrier composition on drug loading and *in vitro* release. *J Eur Ceram Soc* 2012;32:2679–2690.