

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI TIZI OUZOU

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

THESE DE DOCTORAT

SPECIALITE : chimie des matériaux

Présentée par :
M^{me} Zamoume Ourdia

Sujet :

ETUDE DE SYSTEMES FIXATEURS A LIBERATION PROLONGEE

Devant le jury d'examen composé de :

M ^r HOCINE Smain ;	Professeur ;	UMMTO ;	Président
M ^r MECHERRI Med-Oimar;	Professeur ;	UMMTO ;	Rapporteur
M ^r SHARROCK Patrick;	Professeur ;	UPS, Toulouse;	Co-Rapporteur
M ^r Halem Nacer ;	Professeur ;	UMMTO ;	Examineur
Mr Djelali Nacer-Eddine ;	Professeur ;	UMBB ;	Examineur
M ^r Aliouat Mohamed;	Professeur	UMBB	Examineur
Mme Fiallo Marina;	Professeur ;	UPS, Toulouse;	Invitée

Soutenue le 02 /10 / 2013

Résumé

Résumé

L'objectif de notre travail est d'améliorer les propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses de synthèse, destinée pour substituer un tissu osseux défectueux, en jouant sur deux paramètres : le liant et le renfort. Nous avons utilisé trois types de liants : l'eau, le glycérol et la gélatine en solution aqueuse. La résistance à la rupture en compression des corps verts obtenus a été mesurée et les résultats ont montré que le glycérol est le liant qui permet d'obtenir des corps verts présentant de bonnes propriétés mécaniques en compression. Le glycérol a été ensuite utilisé pour fabriquer des céramiques d'hydroxyapatite poreuses. Les céramiques poreuses obtenues sont très fragiles, nous les avons renforcé avec de la gélatine en solution aqueuse et du PLLA en solution organique. Les essais en compression nous ont permis d'apprécier le rôle bénéfique de ces deux polymères sur les propriétés à rupture. Une résistance à la rupture et un module d'élasticité similaires à ceux de l'os spongieux ont été obtenu dans le cas de la gélatine. Pour se rapprocher de l'os, cortical et/ou spongieux, d'un point de vue structure, composition chimique et propriétés mécaniques, nous avons synthétisé par voie directe dite « solvant casting salt leaching » des composites poreux en utilisant de l'hydroxyapatite et un polymère PLLA. Le pourcentage d'hydroxyapatite dans chaque composite est respectivement de 10, 25, 50 et 80 %. Les résultats d'essai mécanique ont montré que la présence de l'hydroxyapatite dans la matrice polymère améliore la résistance à la rupture et le module d'élasticité en compression du PLLA. La résistance à la rupture en compression des composites poreux est maximale pour 25% d'hydroxyapatite ($2,23 \pm 0,14 \text{ MPa}$), au delà de cette quantité l'hydroxyapatite ne joue plus le rôle de renfort. La cohésion entre la phase minérale (HA) et la phase organique (PLLA) est très faible dans le cas des composites HA/PLLA contenant 80% d'hydroxyapatite. L'étude de la dégradation in vitro des composites HA/PLLA poreux en fonction du temps de vieillissement a montré que l'acidité des produits de dégradation du PLLA diminue avec la présence de l'hydroxyapatite, la porosité des composites augmente et leur résistance à la rupture en compression diminue. Les modèles mathématiques classiques d'Higushi et korsmeyer-peppas ont montré que le relargage de médicament à partir des céramiques d'hydroxyapatite poreuses synthétisées est contrôlé par un mécanisme de diffusion.

Mot clés : Hydroxyapatite, composites HA/PLLA, propriétés mécaniques, relargage de médicament.

Abstract

The objective of our work is to improve the mechanical properties of porous hydroxyapatite ceramics synthesis, intended to replace a broken bone, playing on two parameters: the binder and reinforcement. We used three types of bonds: water, glycerin and gelatin in aqueous solution. The compressive strength of the green body obtained was measured and the results showed that glycerol is the binder that allows to obtain green body with good mechanical properties in compression. Glycerol was then used to fabricate porous hydroxyapatite ceramics. Porous ceramics obtained are very brittle; we have then reinforced it with gelatin in aqueous solution and PLLA in organic solution. The compression tests have allows us to appreciate the beneficial role of these two polymers on the properties at break. A compressive strength and a modulus of elasticity similar to those of the cancellous bone were obtained in the case of gelatin. To get closer to the bone, cortical and / or cancellous, in structure, chemical composition and mechanical properties, we have synthesized by direct route called "solvent casting salt leaching" porous composites using hydroxyapatite PLLA and a polymer. The percentage of hydroxyapatite in each composite was respectively 10, 25, 50 and 80%. The mechanical test results showed that the presence of hydroxyapatite in the polymer matrix improves the compressive strength and modulus of elasticity of PLLA. The compressive strength of the porous composite is maximum for 25% of hydroxyapatite (2.23 ± 0.14 Mpa), beyond this amount, hydroxyapatite does not play the role of reinforcement. The cohesion between the mineral phase (HA) and the organic phase (PLLA) is very low in the case of composite HA / PLLA containing 80% of hydroxyapatite. The study of the in vitro degradation of composite HA / PLLA porous composite depending on the aging time showed that the acidity of the degradation products of PLLA decreases with the presence of hydroxyapatite, the porosity of composites increases and their resistance in compression decreases. The mathematical models of Higushi and Korsmeyer-Peppas have shown that the release of drug from porous hydroxyapatite ceramics synthesized is controlled by diffusion mechanism.

Keywords: Hydroxyapatite, HA / PLLA composite, mechanical properties, drug release

Avant propos

Cette thèse a été réalisée au laboratoire de chimie Bio-inorganique et Médicale de l'IUT de Castres, Université Paul Sabatier, Toulouse III, France. Elle a été financée par le ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique algérien que je remercie vivement. Je tiens à remercier toutes ces personnes qui m'ont aidé à mener à terme ce travail de thèse :

M^r Mohamed Oamar Mecherri, mon directeur de thèse, pour la confiance qu'il m'a accordé en acceptant d'encadrer ce travail de thèse.

M^r Patrick Sharrock et M^{me} Marina Fiallo (professeur IUT de Castres, Université Paul Sabatier, Toulouse III, France) pour avoir accepté de m'accueillir dans leur laboratoire et avoir dirigé mes travaux de thèse. Merci de m'avoir fait profiter de vos connaissances scientifiques, vos conseils et orientations qui m'ont permis d'avancer et finaliser ma thèse. Je ne sais comment vous remercier pour le temps que vous avez consacré à la correction des différentes parties de cette thèse. Merci pour votre patience et générosité.

M^r Gwanaél Renié (Professeur de mathématique, département GCE, IUT de Castres, Université Paul Sabatier, Toulouse III, France), pour son aide compétente concernant la partie modélisation mathématique.

M^{me} Sophie Thibault (Technicienne de laboratoire, Département de Chimie, IUT de Castres, Université Paul Sabatier, Toulouse III, France) pour m'avoir aidé, pendant mes absences, à finir les expériences sur le dosage de médicaments.

Mr Hocine Smain pour avoir accepté de présider le jury.

Mes vifs remerciements vont également aux examinateurs : Djelali Nacer-Eddine, Aliouat Mohamed et Halem Nacer pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon travail en acceptant de l'examiner.

Enfin je tiens à remercier tout le personnel du département de chimie (IUT de Castres) qui a participé de près ou de loin au bon déroulement de mes travaux de recherches.

Tables des matières

ABREVIATIONS	10
SYMBOLES	10
LISTE DES TABLEAUX	11
LISTES DES FIGURES	13
INTRODUCTION GENERALE	15
CHAPITRE I	19
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	19
I.1. LES BIOMATERIAUX.....	21
I.1.1. Domaine d'application des biomatériaux.....	22
I.1.2. Types de biomatériaux en biomédical	22
I.1.2.1. <i>Biomatériaux d'origine non vivante</i>	22
I.1.2.1.1. <i>Les métaux et alliages métalliques</i>	22
I.1.2.1.2. <i>Les polymères synthétiques</i>	23
I.1.2.1.3. <i>Les céramiques</i>	23
I.1.2.2. <i>Biomatériaux d'origine biologique</i>	24
I.2. LES APATITES BIOLOGIQUES	25
I.2.1. Le tissu osseux.....	25
I.2.1.1. <i>Compositions du tissu osseux</i>	25
I.2.1.2. <i>Morphologie du tissu osseux</i>	26
I.2.1.3. <i>Les cellules</i>	28
I.3. REMODELAGE OSSEUX	28
I.4. LES SUBSTITUTS OSSEUX	30
I.4.1. Substituts osseux d'origine humaine (greffes osseuses).....	31
I.4.2. Substituts osseux d'origine naturelle	31
I.4.3. Substituts osseux synthétiques (implants synthétiques)	31
I.4.3.1. <i>Les phosphates de calcium</i>	31
I.4.3.1.1. <i>L'hydroxyapatite</i>	35
I.4.3.2. <i>Influence de la porosité sur les propriétés mécaniques des céramiques phosphocalcique</i>	38

1.4.3.3. <i>Présentation des céramiques phosphocalciques</i>	39
1.4.4. Domaine d'application des céramiques d'hydroxyapatite	39
1.5. COMPOSITE CERAMIQUE -POLYMERE POUR LA SUBSTITUTION OSSEUSE	39
1.6. LES POLYMERES BIODEGRADABLES	42
1.6.1. Le polylactide	42
1.6.1.1. <i>Dégradation des polymères d'acides lactique</i>	43
1.6.2. La gélatine	46
1.7. SYSTEMES A LIBERATION CONTROLEE DE PRINCIPES ACTIFS	46
MATERIELS ET METHODES	48
II.1. POUDRE D'APATITE	50
II.2. MESURE DE LA DENSITE ET DE LA POROSITE DES CERAMIQUES D'HYDROXYAPATITE	50
II.2.1. Densité des corps verts	50
II.2.2. Densité et porosité des céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses	51
II.3. PROPRIETES MECANIQUES-RESISTANCE A LA COMPRESSION AXIALE DES CERAMIQUES D'HYDROXYAPATITE	52
II.3.1. Mesure de la résistance à la rupture	53
II.3.2. Mesure du module d'élasticité ou de Young en compression	54
II.4. COMPOSITES HA/PLLA.....	54
II.4.1. Synthèse des composites HA/PLLA denses et poreux	54
II.4.2. Mesure de la densité et de la porosité des composites PLLA/HA	56
II.4.3. Propriétés mécaniques des composites HA/PLLA.....	57
II.4.4. Etude de la cinétique de relargage du sel NaCl	57
II.4.5. Etude de la cinétique de dégradation des composites HA/PLLA	57
II.5. TECHNIQUES D'ANALYSES	58
II.5.1. Analyse granulométrique.....	58
II.5.2. Spectrophotomètre UV-visible	59
II.5.3. Spectrophotomètre d'absorption atomique	59
COMPOSITES HETEROGENES HA/PLLA	60
III.1. DISTRIBUTION GRANULOMETRIQUE DE LA POUDRE D'HYDROXYAPATITE	61
III.2. SYNTHESE DES CERAMIQUES D'HYDROXYAPATITE	62

III.2.1. Préparation des corps verts	62
III.3. SYNTHÈSE ET PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DES CÉRAMIQUES D'HYDROXYAPATITE	63
III.3.1. Synthèse des céramiques d'hydroxyapatite denses	63
III.3.1.1. Densité et porosité des céramiques d'hydroxyapatite denses ..	64
III.3.1.2. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite denses	65
III.3.2. Synthèse des céramiques d'hydroxyapatite poreuses	67
III.3.2.1. Densité et porosité des céramiques d'hydroxyapatite poreuses	68
III.3.2.2. Propriétés mécaniques des céramiques poreuses	69
III.4. CÉRAMIQUES D'HYDROXYAPATITE POREUSES RENFORCÉES	70
III.4.1. Céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de polymère d'acide lactique	70
III.4.2. Céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine	70
III.4.3. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de PLLA et de la gélatine	70
III.4.3.1. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de PLLA	70
III.4.3.2. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine	73
III.4.4. Variation de la résistance à la rupture en compression, des céramiques renforcées, en fonction de la porosité	76
III.5. CONCLUSION	77
COMPOSITES HOMOGÈNES HA/PLLA	80
IV.1. SYNTHÈSE DES COMPOSITES HA/PLLA	81
IV.1.1. Synthèse des composites HA/PLLA poreux.....	81
IV.1.2. Synthèse des composites HA/PLLA denses.....	83
IV.2. PROPRIÉTÉS PHYSIQUES DES COMPOSITES HA/PLLA	83
IV.2.1. Propriétés physiques des composites HA/PLLA denses	83
IV.2.1.1. Densité	83
IV.2.1.2. Propriétés mécaniques	84

IV.2.2. Propriétés physiques des composites HA/PLLA poreux	86
IV.2.2.1. Densité et porosité.....	86
IV.2.2.2. Propriétés mécaniques	86
IV.3. ETUDE DE LA DEGRADATION IN VITRO DES COMPOSITES HA/PLLA	90
IV.3.1. Variation du pH et de la concentration des ions calcium en fonction temps.....	90
IV.3.2. Perte de masse	93
IV.3.3. Propriétés physiques des composites PLLA/HA	94
IV.3.3.1. Porosité	94
IV.3.3.2. Propriétés mécaniques	95
IV.4. ETUDE DE LA CINETIQUE DE RELARGAGE DU SEL NaCl A PARTIR DES COMPOSITES HA/PLLA, A TEMPERATURE AMBIANTE	96
IV.5. CONCLUSION.....	100
UTILISATION DES CERAMIQUES D’HYDROXYAPATITE POUR LA LIBERATION CONTROLEE DE PRINCIPE ACTIF	100
V.1. CERAMIQUES D’HYDROXYAPATITE ET PRINCIPE ACTIF	104
V.2. INCLUSION DE PRINCIPE ACTIF DANS LES CERAMIQUES D’HYDROXYAPATITE	105
V.3. METHODES UTILISEES POUR ETUDIER LA CINETIQUE DE RELARGAGE	106
V.4. CINETIQUE DE RELARGAGE DE PRINCIPE ACTIF INCLUT DANS LES CERAMIQUES PAR IMPREGNATION	107
V.4.1. Cinétique de relargage du métronidazole	107
V.4.2. Etude de l’influence du type de molécule d’antibiotique sur la cinétique de relargage.....	111
V.4.3. Influence de la porosité sur la cinétique de libération du kétoprofène	112
V.5. CINETIQUE DE RELARGAGE DU PRINCIPE ACTIF INCLUT SOUS FORME DE POUDRE DANS LES CERAMIQUES DE FORME CYLINDRIQUE ET SPHERIQUE	113
V.5.1. Cinétique de relargage du métronidazole.....	113
V.5.2. Cinétique de relargage du chloramphénicol	114
V.6. MECANISMES DE LIBERATION ET MODELES MATHEMATIQUES.....	115

V.6.1. Mécanismes de libération du métronidazole et du kétoprofène inclus dans les céramiques d'hydroxyapatite poreuses par imprégnation	117
V.6.2. Mécanisme de libération du métronidazole inclus dans les céramiques d'hydroxyapatite poreuses sous forme de poudre	121
V.7. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	127
CONCLUSION ET PERSPECTIVES GENERALES	127
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	132
ANNEXES	142
ANNEXE A.....	144
ANNEXE B	147
B.1. ANALYSE PAR SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE	147
B.1.1.Principe.....	147

Abréviations et symboles

Abréviations

HA	Hydroxyapatite
TCP	Phosphate tricalcique
Ca-P	Phosphate de calcium
PLLA	Polymère d'acide L- lactique
PLGA	Copolymère d'acide lactique et glycolique
C	Conductivité
NaCl	Chlorure de sodium
KCl	Chlorure de potassium
P	Phosphore
Ca	calcium

Symboles

R_r	Résistance à la rupture en compression
E	Module d'élasticité en compression
F_{max}	Force maximale
S	Surface
D	Diamètre
ℓ_0	Longueur initiale
ℓ	Longueur finale
σ	Contrainte maximale
ζ	Déformation
ρ	Densité de la céramique
ρ_{th}	Densité théorique
ρ_{exp}	Densité expérimentale
ρ_r	Densité relative
V	Volume de la céramique sans les pores
V_T	Volume totale de la céramique c.à.d. avec les pores
R	Rayon
h	Hauteur
M	Masse de la céramique
m_i	Masse à sec de la céramique
m_f	Masse de la céramique mouillée
V_{eau}	Volume d'eau contenue dans les pores
P	Porosité
G	Conductance
L	Distance entre les plaques
M_i	Masse du composite sans sel
M_v	Masse du composite vieilli

Liste des tableaux

Tableau I.1: Propriétés mécaniques de l'os	27
Tableau II.1: Caractéristiques du polymère PLLA.....	55
Tableau III.1: Densité des corps verts (n=5)	63
Tableau III.2: Densité, porosité et résistance à la rupture en compression des céramiques denses en fonction de la température de frittage (n=5)	64
Tableau III.3: Résistance à la rupture en compression des céramiques denses (n=5).....	66
Tableau III.4: Densité et porosité des céramiques poreuses (n=8).....	68
Tableau III.5: Résistance à la rupture en compression des céramiques poreuses (n=8)	69
Tableau III.6: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des céramiques poreuses renforcées à l'aide de PLLA	71
Tableau III.7: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine	73
Tableau IV.1: Composition, en pourcentage massique, des composites HA/PLLA.....	82
Tableau IV.2: Densité des composites HA/PLLA denses	84
Tableau IV.3: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des composites HA/PLLA denses.....	84
Tableau IV.4: Densité et porosité des composites HA/PLLA poreux avec 50% de porogène	86
Tableau IV.5: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des composites poreux HA/PLLA	87
Tableau IV.6: Constante de vitesse à température ambiante.....	100
Tableau V.1: Quantité de PLLA fixée sur les systèmes HA-métronidazole en fonction de la concentration de la solution de PLLA	108
Tableau V.2: Constantes de vitesse des systèmes (B) et (C).....	111
Tableau V.3: Paramètre cinétiques: k , k_H , R^2 et n selon l'équation de Korsmeyer -Peppas et Higushi, métronidazole.....	119
Tableau V.4: Paramètres cinétiques: k , k_H , R^2 et n selon l'équation de Korsmeyer-Peppas et Higushi, Kétoprofène	119

Tableau V.5: Paramètres cinétiques: k , k_H , R^2 et n selon l'équation de Korsmeyer -Peppas, métronidazole, céramiques C1 et C2.....	122
Tableau A.1: Concentration et absorbance des différentes solutions de métronidazole ...	144
Tableau A.2: Concentration et absorbance des solutions contenant le kétoprofène.....	144
Tableau A.3: Concentration et absorbance des solutions contenant le chloramphénicol	144
Tableau A.4: concentration et absorbance des solutions contenant les ions calcium	145

Listes des figures

Figure I.1: Os cortical et spongieux, arrangement de l'hydroxyapatite carbonatée et du collagène dans le tissu osseux	27
Figure II.1: Essai en compression.....	53
Figure III.1: Distribution en nombre de la taille des particules d'hydroxyapatite	62
Figure III.2: Variation de la densité relative et de la porosité des céramiques calcinées à 800, 900, 1100,1200 °C	65
Figure III.3: Résistance à la rupture en compression des céramiques denses en fonction de la température de frittage	66
Figure III.4: Densité et porosité des céramiques poreuses, frittés à 1200 °C, en fonction de la quantité de porogène.....	68
Figure III.5: résistance à la rupture en compression des céramiques poreuses en fonction de la quantité de gélatine (porogène)	69
Figure III.6: Variation de la résistance à la rupture et du module d'élasticité en compression des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de PLLA	72
Figure III.7: Variation de la résistance à la rupture en compression et du module d'élasticité des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées avec la gélatine.....	74
Figure III. 8: Variation de la résistance à la rupture en compression des céramiques renforcées en fonction de la concentration des solutions de gélatine et de PLLA	75
Figure III. 9: Variation de la résistance à la rupture en compression des céramiques poreuses renforcées à l'aide de la gélatine en fonction de la porosité	76
Figure III.10: Schéma représentant le remplissage des fissures par le polymère (en gris) dans les blocs de céramiques (en blanc).....	77
Figure V. 1: Pourcentage de métronidazole libéré en fonction du temps; céramiques d'hydroxyapatite préparée avec 20% de porogène. Q_t : quantité de métronidazole libéré à l'instant t, Q_0 : quantité de métronidazole introduite dans la céramique de départ..	108
Figure V.2: Pourcentage de métronidazole libéré par les céramiques d'hydroxyapatite poreuses en fonction du temps et du pourcentage de PLLA (systèmes A, B et C) ...	109
Figure V. 3: Profil de libération du métronidazole, systèmes (B) et (C).....	110

Figure V. 4: Pourcentage massique de kétoprofène (en vert) et de métronidazole (en rouge) relargué en fonction du temps par les céramiques préparées avec 20% de porogène	111
Figure V. 5: Pourcentage massique de kétoprofène relargué en fonction du temps à partir des céramiques poreuses préparées avec 0 ; 5 et 20% de porogène	112
Figure V. 6: Pourcentage de métronidazole libéré en fonction du temps à partir des céramiques C1 et C2.....	114
Figure V. 7: Pourcentage de chloramphénicol libéré en fonction du temps à partir des céramiques de forme sphérique	115
Figure V. 8: Pourcentage de métronidazole relargué en fonction de la racine carrée du temps, systèmes (B) et (C).....	117
Figure V. 9: Courbe représentant $\ln(Q_t/Q_0)$ en fonction de $\ln(t)$, métronidazole	118
Figure V. 10: Pourcentage de kétoprofène relargué en fonction de la racine carrée du temps, céramiques préparées avec 0 ; 5 et 20% de porogène.....	120
Figure V. 11: Courbe représentant $\ln(Q_t/Q_0)$ en fonction de $\ln(t)$, Kétoprofène	120
Figure V. 12: Pourcentage de métronidazole relargué en fonction de la racine carrée du temps, céramiques C1 et C2	121
Figure V. 13: Courbe représentant $\ln(Q_t/Q_0)$ en fonction de $\ln(t)$, métronidazole, céramiques C1 et C2.....	122
Figure V. 14: Schéma représentant les deux modes d'inclusion de médicament	123
Figure V.15: Pourcentage de métronidazole relargué, $p(t) = I - I(t)$, en fonction du temps ($\alpha=1$ et $D=0,025$), d'après les modèles mathématiques théoriques A et B.....	127
Figure A.1: Variation de l'absorbance des solutions contenant le métronidazole en fonction de la concentration	145
Figure A. 2: Variation de l'absorbance des solutions de kétoprofène en fonction de la concentration	146
Figure A.3: Variation de l'absorbance des solutions de chloramphénicol en fonction de la concentration	146
Figure A.4: Variation de l'absorbance des solutions contenant les ions Ca^{2+} en fonction de la concentration.....	147

Introduction générale

Introduction générale

Pour maintenir les fonctions mécaniques et métaboliques de notre charpente, l'os se renouvelle chaque année de 10%. Lorsque le renouvellement naturel du tissu osseux n'est pas possible suite à une fracture importante, un traumatisme ou une exérèse de tumeur, les chirurgiens font appel aux greffes osseuses : autogreffes, allogreffes et xenogreffes. Les autogreffes (provenant de la même personne) sont les matériaux de substitution osseuse de référence, mais le prélèvement de ce type de greffons nécessite un deuxième site opératoire, ce qui n'est pas toujours possible en particulier chez les personnes âgées, de même il n'est pas toujours possible d'avoir suffisamment de matériaux lorsque le défaut osseux est important. Les allogreffes (provenant d'une autre personne) et les Xénogreffes (provenant d'autres espèces) présentent aussi plusieurs inconvénients en particulier le risque de transmission virale. Pour palier ces problèmes, des substituts osseux synthétiques ont été développés et constituent une alternative aux greffes osseuses. On parle d'implant pour un composant artificiel (céramique) ou un tissu inerte (os prélevé après extraction de la moelle), et de transplant pour une greffe qui contient des cellules vivantes du donneur.

Les greffes osseuses utilisées dans le passé provenaient majoritairement de banques de tissus, aujourd'hui les recherches se sont orientées vers des substituts osseux synthétiques bioactifs, biocompatibles et biodégradables c'est-à-dire des substituts osseux qui aident l'organisme à réparer le tissu osseux défectueux et qui se dégradent au fur et mesure de sa colonisation par l'os néoformé du patient. Pour être facilement colonisé par le tissu osseux, les substituts osseux doivent être poreux et de porosités variables (micro et macroporosité et porosité d'interconnexions qui est constitué de passages entre les macropores de surface et ceux de l'intérieur). En plus des propriétés biologiques et physico-chimiques que doivent avoir les substituts osseux, leurs propriétés mécaniques doivent être adaptées au site destinataire et leur procédé de synthèse doit être économiquement viable.

Parmi les substituts osseux de synthèse les plus utilisés en chirurgie osseuse on trouve : les céramiques de phosphates de calcium et plus particulièrement les céramiques d'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique. Les céramiques d'hydroxyapatite (HAP, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), connues pour leurs propriétés physico-chimiques très proches de celles de la phase minérale de l'os, sont les matériaux les plus utilisés dans le comblement ou la

réparation osseuse en orthopédie et en chirurgie maxillo-faciale. Elles sont utilisées en blocs de comblement lors de perte osseuse ou comme revêtement à la surface des tiges fémorales. Elles sont utilisées sous forme dense ou poreuse en fonction du site d'implantation (os cortical ou spongieux). Les céramiques d'hydroxyapatite sont bioactives, biocompatibles et ostéoconductrices. Néanmoins, lorsqu'elles sont poreuses, leur application pratique est limitée à leur fragilité et à leur faible résistance qui interdisent leur utilisation dans des zones sollicitées mécaniquement sans ostéosynthèse ou immobilisation particulière. Récemment, des travaux ont été réalisés sur l'amélioration des propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses en utilisant des polymères tels que le polymère d'acide lactique, le PLGA et le poly (ϵ -caprolactone). Les résultats obtenus ont montré que la résistance en compression de ces céramiques augmente en présence de la phase organique (polymère), et que le module d'élasticité des composites varie en fonction du rapport minéral/organique.

Notre contribution à ce domaine consiste à élaborer des céramiques d'hydroxyapatite poreuses et améliorer leurs propriétés mécaniques en les renforçant à l'aide d'un polymère d'acide lactique (PLA) et de la gélatine tout en gardant des porosités. Le choix de ces deux matériaux est basé sur leur biocompatibilité et leurs produits de dégradation qui sont facilement métabolisés par l'organisme. Les céramiques d'hydroxyapatite poreuses ont été fabriquées en utilisant de la glycérine en solution aqueuse comme liant. Ce type de liant permet d'obtenir des céramiques plus denses que lorsque le liant utilisé est l'eau ou une solution de gélatine. Les propriétés mécaniques des céramiques renforcées à l'aide du PLA et de la gélatine ont été étudiées puis comparées à celles de l'os spongieux. Une étude *in vitro* sur l'efficacité de ces céramiques d'hydroxyapatite poreuses à relarguer ou à libérer des médicaments de façon prolongée a été réalisée. Lorsque le relarguage est trop rapide, les céramiques chargées de médicament ont été enrobées avec un film en PLA.

En fait, l'os est un composite biocéramique-biopolymère constitué de fibres de collagène sur lesquelles se déposent des nanocristaux d'hydroxyapatite. La résistance à la rupture des tissus dans l'os est alliée à la résistance à l'étirement du collagène, ce qui confère à l'os sa rigidité. Pour remplacer ou substituer un tissu osseux défectueux, des matériaux composites céramiques/polymères sont développés ces dernières années, le but est de fabriquer un os artificiel possédant des propriétés mécaniques, chimiques et

biologiques proches de celles de l'os vivant. In vivo, l'os artificiel doit supporter la charge à laquelle il est soumis, pour cela il doit avoir un module d'élasticité, une résistance à la rupture et au choc ainsi qu'une ténacité appropriée. De plus, pour permettre aux cellules osseuses de s'attacher et croître pour former un nouveau tissu osseux (os néoformé), la matrice artificielle doit être bioactive et de préférence biorésorbable. Différentes méthodes et composés ont été utilisés pour fabriquer des matériaux composites pour la substitution osseuse, chacun de ces matériaux a ses avantages et ses inconvénients. Dans notre cas, pour fabriquer nos composites, nous avons choisi la méthode dite de « solvant casting salt leaching », de l'hydroxyapatite biphasique (mélangée au phosphate tricalcique) comme céramique et le polymère d'acide lactique (PLLA) comme phase organique. La méthode « solvant casting salt leaching » permet d'obtenir des matériaux à porosité interconnectée.

Nous avons dans un premier temps synthétisé des composites HA-PLLA denses afin de s'intéresser qu'à l'influence de la quantité d'apatite sur les propriétés mécaniques du PLLA, ensuite nous avons étudié l'influence de l'apatite sur les propriétés mécaniques du PLLA en présence de la porosité (créer avec du sel NaCl). La porosité est un paramètre très important pour un substitut osseux, elle permet la colonisation du matériau par les cellules osseuses. Les propriétés mécaniques de ces deux types de composites ont été étudiées et comparées à celles de l'os cortical et spongieux. La cinétique de dégradation des composites poreux a aussi été étudiée et l'influence du temps de vieillissement in vitro sur leurs propriétés mécaniques a été déterminée.

Nous avons, enfin, utilisé les céramiques d'hydroxyapatite pour élaborer des composites poreux synthétiques. Nous avons pu déterminer le renforcement des céramiques par les phases organiques PLLA et gélatine puis nous avons pu étudier leur capacité à libérer des médicaments de façon contrôlée.

Chapitre I

Etude bibliographique

Cette partie de travail est consacrée à des rappels bibliographiques sur les biomatériaux en général et ceux utilisés pour la substitution osseuse en particulier. Nous exposons dans un premier temps les propriétés physico-chimiques des apatites biologiques (composant minéral principal du tissu osseux) puis celles des biomatériaux en phosphates de calcium de synthèse et plus particulièrement l'hydroxyapatite (HA). Nous nous intéressons ensuite à la description des propriétés physico-chimiques de deux matériaux polymères : PLLA (polymère de synthèse) et gélatine (polymère naturel), utilisés pour la fabrication de matériaux composites Ca-P/PLLA et Ca-P/Gélatine appliqués en chirurgie osseuse. Les travaux réalisés sur les méthodes utilisées pour renforcer les céramiques d'hydroxyapatite poreuses et les matériaux composites à base d'hydroxyapatite et de polymères biodégradables sont détaillés. Nous terminons ce chapitre par une revue de la littérature sur les systèmes à libération contrôlée de médicament à base d'hydroxyapatite et de polymère, deux matériaux que nous avons utilisés pour élaborer nos systèmes à libération contrôlée.

I.1. Les biomatériaux

Les biomatériaux ont été développés afin de préserver l'intégrité et le confort de vie des personnes souffrant de déficiences fonctionnelles graves, ou victimes de blessures. Leur développement a pour objectif la fabrication de dispositifs d'assistance corporelle capables de suppléer les fonctions des organes lésés. Les biomatériaux recouvrent une grande variété d'applications médicales puisqu'ils peuvent être à la fois des matériaux de réparation des lésions tissulaires, des matériaux implantables et être constitutifs de systèmes d'assistance extra corporelle.

Les biomatériaux ne se définissent pas par une nature particulière, mais par l'usage auquel on les destine : ils regroupent aussi bien des matériaux issus du génie de l'homme (métaux, alliages métalliques, céramiques, plastiques) que des matériaux d'origine naturelle (collagène, cellulose), mais aussi des matériaux d'un nouveau type associant l'un des matériaux précités à une matrice biologique (facteurs de croissance, cellules osseuses).

Selon la définition du consensus de Chester (1991), les biomatériaux sont des matériaux destinés à être en contact avec les tissus vivants et/ou les fluides biologiques pour évaluer, traiter, modifier les formes ou remplacer tout tissu, organe ou fonction du corps. Les biomatériaux sont différents des médicaments, ils n'ont pas besoin d'être métabolisé pour être actifs.

Les biomatériaux doivent être bio-fonctionnels et biocompatibles. La biocompatibilité représente la capacité d'un matériau à entrer en contact avec les tissus vivants et les fluides biologiques afin de traiter, de modifier ou de remplacer la région lésée sans entraîner d'effets chimiques indésirables (toxicité, réactions inflammatoires....) à l'intérieur de l'organisme. Les biomatériaux sont dit bio-fonctionnels lorsque leur utilisation permet à l'organisme de recouvrir sa fonction principale comme par exemple la motricité dans le cas des prothèses de hanche, de genou et de l'épaule.

1.1.1. Domaine d'application des biomatériaux

Les domaines d'application les plus importants des biomatériaux sont : Ophtalmologie, Odontologie-stomatologie, Chirurgie Orthopédique, Cardiovasculaire, Urologie, Endocrinologie, Chirurgie esthétique, Chirurgie générale. En chirurgie orthopédique, les biomatériaux sont utilisés dans des situations cliniques très diverses : Comblement de défauts osseux après curetage ou résection tumorale, fusion osseuse lors d'arthrodèse vertébrale ou encore restauration parodontale.

1.1.2. Types de biomatériaux en biomédical

Les biomatériaux utilisés dans le domaine médical peuvent être d'origine non vivante (métaux, céramiques, polymères de synthèse) ou d'origine biologique (végétale ou animale).

1.1.2.1. Biomatériaux d'origine non vivante

1.1.2.1.1. Les métaux et alliages métalliques

Ce sont les premiers matériaux utilisés pour fabriquer des implants. Les métaux sont utilisés à l'état pur tels que : Ag, Pt, Zr, Ti ou sous forme d'alliage métallique comme l'acier inoxydable, les alliages cobalt-chrome, cobalt-molybdène. Les plus utilisés en

chirurgie orthopédique sont : l'acier inoxydable dont l'intérêt réside dans ses propriétés mécaniques et le titane pour ses propriétés de biocompatibilité. Les implants métalliques sont plus intéressants lorsqu'ils sont poreux. La présence de la porosité favorise l'adhésion et la prolifération de cellules humaines [1] contrairement aux métaux sous forme massive qui posent le problème d'intégration dans le tissu osseux. L'ostéointégration des implants métalliques peut être favorisée en utilisant des céramiques de phosphates de calcium comme revêtement. La corrosion est souvent le problème rencontré lors de l'utilisation des implants en métaux et/ou en alliages métalliques [2].

I.1.2.1.2. Les polymères synthétiques

L'utilisation des polymères dans le domaine des biomatériaux est très variée. Ils peuvent être classés en deux catégories suivant qu'ils sont biostables ou biodégradables. Les premiers sont utilisés pour aide permanente comme les prothèses et les organes artificiels et les seconds sont utilisés pour aide temporaire comme les sutures. La notion d'aide temporaire repose sur la capacité des systèmes vivants à s'auto-réparer. Parmi les polymères biostables on trouve les élastomères tels que la silicone utilisée dans les prothèses mammaires et le ciment de type polyméthacrylate de méthyle (PMMA) utilisé pour la fixation des prothèses de hanche et de genou. Les polymères résorbables ou biodégradables tels que le PLA et le PGA sont utilisés pour la réalisation de matériels d'ostéosynthèse résorbables (vis, broche...) et en chirurgie esthétique (peau artificielle). Ces biomatériaux polymères sont aussi utilisés comme systèmes à libération contrôlée de médicaments [3] et comme implant multifonctionnel.

I.1.2.1.3. Les céramiques

La céramique se définit comme un matériau non métallique, non organique qui a subi un traitement en pression et en température (1100-1300°C) appelé « frittage ». Les céramiques se caractérisent par une température de fusion élevée et un comportement fragile. Les premières céramiques utilisées en clinique sont : l'alumine et la zircone, ils sont utilisés dans les têtes de prothèses de hanche et les implants dentaires. Les plus importantes des biocéramiques sont les céramiques de phosphate de calcium (l'hydroxyapatite et le phosphate tricalciques) et les bioverres. Les céramiques de phosphate de calcium présentent l'avantage d'être ostéoconductrice, c'est-à-dire elles

présentent la capacité à recevoir la repousse osseuse par invasion vasculaire et cellulaire. Les bioverres sont utilisés pour la réparation des osselets de l'oreille, des vertèbres, comme revêtement des alliages métalliques ou sous forme de blocs pour la réparation et la reconstruction osseuse.

1.1.2.2. Biomatériaux d'origine biologique

Composé de biomatériaux d'origine végétale comme le corail ou d'origine animale tel que : ivoire, dent, collagène et chitine.

Selon la réaction biologique et le type d'interface créée entre l'implant et l'os environnant, les biomatériaux peuvent être classés en trois catégories [4]:

Les matériaux biotolérés: ils sont entourés par une capsule fibreuse: c'est le cas des alliages chrome cobalt, d'acier inoxydable ou des ciments acryliques. Ils ne sont pas adaptés pour un long séjour en milieu biologique, car à long terme, ils peuvent être néfastes à l'organisme.

Les matériaux bioinertes: ils sont en contact direct avec l'os néoformé, c'est le cas des céramiques en alumine ou de zirconium. Ces matériaux sont caractérisés par une absence de nocivité même après une longue période d'implantation.

Les matériaux bioactifs: ce sont des matériaux qui peuvent produire de véritables ponts ostéogéniques avec l'os néoformé: c'est le cas des produits d'origine biologique (corail, greffes osseuses) et synthétiques (bioverres, vitrocéramiques, céramiques phosphocalciques). In vivo, la bioactivité des biomatériaux s'explique par la formation d'une couche d'hydroxyapatite carbonatée à leur surface, cette couche est chimiquement et structurellement équivalente à la partie minérale de l'os.

Les biomatériaux peuvent être résorbables ou non. Les premiers sont destinés à substituer un tissu ou une fonction temporairement défaillante, ils sont progressivement remplacés par les tissus vivants après une période variant entre quelques semaines à

quelques mois. Les seconds peuvent jouer un rôle temporaire (fixation de fracture) ou définitif. Les biomatériaux de réparation osseuse sont utilisés pour deux objectifs: remplacer la partie osseuse endommagée ou la substituer et régénérer l'os. La substitution osseuse est le rôle joué par les céramiques bioactives comme les phosphates de calcium et les bioverres. Les phosphates de calcium sont les matériaux de choix pour substituer les tissus osseux endommagés, ils présentent une composition et une structure chimique identiques à la phase minérale de l'os. Nous nous intéressons au cours de ce travail aux matériaux de substitution osseuse à base de phosphate de calcium. Avant de parler des biocéramiques de phosphates de calcium, nous traitons les phosphates de calcium biologique, constituant principale du tissu osseux.

I.2. Les apatites biologiques

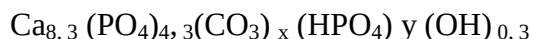
I.2.1. Le tissu osseux

Le tissu osseux est un tissu spécialisé, caractérisé par sa dureté et sa rigidité. Il est en perpétuel remaniement, capable de s'auto-réparer, d'adapter sa masse, sa forme et ses propriétés intrinsèques à des modifications d'ordre biomécanique, de supporter des activités physiques tout au long de la vie sans pour autant se fracturer. Il est le support mécanique essentiel du squelette et assure la protection des organes internes. Le tissu osseux est un réservoir de sels minéraux, en particulier de calcium et contribue ainsi à la régulation de la composition des fluides extracellulaires via le calcium ionisé [5].

I.2.1.1. Compositions du tissu osseux

Le tissu osseux est constitué de cellules et d'une matrice extracellulaire. La matrice extracellulaire est composée de 70 % de la phase minérale (inorganique), 20% de constituants organiques et 10 % d'eau. Cette répartition pondérale est approximative puisque les éléments constitutifs de l'os restent constants alors que leur proportion dépend de la nature de l'os, du sexe, de l'âge et de l'alimentation.

La phase minérale de l'os est constituée de hydroxyapatite biologique : c'est une apatite carbonatée non stœchiométrique, en grande partie amorphe qui présente des sites cationiques lacunaires. On peut la représenter par la formule suivante:



Avec : $x+y= 1,68$.

La phase minérale comprend, en pourcentage massique, les éléments suivants : Calcium (35,5 %), Phosphore (17,1 %), Carbonate (8,0 %), Sodium (1,1 %), Magnésium (0,9 %) et Fluor (0,015 %), chlore (0,1 %), Silicium (0,04 %), Soufre (0,6 %) [6,7].

La matrice organique est formée de 90 % de collagène de type I sur lequel se développe des nanocristaux d'hydroxyapatite carbonatée de 50 nm de longueur, 25 nm de large et de 2 à 5 nm d'épaisseur. et 10 % d'autres protéines non collagéniques, en grande partie de l'ostéocalcine, l'ostéopontine et de l'ostéonectine [7,4]. La bonne solubilité des apatites biologique est liée à la dimension de ses cristaux [7]. La fixation des cristaux d'hydroxyapatite entre et sur les fibres de collagène (figure I.1) confère au tissu osseux sa dureté. et sa rigidité [5,8]. En effet, lorsque les sels minéraux sont éliminés de l'os par un traitement à l'acide faible ou un agent chélatant, l'os garde sa forme, mais devient mou et flexible. Si par contre c'est le collagène qui est extrait à l'os, ce dernier va garder sa forme mais devient cassant et fragile [9].

1.2.1.2. Morphologie du tissu osseux

L'os est composé d'une coque externe dure, dense et compacte appelée « os cortical », sa densité est d'environ $1,80 \text{ g/cm}^3$, et d'une partie interne appelé os spongieux ou trabéculaire. L'os spongieux est poreux, sa porosité moyenne varie de 75 à 95 % et sa densité moyenne est de $0,2 \text{ g/cm}^3$ [4] (figure I.1). Les pores de l'os spongieux sont remplis de moelle osseuse. L'os spongieux est plus actif d'un point de vue métabolique et se remodèle plus fréquemment que l'os cortical. Les propriétés mécaniques de l'os spongieux sont nettement inférieures à celles de l'os cortical (tableau I.1). L'os spongieux est constitué de travées osseuses organisées sous la forme d'une hélice, cette architecture spécifique lui confère sa résistance aux contraintes disposées dans les trois plans de l'espace.

Les propriétés mécaniques de l'os varient en fonction de l'âge. En effet, les travaux de Currey et ses collaborateurs ont montré que le module d'élasticité d'un os fémoral de 3 ; 5 et 35 ans est de 7 ; 12,8 ; 16,7 GPa respectivement [10].

Tableau I.1: Propriétés mécaniques de l'os [11, 12]

	Os cortical	Os spongieux
Module de Young (GPa)	12-18	0,2-5
Resistance à flexion (MPa)	50-151	–
Resistance à compression (MPa)	130-180	4-12
Ténacité à fracture ($\text{MPa.m}^{1/2}$)	6-8	–

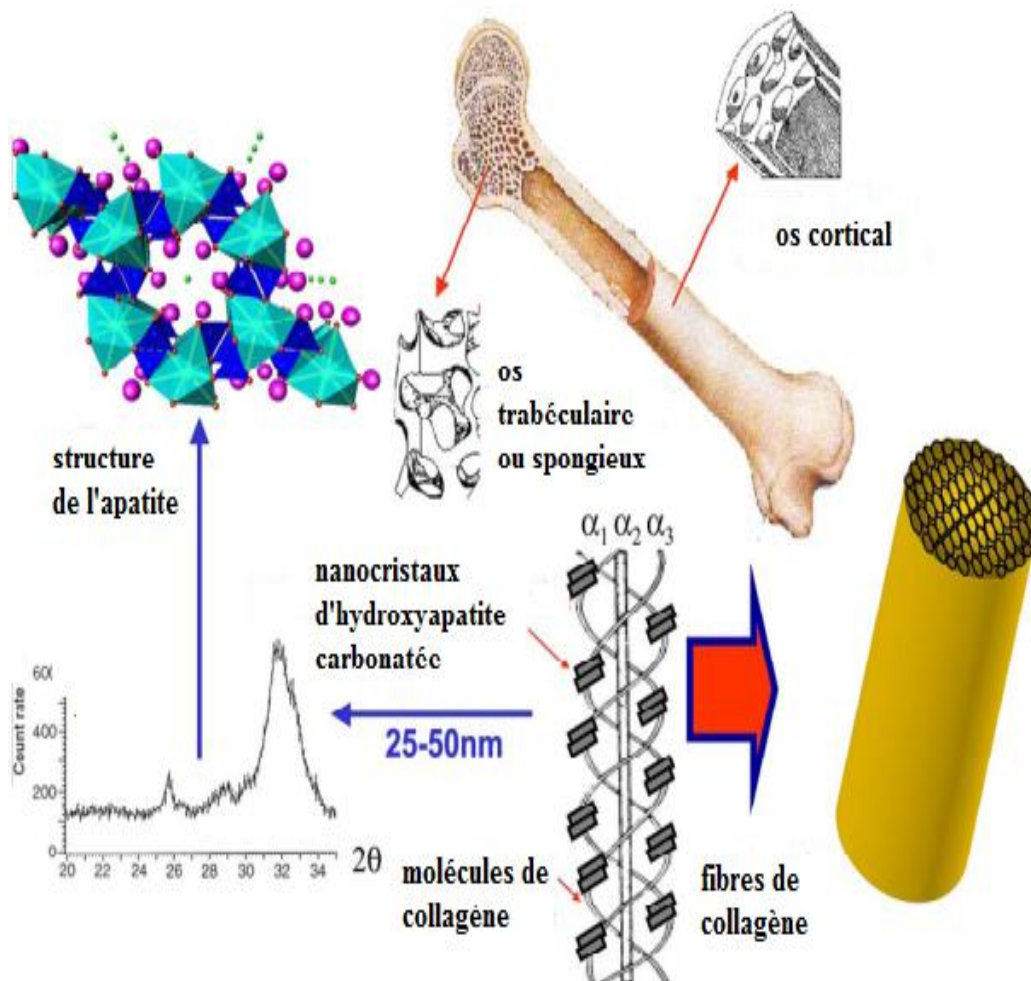


Figure I.1: Os cortical et spongieux, arrangement de l'hydroxyapatite carbonatée et du collagène dans le tissu osseux [7]

1.2.1.3. Les cellules

Au niveau cellulaire, l'os contient trois types de cellules essentielles: ostéoblastes, ostéoclastes et ostéocytes [4].

1. *Les ostéoblastes* : Ce sont des cellules responsables de la formation osseuse. Elles se situent à la surface du tissu osseux en cours de formation. Sa fonction essentielle est de synthétiser du collagène de type I, des glycoprotéines (ostéopontine, ostéocalcine..) et des facteurs de croissance et de minéraliser la matrice organique osseuse. Les ostéoblastes apposent de l'os aux endroits réclamant plus de renfort.
2. *Les ostéoclastes* : Assurent la résorption là où l'os devient inutile dans ses fonctions mécaniques.
3. *Les ostéocytes* : proviennent des ostéoblastes. Ce sont des cellules matures qui maintiennent les activités cellulaires quotidiennes du tissu osseux, notamment, l'échange des nutriments et des déchets avec le sang.

L'ensemble des taux de résorption et de formation, chez un sujet en bonne santé, reste constant et permet la conservation de la masse osseuse.

1.3. Remodelage osseux

Tout au long de la vie et pour garder ses propriétés biomécaniques le tissu osseux doit être renouveler. Ce phénomène de renouvellement appelé «remodelage osseux » a lieu dans des unités de remodelage situées aussi bien dans l'os cortical que dans l'os spongieux. Chez un adulte chaque cycle de remodelage comprend une phase de résorption d'une durée d'une à deux semaines et une phase de formation d'une durée d'environ trois mois. Ce processus est contrôlé par deux types de cellules : les ostéoblastes et les ostéoclastes.

Le processus de remodelage osseux se divise en quatre phases (figure I.2):

➤ **Phase d'activation :** La surface osseuse est normalement recouverte de cellules bordantes qui empêchent l'accès des ostéoclastes à la matrice extracellulaire. Sous l'action de facteurs ostéorésorbant, les cellules bordantes se rétractent et libèrent l'accès aux ostéoclastes qui peuvent adhérer à la matrice osseuse. Les ostéoclastes proviennent de la fusion de pré ostéoclastes issus de précurseurs mononucléés, ce sont des cellules multinucléées, très volumineuses. Les ostéoblastes sont indispensables à la mise en place de la différenciation des précurseurs ostéoclastiques en pré ostéoclastes puis en ostéoclastes et enfin en ostéoclastes actifs.

➤ **Phase de résorption du tissu osseux :** Chaque ostéoclaste devenu actif se fixe à la matrice sur le lieu de résorption et la phase de résorption de la matrice commence. Elle s'effectue en deux étapes successives : dissolution de la fraction minérale qui s'effectue par un abaissement local du pH au voisinage de 5, dû à la libération extracellulaire de protons sous l'action de l'anhydrase carbonique et dégradation de la matrice organique.

➤ **Phase d'inversion :** Quand les ostéoclastes ont fini de creuser une lacune, ils meurent par apoptose et sont remplacées par des macrophages qui lissent le fond de la lacune.

➤ **Phase de formation du tissu osseux :** Elle comporte deux étapes principales qui sont : la production de la matrice extracellulaire par les ostéoblastes et sa minéralisation. Des hormones notamment les ostrogènes, les androgènes, la vitamine D et de nombreux facteurs de croissance sécrétés par les ostéoblastes tel que : FGF2, TGFB, IGF et les BMP stimulent la production de la matrice osseuse.

➤ **Phase de quiescence :** Cette phase de repos, dans les conditions normales, peut être longue et durer des années. Elle se caractérise par la présence de cellules bordantes recouvrant la majorité de la surface osseuses empêchant ainsi l'accès de cette surface aux ostéoclastes.

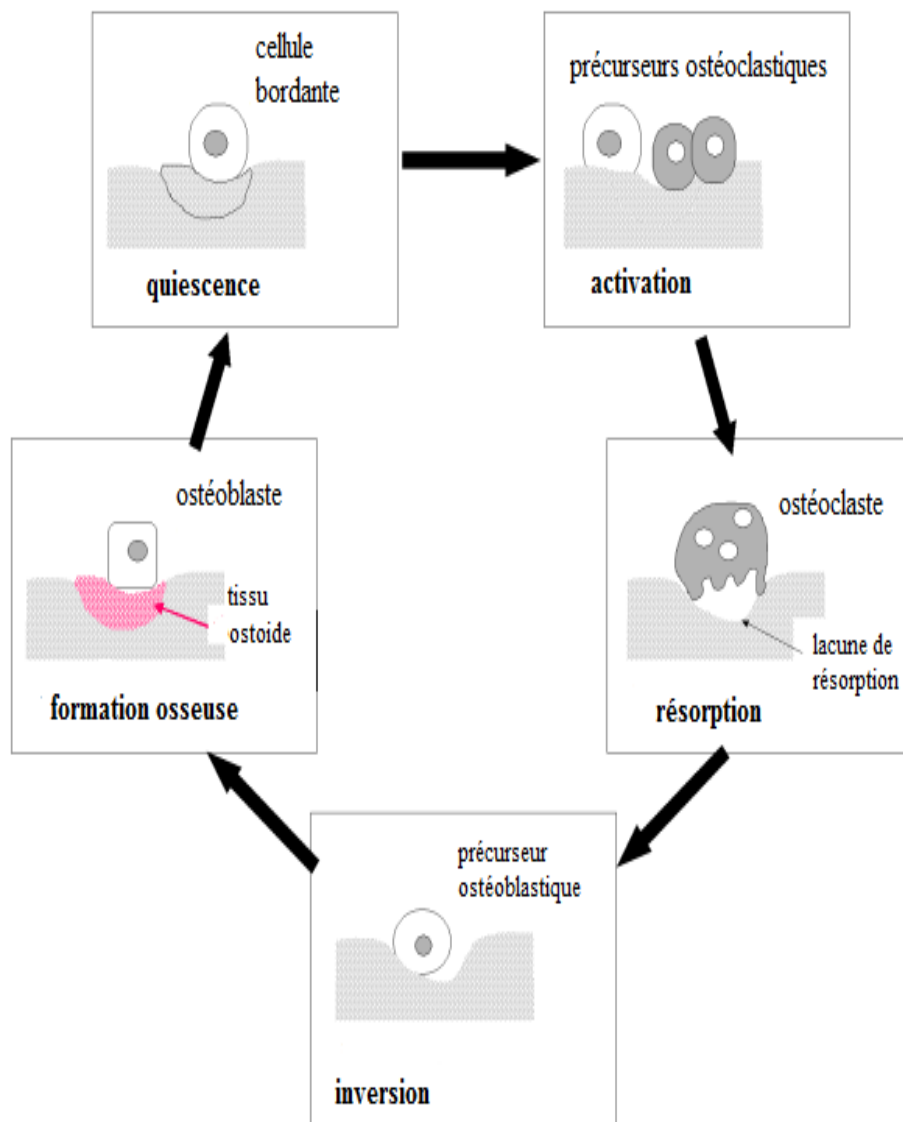


Figure I.2: Représentation schématique de différentes phases de remodelage osseux

I.4. Les substituts osseux

Lorsque le remodelage du tissu osseux n'est pas possible suite à une fracture, un traumatisme avec perte de substance osseuse ou exérèse d'une tumeur bénigne, des matériaux de substitution appelés « Substituts osseux », d'origines humaines, naturelles ou synthétiques, sont utilisés.

1.4.1. Substituts osseux d'origine humaine (greffes osseuses)

Il existe deux types de substituts osseux d'origine humaine: les autogreffes et les allogreffes. Les autogreffes proviennent du sujet lui-même et les allogreffes proviennent d'un individu de la même espèce. L'utilisation de ces deux produits pose beaucoup de problèmes. Dans le premiers cas, le produit n'est pas disponible en quantité suffisante et le risque de complications septiques et de douleurs supplémentaires chez le patient est inévitable. Dans le deuxième cas, le produit est disponible en quantité suffisante (banque d'os) mais présente le risque de contamination virale (Hépatite, HIV....). Les substituts osseux peuvent aussi provenir d'un individu d'une espèce différente (animaux généralement d'origine bovine), ils sont appelé « Xénogreffes ». L'avantage de ces matériaux réside dans leur structure poreuse interconnectée et leur propriétés mécaniques importantes mais présentent eux aussi le risque de contamination par les prions (agents protéiques).

1.4.2. Substituts osseux d'origine naturelle

Parmi les substituts osseux d'origine naturelle on trouve le corail, les polymères naturels tels que : le collagène, le chitosane et la chitine.

1.4.3. Substituts osseux synthétiques (implants synthétiques)

1.4.3.1. Les phosphates de calcium

Bien que les greffes osseuses puissent permettre de restaurer le tissu osseux, ils possèdent toutes des limitations. Les complications liées à l'utilisation de ces greffes osseuses ont vite guidé les chirurgiens vers la recherche d'autres solutions qui sont « les substituts osseux de synthèse », en particulier des céramiques de phosphates de calcium. Les céramiques de phosphate de calcium les plus intéressantes sont celles qui ont une structure macroporeuses. La macroporosité permet la colonisation osseuse et la néo-vascularisation jusqu'au cœur du biomatériau.

La macroporosité est crée par ajout d'un agent porogène tels que : le sel NaCl, le sucre, le saccharose et les billes de naphthalène [13], de la gélatine en poudre ou sous forme d'éponge [14], du H₂O₂ par formation d'une mousse [15]. La macroporosité est un facteur déterminant de la repousse osseuse en profondeur. La taille minimale des macropores

admise dans la littérature est de 100 μm . La présence de la macroporosité dans les céramiques de phosphate de calcium favorise leur réhabilitation osseuse [16] et leur dégradation, en particulier dans le cas des céramiques très peu résorbables tel que l'hydroxyapatite [17,18]. La taille des pores joue un rôle important en terme de colonisation osseuses, en effet plus la taille des pores est grande meilleure est la colonisation osseuse.

Contrairement à la macroporosité, la microporosité existe déjà dans le matériau, elle est définie par le vide laissé entre les particules après séchage. La taille des micropores est très réduite (1 à 10 μm). La quantité de micropores ouverts (accessibles), dite aussi porosité ouverte, dépend de la quantité et du type de liant utilisé et de la température de frittage [19,20]. La microporosité peut être, de même, créée en utilisant un porogène dont les particules sont très fines comme par exemple de la farine [20]. La microporosité permet le déplacement des fluides biologiques au sein du matériau et la taille des micropores ne permet pas une colonisation par les cellules. Il existe un troisième type de porosité, il s'agit de la porosité d'interconnexion. Cette porosité est caractérisée par la présence de passages entre les macropores de surface et ceux en profondeur pour permettre une colonisation abondante et profonde de la céramique.

Les substituts osseux en céramiques de phosphate de calcium possèdent des propriétés intéressantes, ils sont biocompatibles, bioactives, ostéo-conducteurs et bio-fonctionnels :

1. **La biocompatibilité :** les céramiques de phosphates de calcium sont parfaitement tolérées par l'organisme hôte, elles n'induisent pas de réaction à corps étrangers, ni d'immunogénicité, ni de toxicité systémique.
2. **La bioactivité :** Les céramiques de phosphate de calcium sont bioactives, cette dernière s'exprime par l'existence des échanges biologiques entre la céramique et les tissus vivants environnants. Dans les micropores, ces interactions sont limitées aux fluides biologiques, ils aboutissent aux phénomènes de dissolution-précipitation à partir des ions provenant de la dissolution de la

céramique et de ceux présents dans les fluides biologiques. Dans les macropores, les interactions entre le matériau et les cellules s'expriment par la dégradation de la céramique qui s'effectue de deux manières : une dégradation extracellulaire par des cellules de type ostéoclastiques et une dégradation intracellulaires par des cellules de lignée macrophagique. Les deux phénomènes : dissolution-précipitation et dégradation-résorption cellulaire mettent en évidence le phénomène de biodégradation des céramiques phosphocalciques.

3. **L'ostéoconduction** : exprime la capacité de la céramique à permettre une croissance osseuse à sa surface ou à recevoir la repousse osseuse grâce à sa porosité. L'ostéoconduction est liée à la présence des macropores au sein de la céramique. Contrairement au phénomène d'ostéo-intégration relatif au matériau bio-inerte pour lesquels l'interface os-implants demeure identifiable, les céramiques phosphocalcique sont étroitement intégré à l'os hôte.

4. **La biofonctionnalité** : Pour que les céramiques de phosphate de calcium soient biofonctionnelles c'est-à-dire remplir la fonction à laquelle elles sont destinées, elles doivent présenter initialement des propriétés mécaniques suffisantes pour conserver la structure poreuse pendant la phase de réhabitation osseuse.

Il existe une famille de phosphate de calcium et chaque composé est caractérisé par son rapport Ca/P. Le nom et la formule chimique des différents phosphates de calciums sont donnés dans le tableau I.2.

Le rapport Ca/P des phosphates de calcium est d'une grande importance, il détermine l'acidité et la solubilité du matériau phosphocalcique. Plus le rapport Ca/P diminue, plus l'acidité et la solubilité augmentent. Pour un rapport Ca/P petit est inférieur à 1, l'acidité et la solubilité sont très élevées, mais on se rapprochant de la stœchiométrie (Ca/P= 1,67) ces deux paramètres diminuent [21]. La solubilité dans l'eau est, par conséquent, la propriété la plus importante des phosphates de calcium car elle permet de prédire leurs comportements in vivo.

La solubilité des phosphates de calcium les plus utilisés comme substitut osseux varie dans l'ordre suivant [12]:

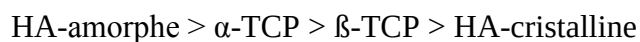


Tableau I.2: Différents phosphates de calcium

Symbole	Nom	formule	Ca/P
TTCP	Phosphate tetracalcique	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,00
HAP	Hydroxyapatite ;	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2$;	1,67
ACP	Phosphate de calcium amorphe	$\text{Ca}_{10-x} \text{H}_{2x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	
□- TCP	Phosphate tricalcique (α et β)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50
OCP	Phosphate octacalcique	$\text{Ca}_8 \text{H}_2(\text{PO}_4)_6, 5\text{H}_2 \text{O}$	1,33
DCPD	Phosphate dicalcique dihydraté	$\text{CaHPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
DCPA	Phosphate dicalcique anhydre	$\text{CaH}(\text{PO}_4)$	1,00
PPC	Pyrophosphate de calcium	$\text{Ca}_2 \text{P}_2\text{O}_7$	1,00
MCPM	Phosphate monocalcique mono hydraté	$\text{Ca} (\text{H}_2 \text{PO}_4)_2, \text{H}_2 \text{O}$	0,50
PCP	Phosphate mono-calcique anhydre	$\text{Ca} (\text{H}_2 \text{PO}_4)_2$	0,50

La solubilité de α -TCP est très importante, il se dégrade très rapidement par rapport à la cinétique de colonisation osseuse. Seule la forme β -TCP est retenue en chirurgie osseuse. Selon certains auteurs, l'HA présente une cinétique de résorption plus lente et le

β -TCP trop rapide par rapport à celle de la repousse osseuse normale pour le comblement de défauts osseux. C'est pourquoi les mélanges HA- β TCP (appelés phosphate de calcium biphasés ou BCP) ont été proposés par Daculsi et al au début des années 90. La solubilité du phosphate biphasé (BCP), qui est une association de β -TCP et d'hydroxyapatite, dépend du rapport HA/ β -TCP. Elle augmente avec la quantité de β -TCP.

La solubilité des phosphates de calcium dépend, en plus de leur composition chimique, de leur surface spécifique et de la taille des particules qui le constituent [22]. En effet, une poudre d'hydroxyapatite dont les particules sont de l'ordre du nanomètre et de structure faiblement cristallisée présente une bioactivité ou une solubilité proche de celle de l'apatite biologique [23]. Dans le cas des phosphates de calcium de synthèse, la solubilité dépend de la température de frittage. Ainsi, lorsque la température de frittage est faible le matériau préparé est microporeux, sa surface spécifique est élevée et par conséquent sa solubilité augmente. En revanche, lorsque la température de frittage est élevée, la microporosité et la surface spécifique diminuent et la solubilité diminue [24].

1.4.3.1.1. L'hydroxyapatite

L'hydroxyapatite (HA) de formule chimique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, est le phosphate de calcium qui a une composition similaire à celle de la phase inorganique du tissu osseux. Elle est théoriquement composée de 39,68 % en Ca, 18,45 % en P, avec un rapport massique en Ca/P de 2,151 et un rapport molaire de 1,667. Elle est stable en milieu aqueux à pH de 4,2-8,0 comparativement aux autres phosphates de calcium [25].

L'hydroxyapatite est parmi les matériaux les plus utilisés comme implant en orthopédie et en odontologie. Elle est biocompatible et bioactive. Comme substitut osseux, l'hydroxyapatite est souvent associée au phosphate tricalcique afin d'augmenter sa solubilité et ou sa résorption in vivo. La solubilité de l'hydroxyapatite peut être aussi améliorée en la dopant avec des cations tels que le zinc, le strontium ou encore le magnésium qui sont présents naturellement dans l'os [26]. Des études ont montré que les phénomènes de dissolution-précipitation qui ont lieu en périphérie de l'hydroxyapatite dépendent de la cristallinité de la céramique d'hydroxyapatite c.à.d. de sa température du traitement thermique [27], et les particules relarguées pendant la dégradation d'un biomatériau en hydroxyapatite peuvent être plus au moins toxique selon leur forme [28].

L'hydroxyapatite appartient à la famille des apatites. Elle cristallise dans le système hexagonal (groupe spatial est $P6_3/m$) (figure I.3) avec les paramètres cristallographiques suivants : $a = 9,418 \text{ \AA}$; $c = 6,881 \text{ \AA}$ et $\beta = 120^\circ$ [29,7].

Le diagramme de diffraction des rayons X [JCPDS no 9-432] de l'hydroxyapatite est reporté par la figure I.4 et le spectre infrarouge par la figure I.5.

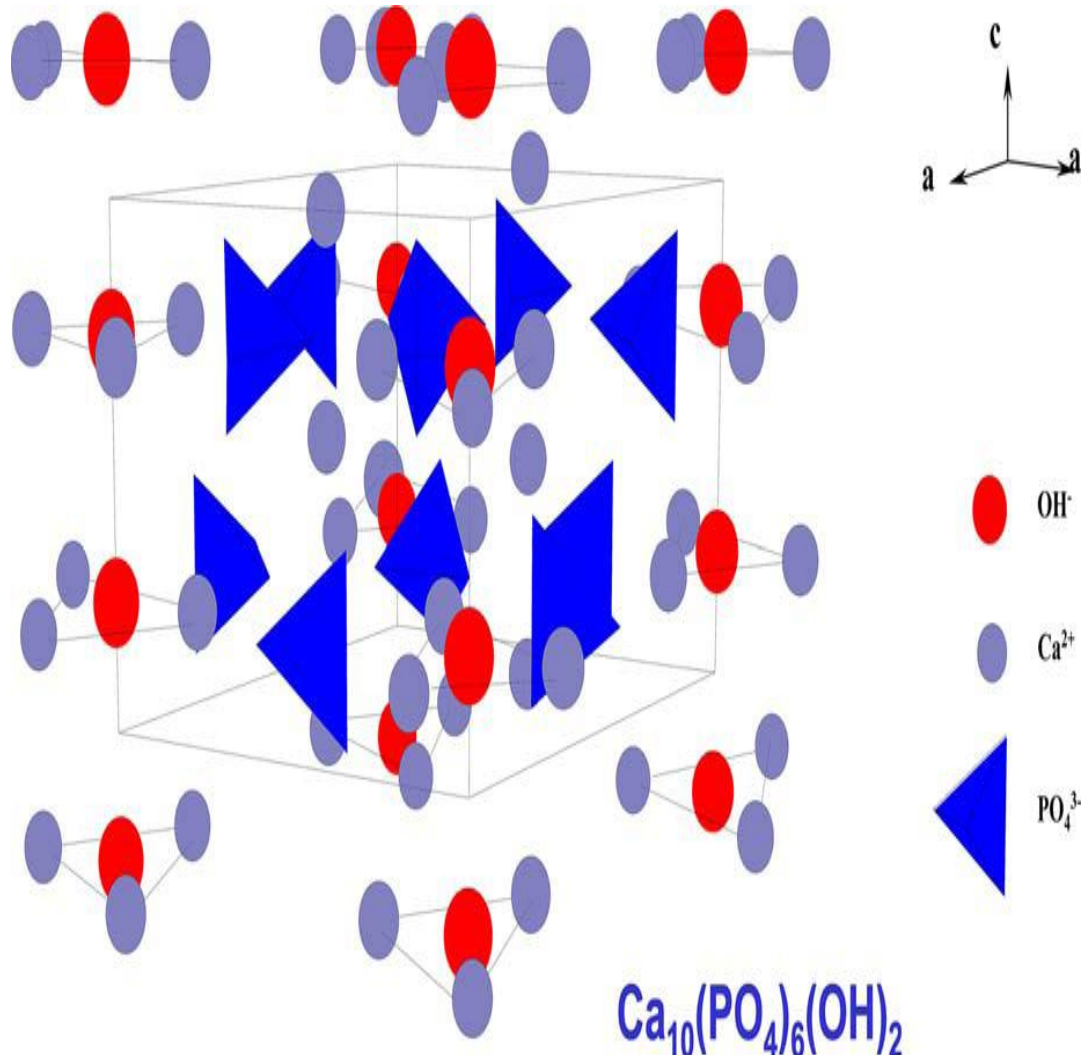


Figure I.3: Structure cristalline de l'hydroxyapatite

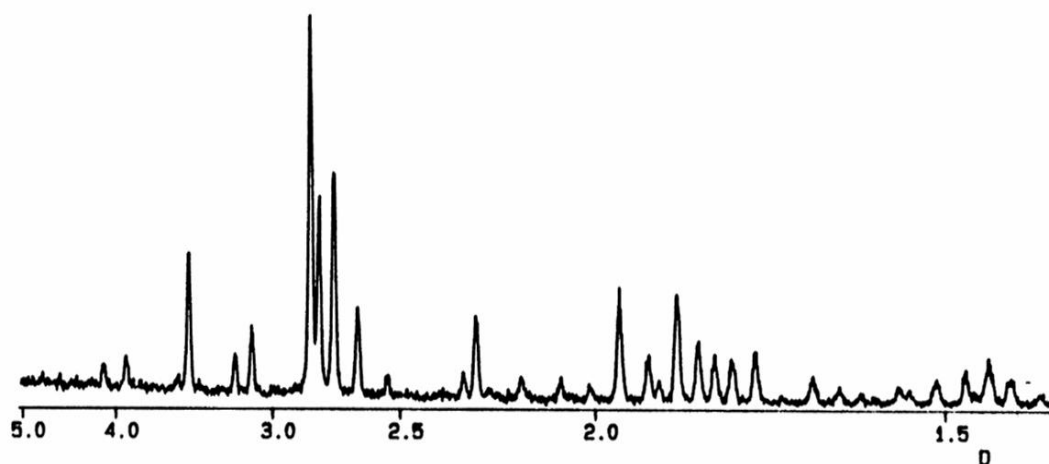


Figure I.4: Diagramme de diffraction des rayons x de l'hydroxyapatite

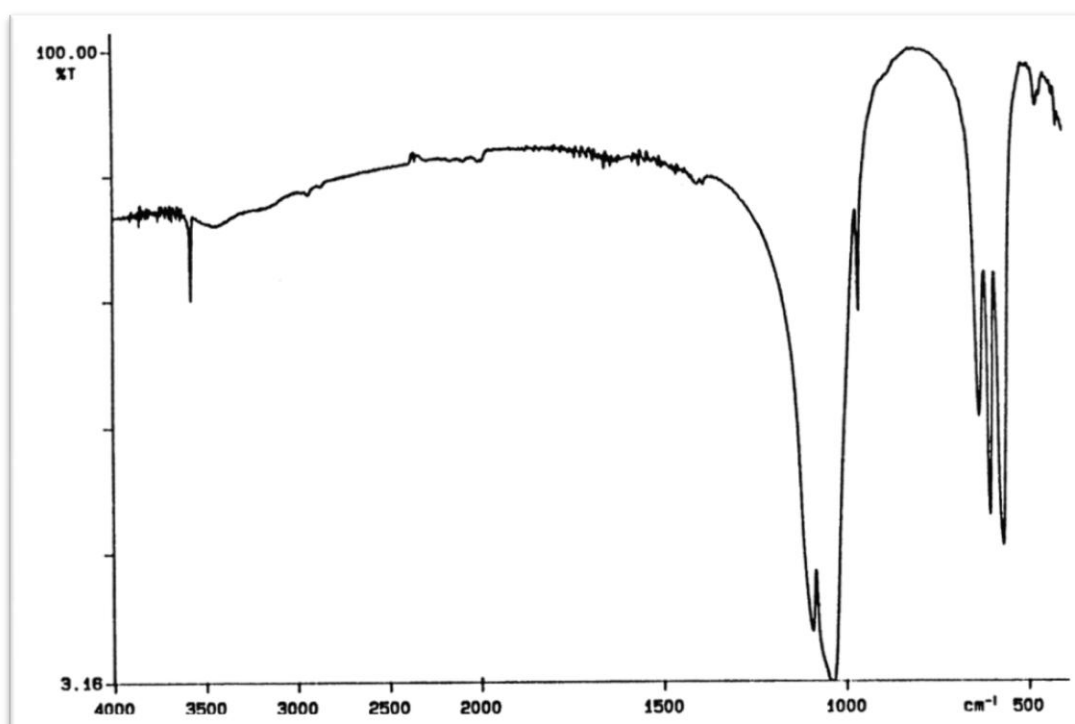


Figure I.5: Spectre IR de l'hydroxyapatite

Les ions OH^- , Ca^{2+} et PO_4^{3-} dans le réseau cristallin de l'hydroxyapatite peuvent être substitué par d'autres ions de même charge ou de charge différente. Cette substitution conduit à une modification des propriétés physico-chimiques de l'hydroxyapatite. On distingue deux types de substitution :

Substitution cationique : elle consiste à remplacer les ions Ca^{2+} par des cations tels que: Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , Sr^{4+} et Mn^{2+} . Néanmoins, les cations de charge différente de celle de l'ion calcium peuvent induire un désordre dans la structure cristalline de l'hydroxyapatite [30].

Substitution anionique : elle se fait sur les groupements phosphates et/ou les groupements hydroxyles. Les substitutions les plus simples et les mieux connues concernent les ions OH^- , qui peuvent être remplacé par des ions F^- , Br^- , Cl^- , pour former la fluorapatite, la bromapatite, la chlorapatite. Les substitutions ioniques jouent sur la bioactivité de l'hydroxyapatite (par exemple, la substitution des ions OH^- par des ions F^- diminue la solubilité de l'hydroxyapatite). Selon le type de traitement, les ions OH^- et PO_4^{3-} peuvent être substitué par des ions CO_3^{2-} conduisant à la formation d'une apatite carbonatée de type A (apatite de haute température) et B (apatite de basse température) respectivement [6, 25]. La substitution par des ions CO_3^{2-} augmente la vitesse d'apposition de l'os au voisinage d'un implant en hydroxyapatite dense [25].

1.4.3.2. Influence de la porosité sur les propriétés mécaniques des céramiques phosphocalcique

Les propriétés mécaniques d'un substitut osseux en phosphate de calcium doivent être adapté au site osseux destinataire, elles sont principalement liées au taux de porosité, mais dépendent aussi du protocole de fabrication : synthèse, introduction de porogène, frittage et évacuation des porogènes [22]. La présence de la porosité dans les matériaux en phosphates de calcium conduit à la diminution des propriétés mécaniques [13]. Des études ont montré que les propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapite poreuse dépendent de la dimension des pores et du degré de porosité. En effet, lorsque la dimension des pores augmente et la quantité de pores est identique, les propriétés mécaniques diminuent. De même pour une taille des pores identiques, lorsque la porosité augmente les propriétés mécaniques diminuent [31,32].

1.4.3.3. Présentation des céramiques phosphocalciques

Les céramiques phosphocalciques sont utilisées sous deux aspects : granulés, sans vertu mécanique, servant au remplissage de toute perte osseuse et des formes plus élaborées (disque, cube, cylindre et bâtonnets), permettant d'apporter un appoint mécanique, uniquement en compression, aux diverses reconstruction osseuses [33]. L'utilisation des céramiques phosphocalciques sous forme de granulés poreux est associée à une ostéosynthèse métallique pour assurer la stabilité [34].

1.4.4. Domaine d'application des céramiques d'hydroxyapatite

Les biocéramiques de phosphates de calcium et en particulier les céramiques d'hydroxyapatite sont actuellement développées pour des applications variées en chirurgie osseuse :

1. Comblement des sites osseux défectueux après curetage ou résection tumorale
2. Revêtement des implants métalliques pour favoriser la repousse osseuse au contact de l'implant et assurer son ostéo-intégration.
3. La fusion osseuse lors d'arthrodèse vertébrale
4. La restauration parodontale.
5. produits vecteurs de certaines substances thérapeutiques.

Les céramiques de phosphate de calcium associées à des polymères sont aussi utilisées pour substituer le tissu osseux, ces matériaux sont appelé « matériaux composites ». Il existe plusieurs types de composites, nous nous intéressons dans la suite de ce travail aux composites céramiques à matrice polymère et polymère à matrice céramiques.

1.5. Composite céramique -polymère pour la substitution osseuse

Un biomatériau composite est un matériau composé d'au moins deux composés non miscibles de nature, de forme, de structures différentes et dont les propriétés individuelles

se combinent et se complètent pour donner naissance à un matériau hétérogène dont les performances globales sont optimisées. Dans le domaine des biomatériaux et en chirurgie osseuse, les composites sont souvent constitués de blocs poreux en phosphate de calcium (hydroxyapatite et phosphate tricalcique) et d'un polymère (PLA, PLGA, PCL...). Le but est d'arriver à développer des matériaux de substitution osseuse similaire à l'os d'un point de vue structure, composition et propriétés mécaniques.

Les composites HA/Polymère sont similaires à l'os, qui est composé d'une hydroxyapatite carbonatée (phase minérale) et du collagène (phase organique).

Un composite biphasique est constitué de deux phases, l'une représente la matrice et l'autre le renfort. La matrice est toujours le composant majoritaire. Les matériaux composites ont l'avantage de combiner les propriétés des matériaux qui le composent. Ainsi, le composite HA/PLA, par exemple, regroupe les propriétés de bioactivité, biocompatibilité et d'ostéoconductivité de l'hydroxyapatite et les propriétés de biodégradabilité du polymère PLA. Les matériaux composites sont facilement usinables, ceci est important afin d'adapter la morphologie de l'implant à celle de la cavité à combler.

L'association de l'hydroxyapatite à un polymère permet d'améliorer les propriétés de résorption de l'hydroxyapatite et de dégradation du polymère. De même, les propriétés mécaniques faibles des polymères biodégradables sont améliorées en présence de l'hydroxyapatite. Des études ont montré que les composites PLLA/ β -TCP sont bioactifs et des cellules ostéoblastiques s'adhèrent parfaitement à leur surface et dans les pores [35].

Les polymères les plus intéressants et les plus utilisés pour fabriquer des substituts osseux composites sont ceux qui sont biodégradables et biocompatibles comme ceux de la famille des polyesters aliphatiques : PLLA et PLGA et dont les produits de dégradation sont facilement métabolisés par l'organisme.

Les composites HA/polymère se divisent en deux types:

- **Composite homogène :** la matrice polymère est chargée de particules d'hydroxyapatite. Les premiers composites ont été développés par Bonfield et ses collaborateurs, ils sont composés d'une matrice en polyéthylène chargée avec de

l'hydroxyapatite micrométrique, le but est d'améliorer les performances mécaniques de la céramique d'hydroxyapatite. Ce composite a été commercialisé sous le nom HAPEX® et utilisé dans des implants pour l'oreille moyenne [36].

- **Composite hétérogène :** La céramique poreuse d'hydroxyapatite est recouverte d'une couche polymère par infiltration. La céramique poreuse est le composant majoritaire (matrice).

Des études récentes ont montré que l'ajout des particules de bioverres et des fibres d'hydroxyapatite (HA) et/ou de la fluorapatite (HAF) augmente les propriétés mécaniques du PLA et de PLGA [37, 38, 39,40]. Le polymère a un effet bénéfique sur les propriétés mécaniques des céramiques poreuses. En effet, lorsque des céramiques d'hydroxyapatite-phosphate tricalcique poreuses sont infiltrées avec un polymère PCL et/ou PLGA, leur résistance à la rupture en compression est améliorée [41, 42,11].

Les travaux de Sandrine et ses collaborateurs [43] ont montré qu'une bonne dispersion de la phase minérale dans la matrice organique permet d'obtenir des matériaux composites de propriétés mécaniques proches de celles de l'os spongieux ou cortical. Le module de Young et la résistance à la rupture en compression des composite n-HA/PLLA denses obtenu par ces auteurs sont comparables à ceux de l'os cortical, ils sont de 6 GPa et 100 MPa respectivement.

Des matériaux composites ayant de bonnes propriétés mécaniques ont été aussi obtenus en modifiant la surface de la phase minérale par greffage. Le greffage conduit à une bonne dispersion de la phase minérale dans la matrice polymère et à une réhabilitation osseuse plus rapide de l'implant [44]. D'autres travaux ont montré que la méthode de synthèse des matériaux composites influe aussi sur la vitesse de régénération osseuse. En effet, un contact intime entre l'implant, les cellules et les fluides biologiques est obtenu lorsque la surface de l'implant contient plus de particules d'hydroxyapatite [45].

Des composites dont la phase organique est sous forme de fibres alignés ont été aussi développés pour mieux se rapprocher de la structure des fibres de collagène dans le tissu osseux [46].

I.6. Les polymères biodégradables

Les polymères biodégradables utilisées pour la substitution osseuses peuvent être d'origine naturelle : collagène, chitine, chitosane, amidon,..., et/ou synthétiques : acide polylactique (PLA), poly (ϵ -caprolactone) (PCL), acide polyglycolique (PGA), etc. Les polymères de synthèse présentent plusieurs avantages ;

1. Ils sont moins chers que les polymères naturels.
2. La forme des implants en polymères synthétiques, leurs porosités et propriétés mécaniques peuvent être choisis en fonction du site destinataire.
3. Ils sont plus disponibles et à des quantités souhaitées.
4. Leur vitesse de dégradation peut être prédéterminée.

I.6.1. Le polylactide

Le polylactide ou le poly (acide lactique) appartient à la famille des polyesters aliphatiques de structure de base suivante :



Il est synthétisé par condensation à partir d'un acide α -hydroxy (l'acide lactique), ou par polymérisation par ouverture de cycle à partir d'un monomère cyclique : le lactide.

Les polymères d'acide lactique sont connus depuis une longue date, ils sont utilisés, en chirurgie, pour la fabrication des fils de suture résorbables et plus récemment pour certains matériels d'ostéosynthèse (vis en particulier) et en pharmacologie pour le piégeage et libération contrôlée de principes actifs. Ils sont biotolérables, biocompatibles et biodégradables, et les produits de dégradation sont éliminés par l'intermédiaire du cycle de Krebs. Ils sont approuvés par la FDA (Food and Drug Administration) [47].

L'intérêt des implants en polymère d'acide lactique réside dans le fait qu'ils ne nécessitent pas une chirurgie supplémentaire pour leur retrait.

Le polymère d'acide lactique existe sous trois formes mésomères : L-PLA(PLLA), D-PLA (PDLA) et D, L-PLA (PDLLA). Les unités de répétition présentes dans les chaînes de PLA peuvent donc être de configurations L et/ou D. Ceci permet d'aboutir à des

polymères ayant des propriétés mécaniques, physiques et biologiques différentes. En effet, un polymère à base de 100 % d'unités L (PLA100) est semi-cristallin alors que celui à base d'un mélange racémique est amorphe [48]. Le PLLA a une cristallinité de 37 %, une température de transition vitreuse (T_g) entre 60 et 65 °C, une température de fusion entre 173 et 178 °C et un module d'élasticité compris entre 2,7 et 16GPa. Le PLLA est hydrophobe, il est insoluble dans l'eau et soluble dans les solvants organiques.

1.6.1.1. Dégradation des polymères d'acides lactique

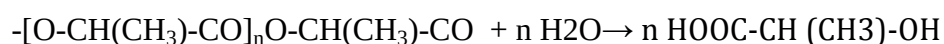
La dégradation des polymères d'acide lactique (PLA) est principalement hydrolytique, elle dépend de [49]:

- l'hydrophilie du matériau c'est à dire de sa capacité à absorber l'eau ;
- son taux de cristallinité : la dégradation est plus importante dans les zones amorphes que dans les zones cristallines, en effet, par exemple, dans le cas du PDLA qui est amorphe, la durée de dégradation est de 12 à 16 mois alors qu'elle est supérieure à 24 mois dans le cas du PLLA cristallin [50] ;
- la masse molaire : la dégradation des petites molécules est favorisée par rapport aux grandes molécules ;
- la structure chimique : les facteurs qui déterminent la capacité de ces polymères à être dégradé sont : les types de liaison des chaines polymères, les groupements fonctionnels, leur position, leur réactivité, les groupes terminaux, etc.

Le pH et la température du milieu de dégradation peuvent aussi influencer sur la capacité des polymères PLLA à se dégrader.

Le paramètre le plus important à prendre en considération pour contrôler la dégradation d'un biomatériau polymère est l'hydrophilie. Ainsi par exemple, la vitesse de dégradation d'un copolymère issu de la copolymérisation entre un glycolide et un lactide peut être prédéterminée en fonction de la proportion de chacun des comonomères. Les propriétés mécaniques de ces copolymères peuvent être aussi adaptées, en fonction du site

receveur [46]. Comparativement au dl-PLA, le copolymère PLGA est plus hydrophile et se dégradent plus vite [51]. La dégradation des polymères d'acide lactique peut durer des mois voir des années [52]. L'hydrolyse des polymères d'acide lactique se réalise par scission des chaînes au niveau de la liaison ester pour former des oligomères puis des monomères d'acide lactique.



Les monomères d'acide lactique sont facilement métabolisés et éliminés par l'organisme sous forme de CO_2 et H_2O [53].

La dégradation des implants en polymère d'acide lactique dépend aussi de leur volume, ainsi lorsqu'ils sont massifs et volumineux, **la dégradation est hétérogène** [54].

La dégradation hétérogène est caractérisée par une dégradation plus rapide à l'intérieur qu'en surface. Pour un même polymère, les implants massifs se dégradent plus vite que les implants plus petits.

Le mécanisme de dégradation hétérogène est une combinaison de deux phénomènes : phénomène de diffusion et réactions chimiques. Ainsi, lorsqu'un polymère d'acide lactique massif (supérieur au mm) est placé dans un milieu aqueux, et que l'eau commence à pénétrer, des liaisons esters sont clivées par hydrolyse, conduisant à la formation des extrémités acide carboxylique qui catalysent la réaction hydrolytique par autocatalyse. Au niveau de la surface l'effet catalytique est supprimé, les extrémités acides carboxyliques sont neutralisés par le milieu tamponné environnant et les produits de dégradation formés à la surface diffusent facilement et se solubilisent dans ce même milieu. En revanche, lorsque les matériaux polymères d'acide lactique sont de très petite taille, **la dégradation est homogène**, les oligomères et/ou monomères sont capables de diffuser vers l'extérieur aussitôt qu'ils deviennent solubles, limitant ainsi l'accumulation des produits de dégradation responsables du phénomène d'autocatalyse dans les matériaux polymères de volume plus grand.

Lors de sa dégradation, le polymère PLA conserve sa forme mais sa résistance mécanique et son poids moléculaire diminuent. La diminution du poids moléculaire et de la

résistance mécaniques du PLA précède la perte de masse car seuls les monomères sont solubles lors de la dégradation [3].

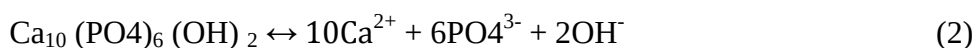
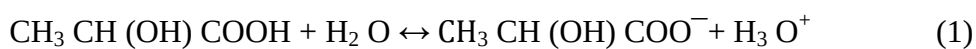
L'acidité des produits de dégradation est l'un des inconvénients liés à l'utilisation des polymères d'acide lactique pour fabriquer des implants. Cette acidité diminue le pH au voisinage de l'implant et provoque des réactions inflammatoires [52]. Néanmoins, l'ajout de charges basiques tel que les phosphates de calcium (TCP et l'hydroxyapatite) peut aider à neutraliser l'acidité liée à la dégradation du polymère. Il a été montré que plus la quantité du β TCP augmente plus l'acidité diminue, de même, la présence du phosphate du calcium dans la matrice polymère stimule d'autant plus la prolifération des cellules ostéogène humaine et la synthèse de la matrice extracellulaire osseuse [55].

L'hydroxyapatite et le phosphate tricalcique sont solubles en milieu acide, basiques en solution et par conséquent peuvent neutraliser l'acidité des produits d'hydrolyse de PLLA. Au cours de la dégradation des composites PLLA/HA et/ ou PLLA/TCP, deux phénomènes peuvent être envisagés [56] :

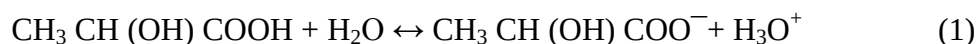
1. Dégradation du PLLA avec une augmentation de la concentration des ions H^+ .
2. Dissolution de l'hydroxyapatite et/ ou du TCP et production des ions calcium basiques qui neutralisent l'acidité des ions H^+ .

Le phénomène de dégradation est illustré par les réactions ci-dessous :

Cas de l'hydroxyapatite :



Cas du phosphate tricalcique



I.6.2. La gélatine

La gélatine est une macromolécule d'origine animale provenant de la dénaturation du collagène. Cette macromolécule renferme un ensemble de fraction protéiques, c.a.d une succession d'acides aminés qui constituent une chaîne polypeptidiques. Elle est biodégradable et biocompatible. La gélatine est un polymère naturel qui n'est pas cher et peut être utilisé largement dans la fabrication des biomatériaux composites de comblement osseux et pour contrôler le relargage de certains antibiotiques tel que la gentamicine [57,58]. Le facteur déterminant de la vitesse de relargage d'un principe actif à partir des matériaux à base de la gélatine est la vitesse de dégradation de cette dernière. La vitesse de relargage peut être contrôlée en réticulant la gélatine par l'intermédiaire de différents agents de réticulation [56]. Parmi les agents de réticulation de la gélatine on peut citer le glutaraldhyde. L'introduction de la gélatine dans une matrice céramique ou la céramique dans une matrice gélatine permet de contrôler la vitesse de dégradation de la gélatine. De plus ces matériaux composites ont l'avantage de combiner les propriétés biologiques, mécaniques et physico-chimiques des deux composés [60].

I.7. Systèmes à libération contrôlée de principes actifs

Les systèmes à libération prolongée de médicaments ont une double fonction : biomatériau et fonction curative. Ils sont destinés à maintenir une concentration thérapeutique suffisante durant une période plus longue que celle obtenus après

administration répétée au cours de la journée d'une dose normale. Ces systèmes ont l'avantage de diminuer les effets secondaires du médicament et d'améliorer la qualité du traitement. Ils doivent être biocompatible, bioresorbable ou non et biodégradable et que les produits de dégradation ne doivent faire preuve d'aucune toxicité. Ils doivent avoir la capacité de libérer le principe actif suivant un mécanisme défini. D'une manière générale, un système à libération contrôlée de principe actif doit remplir les critères suivants [52].

▪ **Capacité de charge** : définie comme étant la quantité de médicament qui peut être incorporé dans le matériau ;

▪ **Distribution du médicament** : le médicament doit être distribué d'une façon homogène au sein du matériau ;

▪ **Affinité** : définie comme étant la capacité du médicament à établir des liaisons avec le matériau, ces liaisons doivent être minimale pour permettre au médicament de se relargué. L'interaction entre le médicament et le matériau diminue la vitesse de relarguage [61];

▪ **Cinétique de relarguage** : doit être contrôlée pour permettre au médicament d'atteindre le site d'action à des doses approprié et à des périodes de temps données ;

▪ **Stabilité** : le médicament incorporé dans le matériau doit être stable chimiquement à la température physiologique, il doit maintenir sa structure et son activité pendant une période de temps prolongée ;

▪ **Solubilité** : le principe actif doit être soluble en milieu biologique ;

La résorption des systèmes à libération contrôlée de principe actif doit être inférieure à la vitesse de libération du principe actif.

Dans le cas des systèmes peu résorbables comme l'hydroxyapatite, le principe actif est libéré par diffusion (**diffusion du principe actif à travers les pores du matériau**). En

revanche, la libération du principe actif est réalisée par érosion dans le cas des polymères non dégradables in vivo (**érosion progressive du matériau conduisant à la libération du principe actif**). La libération est contrôlée par la dissolution dans le cas où le principe actif est peu soluble [62].

Le médicament peut être introduit dans le système sous forme de poudre pendant ou après la fabrication du matériau [63, 64,65] ou de liquide par imprégnation [18,65]. La méthode d'inclusion du principe actif dans le matériau, sous forme de poudre est la plus importante car elle permet d'introduire des quantités plus importantes comparativement à la méthode d'imprégnation [65].

Parmi les matériaux utilisés en dentisterie, en orthopédie et en chirurgie plastique pour la libération contrôlée de principe actif on peut citer: les céramiques et plus particulièrement les phosphates de calcium (l'hydroxyapatite, phosphate tricalcique), les ciments phosphocalciques, les bioverres, les polymères et les matériaux composites à base de céramiques/ polymères [18]. Les céramiques d'hydroxyapatite développées pour la libération contrôlée de principe actif peuvent être micro et macroporeuses et/ou à gradient de porosité [65, 66]. Elles sont utilisées sous forme de sphères ou de cylindres [18,19].

La cinétique de libération dépend d'une part de la quantité de principe actif dans le matériau, de son effet stérique c'est-à-dire du volume de la molécule de principe actif et de la porosité du matériau d'autre part (type et quantité de pores) [67]. Lorsque le relargage est rapide, des polymères biodégradables sont utilisés pour retarder le relargage. Les polymères les plus utilisés sont : le PLLA et le PLGA [42, 65], l'effet retard dépend de la vitesse de dégradation de ces matériaux dans le milieu de relargage [51, 18,19].

ChapitreII

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

Dans le présent chapitre, nous décrivons les différentes méthodes expérimentales utilisées pour préparer les céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses avec et sans renfort, et les composites hydroxyapatite-polymère. Les techniques de caractérisation et d'analyse utilisées sont aussi détaillées.

II.1. Poudre d'apatite

La poudre d'apatite que nous avons utilisée pour préparer nos céramiques a été fournie par MCP (Médical Calcium Phosphate de Toulouse), elle est composée de 70 % d'hydroxyapatite et 30 % de TCP. Nous avons travaillé avec une poudre d'apatite dont les particules sont inférieures à 65µm. Nous avons préparé cette poudre d'apatite au laboratoire par tamisage humide d'une suspension de poudre d'apatite de départ, composé de particules de granulométrie variable, dans l'eau distillée. Après sédimentation, la poudre a été séparée de l'eau puis séchée à l'air pendant 10 jours.

II.2. Mesure de la densité et de la porosité des céramiques d'hydroxyapatite

II.2.1. Densité des corps verts

Pour déterminer la densité des corps vert, nous avons utilisé une méthode géométrique basée sur la mesure du diamètre et de la hauteur de l'échantillon. La densité est le rapport entre la masse et le volume de l'échantillon : $\rho = m/V$ (g/cm³), m : masse de l'échantillon. Nos échantillons sont de forme cylindrique, et le volume d'un cylindre est donné par la formule suivante:

$$V = \pi r^2 h$$

Avec: r le rayon du cylindre et h sa hauteur.

Pour les mesures géométriques, nous avons utilisé un pied à coulisse de précision ($\pm 0,01$) de type Mitutoyo.

II.2.2. Densité et porosité des céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses

La densité et la porosité des céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses ont été déterminées par la méthode suivante: Pour chaque céramique, nous avons mesuré le poids à sec notée m_i . Nous avons ensuite introduit chaque céramique dans un volume d'eau distillée et tiré sous vide pour que l'eau rentre bien dans les pores. La masse de la céramique mouillée est ainsi notée m_f . La quantité d'eau dans les pores est donnée par la différence des deux masses.

$$V_{\text{eau}} = m_f - m_i$$

Le volume de chaque céramique (sans les pores) a été calculé à partir de la densité théorique qui est de $3,156 \text{ g/cm}^3$.

$$\rho_{\text{th}} = m_i/V = 3,156 \text{ (g/cm}^3\text{)},$$

$$V = m_i / 3,156$$

Le volume total de la céramique est : $V_T = V_{\text{eau}} + V$, et sa densité expérimentale est:

$$\rho_{\text{exp}} = m_i/V_T = m_i / (V_{\text{eau}} + V)$$

La porosité de chaque céramique a été déterminée à partir de la densité relative (ρ_r) qui est égale au rapport entre la densité expérimentale et la densité théorique. La porosité est égale à $100 - \rho_r$.

II.3. Propriétés mécaniques-Résistance à la compression axiale des céramiques d'hydroxyapatite

Pour déterminer les propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses, nous avons réalisé des tests de résistance à la rupture en compression. Nous avons mesuré la force ou la contrainte (N/mm^2) en fonction de la déformation (%). Avant de réaliser les tests d'essai mécanique et pour mener à bien ces essais, nous avons procédé à un polissage des éprouvettes afin d'avoir des surface parallèles. Ces essais mécaniques ont été réalisés sur deux types de machines (en fonction de la résistance du matériau): ZWICK-ROELL Z020 et ZWICK-ROELL Z 0,50. Ces machines sont munies d'un capteur de force de 1kN et 500N respectivement et assistées par ordinateur à l'aide d'un logiciel : ZWICK-ROELL test expert V10.11. La vitesse de précharge est de 10 mm/min.

D'une manière générale l'essai en compression est utilisé pour déterminer les contraintes de rupture des matériaux fragiles (béton, céramique...). Il consiste à soumettre une éprouvette de forme cylindrique à deux forces axiales opposées, en la plaçant entre deux plateaux d'une presse (figure II.1). Les normes à respecter lors de la réalisation des ce test concerne la dimension de l'éprouvette. Il faut que sa hauteur soit le double de son diamètre. En effet, lorsque l'éprouvette est trop haute par rapport à son diamètre ($h/d > 3$), il ya risque d'apparition d'une instabilité élastique : le flambage. De même, si des frottements entre les faces d'appui de l'éprouvette et les plateaux de la machine existent, on assistera à une déformation hétérogène (déformation en barillets).

Lors de l'essai en compression, la déformation du matériau en fonction de l'effort appliqué est enregistrée. La courbe contrainte – déformation est constituée de deux partie : une partie élastique et une partie plastique. Dans la première partie la déformation est réversible, le matériau reprend sa forme initiale lorsque la sollicitation est supprimée. Dans la deuxième partie, la déformation du matériau est irréversible, elle augmente jusqu'à la rupture.

L'essai en compression permet de déterminer les caractéristiques suivantes du matériau :

1. Résistance à la rupture en compression exprimée en Pa ou MPa.
2. Le module de Young ou d'élasticité exprimée en MPa ou GPa

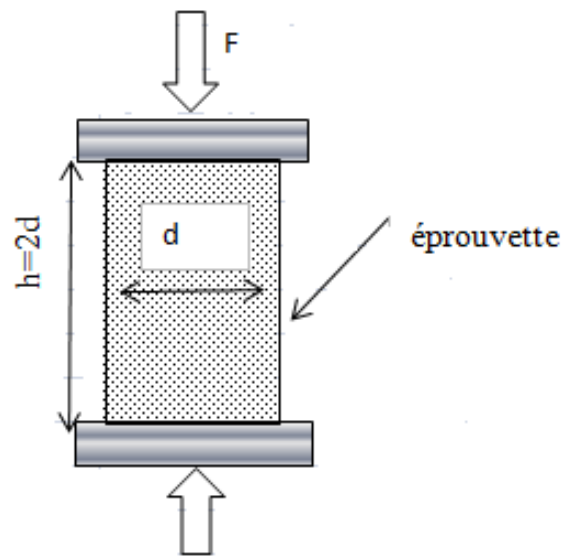


Figure II.1: Essai en compression

Les propriétés mécaniques en compression de nos céramiques d'hydroxyapatite ont été exprimées par la résistance à la rupture et le module d'élasticité.

II.3.1. Mesure de la résistance à la rupture

La résistance à la rupture en compression a été calculée comme suit:

$$R_r \text{ (MPa)} = F_{\max} \text{ (N)} / S \text{ (m}^2\text{)}$$

F est la force maximale à la rupture et S la section ou la surface du cylindre.

La surface de la base d'un cylindre est :

$$S = \pi d^2 / 4$$

Avec d, diamètre du cylindre.

II.3.2. Mesure du module d'élasticité ou de Young en compression

Le module de Young est la constante qui relie la contrainte de compression et la déformation pour un matériau élastique. Thomas Young avait remarqué que le rapport entre la contrainte appliquée aux matériaux et la déformation qui en résulte est constant, tant que cette déformation reste petite et que la limite d'élasticité du matériau n'est pas atteinte. La limite d'élasticité est la contrainte maximale pouvant être appliquée, tel qu'après suppression de la charge, il ne subsiste aucune déformation permanente résiduelle. Un matériau dont le module de Young est très élevée est dit rigide

Le module d'élasticité ou de Young est calculé à partir de la pente à la courbe : Contrainte = f (écrasement en %) (La partie linéaire initiale c.a.d la pente de la droite reliant l'origine au point de la courbe dont l'ordonnée est égale à la moitié de la contrainte maximale).

$$E \text{ (MPa)} = \sigma \text{ (MPa)} /$$

Avec : $\zeta = \Delta\ell / \ell_0$ et $\Delta\ell = \ell - \ell_0$, σ est la contrainte en MPa.

ℓ_0 : longueur initiale, ℓ : longueur finale

II.4. Composites HA/PLLA

II.4.1. Synthèse des composites HA/PLLA denses et poreux

Pour fabriquer nos composites HA-PLA, nous avons utilisé de l'acide poly-lactique commercial (L, D-PLLA) Galastic PABR- L- 68, fourni par Galactic (Brussels Biotech), de la poudre d'apatite fournie par le laboratoire MCP (Médical Calcium Phosphate de Toulouse), du sel porogène (Chlorure de sodium alimentaire) et un solvant organique (le chloroforme technique). Le PLLA est composé de 88 % de l'isomère L, il est obtenu par polymérisation par ouverture de cycle à partir d'un monomère cyclique : L-lactide. La poudre d'hydroxyapatite utilisée est très fine (dimension des particules inférieure à 10 μm), elle est composée de 30 % de phosphate tricalcique (TCP) et 70 % d'hydroxyapatite (HA).

Le porogène est le sel de mer naturel, il est composé de fines et grosses particules. Le même polymère PLLA a été aussi utilisé pour renforcer les céramiques d'hydroxyapatite poreuses synthétisées au cours de la première partie de ce travail. Les propriétés physico-chimiques et mécaniques de ce polymère sont données dans le tableau II.1.

Tableau II.1: Caractéristiques du polymère PLLA

Caractéristiques	Valeurs	Unités
Forme	Granules	-
M_n (CHCl_3)	68,00	Dalton
M_p/M_n	2,78	-
Tg	54,9	°C
Module d'élasticité	3500	MPa
Résistance en traction maximale	48,7	MPa
Elongation à la rupture	8,4	%
Viscosité	100	Pa.

Nous avons synthétisé deux types de composites PLLA/HA: denses et poreux. La méthode de synthèse utilisée est la méthode dite de : « Solvant casting salt leaching » [50,43], elle consiste à mélanger en une seule étape la poudre d'hydroxyapatite et le sel porogène avec une solution de PLLA dissout dans un solvant organique. Le mélange homogénéisé puis moulé sera ensuite lavé pour éliminer le sel porogène qui va laisser une porosité et ensuite séché sous vide afin d'éliminer le solvant organique. La méthode de solvant casting salt leaching permet d'obtenir des composites ayant des pores uniformément distribués et une structure poreuse interconnectée [43].

Le séchage sous vide de nos échantillons composites a été réalisé en utilisant un appareil de type : HERAEUS VTR 5022.

II.4.2. Mesure de la densité et de la porosité des composites PLLA/HA

La porosité totale des composites PLLA/HA a été déduite à partir de la densité relative de chaque composite. La densité relative des composites HA/PLLA a été déterminée par la même méthode que celle utilisée dans le cas des céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses [14].

$$P = 100 - \rho_r$$

ρ_r est la densité relative de chaque composite, elle est égal au rapport entre la densité expérimentale et la densité théorique. La densité expérimentale est le rapport entre la masse du composite et son volume et la densité théorique est calculé à partir des densités théoriques : PLLA (1,248 g/cm³), hydroxyapatite (3,156 g/cm³), sel NaCl (2,165g/cm³) en utilisant la formule suivante [68].

Pour les composites avec sel

$$\rho = 1 / (W_s / \rho_s + W_{HA} / \rho_{HA} + W_p / \rho_p)$$

Pour les composites sans sel

$$\rho = 1 / (W_{HA} / \rho_{HA} + W_p / \rho_p)$$

Avec W_s , W_{HA} , W_p : pourcentage massiques du sel (NaCl), de l'hydroxyapatite et du polymère PLLA respectivement.

II.4.3. Propriétés mécaniques des composites HA/PLLA

Les propriétés mécaniques en compression de nos composites ont été déterminées en utilisant la machine de type ZWICK-ROELL Z 0,50 et suivant le même procédé que celui utilisé pour les céramiques d'hydroxyapatite denses et poreuses.

II.4.4. Etude de la cinétique de relargage du sel NaCl

L'étude cinétique du relargage du sel NaCl à partir de nos composites PLLA/HA a été réalisée par conductimétrie. La conductimétrie est une méthode physique qui permet de suivre la vitesse de dissolution d'un électrolyte dans l'eau. Elle permet de mesurer la conductance G d'un électrolyte entre deux électrodes planes et parallèles. Dans notre cas l'électrolyte est le sel NaCl. Pendant les mesures, le conductimètre affiche la conductivité (C (S/m)).

$$C \text{ (S.m}^{-1}\text{)} = L/S \cdot G$$

L : distance entre les plaques (en m);

S : surface d'une plaque (en m²) ;

G : la conductance en Siemens (S).

La conductivité mesurée est la somme des conductances équivalentes des ions présents. Nous supposons la présence unique de Na^+ et Cl^- .

Nous avons utilisé un conductimètre de type EcoScan con5 équipé d'une cellule de conductivité et d'un capteur de température intégré. Il est calibré à l'aide d'une solution étalon de KCl à 0,01moles/l à la température de 25 °C. La précision de l'appareil est de $\pm 2\%$.

II.4.5. Etude de la cinétique de dégradation des composites HA/PLLA

L'influence du temps de vieillissement de nos composites sur leur cinétique de dégradation a été suivie par :

- pH-métrie ;

- spectroscopie d'absorption atomique avec flamme ;
- mesure de la perte de masse.

La pH-métrie permet de déterminer la variation du pH en fonction du temps de vieillissement pour les différents types de composites et la spectroscopie d'absorption atomique sert à doser la quantité d'ions Ca^{2+} libérée. La variation du pH en fonction du temps a été mesurée à 20 °C.

La perte de masse des composites vieillis a été déterminé comme suit [51]:

$$\text{Perte de masse (\%)} = (\text{M}_i - \text{M}_v) / \text{M}_i \times 100$$

M_i : masse initiale du composite sans sel.

M_v : masse du composite vieilli.

II.5. Techniques d'analyses

II.5.1. Analyse granulométrique

Pour plus de précision concernant la granulométrie de la poudre d'hydroxyapatite préparée par tamisage, une répartition granulométrique a été établie par granulométrie laser. La granulométrie par diffusion laser est une technique basée sur la diffraction de la lumière, elle est couramment utilisée pour déterminer la distribution de taille des particules de matériaux granulaire pulvérulents. La diffraction par laser permet de mesurer des poudres allant de 0,05 à 900 μm . Ce qui est bien plus précis qu'avec la technique par tamisage. L'appareil que nous avons utilisé pour réaliser cette analyse est de marque Mastersizer S Ver.2.18, Série : 33148-121. Les mesures ont été effectuées en milieu liquide (eau distillée) après désagglomération de la poudre par ultrasons.

II.5.2. Spectrophotomètre UV-visible

Nous avons utilisé la spectroscopie UV pour étudier la cinétique de relargage de principes actifs à partir des céramiques d'hydroxyapatite synthétisées au cours de la première partie de ce travail. Nous avons donc chargé les céramiques d'hydroxyapatite à l'aide de trois principes types de principes actifs : métronidazole, kétoprofène et le chloramphénicol et dosé la quantité de principe actif relargué dans chaque solution de relargage. Les profils de relargage ont été ensuite déterminés pour chaque type de principe actif. La quantité de principe actif relargué a été déterminée en utilisant la loi de Beer-Lambert (voir annexe). Cette méthode permet de calculer la concentration de chaque solution et par conséquent la quantité de médicament relargué en fonction du temps. Les coefficients d'extinction du métronidazole, du kétoprofène et du chloramphénicol ont été déterminés à partir des courbes d'étalonnage correspondantes données en Annexe, ils sont respectivement de : 9053,53 ; 17611,73 et 8075,31 $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$. Les courbes d'étalonnage du métronidazole, du kétoprofène et du chloramphénicol ont été obtenues en mesurant l'absorbance des solutions diluées (0 ; 10^{-3} ; $4 \cdot 10^{-3}$; $6 \cdot 10^{-3}$; $7 \cdot 10^{-3}$; $8 \cdot 10^{-3}$; 10^{-2} ; $2 \cdot 10^{-2}$; $4 \cdot 10^{-2}$; $6 \cdot 10^{-2}$ g/l) de chaque médicament, préparées à partir de solutions étalons, en fonction de la concentration (annexe A).

Le domaine du spectre ultraviolet utilisable en analyse s'étend de 190 à 400 nm, celui du spectre visible va de 400 à 800 nm. Le métronidazole, le kétoprofène et le chloramphénicol absorbent respectivement à 318, 5 et 218 nm. L'appareil utilisé pour réaliser les analyses par spectroscopie UV est de type HP 8452.

II.5.3. Spectrophotomètre d'absorption atomique

Nous avons utilisé la spectrophotométrie d'absorption atomique pour doser la quantité d'ions Ca^{2+} libérée lors de la dégradation, dans l'eau distillée, des composites HA/PLLA. Le spectrophotomètre d'absorption atomique que nous avons utilisé est de type LNICAM 929-2091 avec flamme (air –acétylène) équipé d'une lampe à cathode creuse (Calcium). Le dosage a été réalisé à une longueur d'onde de 422,7 nm et un débit de gaz de 8 ml/min.

La courbe d'étalonnage du calcium a été réalisée en utilisant des solutions de $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})$ de concentrations : 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 g/l (annexe A).

Chapitre III

Composites hétérogènes HA/PLLA

Le procédé de synthèse des céramiques d'hydroxyapatite comprend trois étapes principales : la préparation de la poudre d'hydroxyapatite, la mise en forme et le traitement thermique appelé frittage. Cependant, la nature de la poudre d'apatite (calcinée ou non calcinée), la méthode de mise en forme, la température et le cycle de frittage influent directement sur les propriétés physiques et mécaniques finales des céramiques de synthèse.

Les céramiques de synthèse peuvent être denses ou poreuses. Contrairement aux céramiques denses qui présentent des propriétés mécaniques importantes, les céramiques poreuses sont fragiles et leur application pratique comme substitut osseux dans des zones très sollicitées mécaniquement sans ostéosynthèse est très limitée.

Le but de cette partie de travail est de synthétiser des céramiques d'hydroxyapatite poreuses ayant de bonnes propriétés mécaniques en utilisant un liant approprié parmi trois types de liants et à les renforcer ensuite à l'aide de deux types de polymères : PLLA et gélatine. Nous exposons dans ce qui suit les résultats obtenus sur les propriétés mécaniques des céramiques poreuses élaborées avec et sans renfort. Nous discutons ensuite le caractère renforçant du PLLA et de la gélatine. L'influence de la concentration du PLLA et de gélatine sur la porosité des céramiques poreuses renforcées est aussi exposée.

III.1. Distribution granulométrique de la poudre d'hydroxyapatite

La taille des particules de poudre d'hydroxyapatite non calcinée, utilisée dans ce travail, a été déterminée par une analyse au granulomètre laser. La distribution granulométrique est exprimée par le nombre de particules de classe de taille donnée, elle est représentée par la figure III.1.

Les résultats d'analyse obtenus montrent que le diamètre moyen des particules d_{50} est de $0,13\mu\text{m}$.

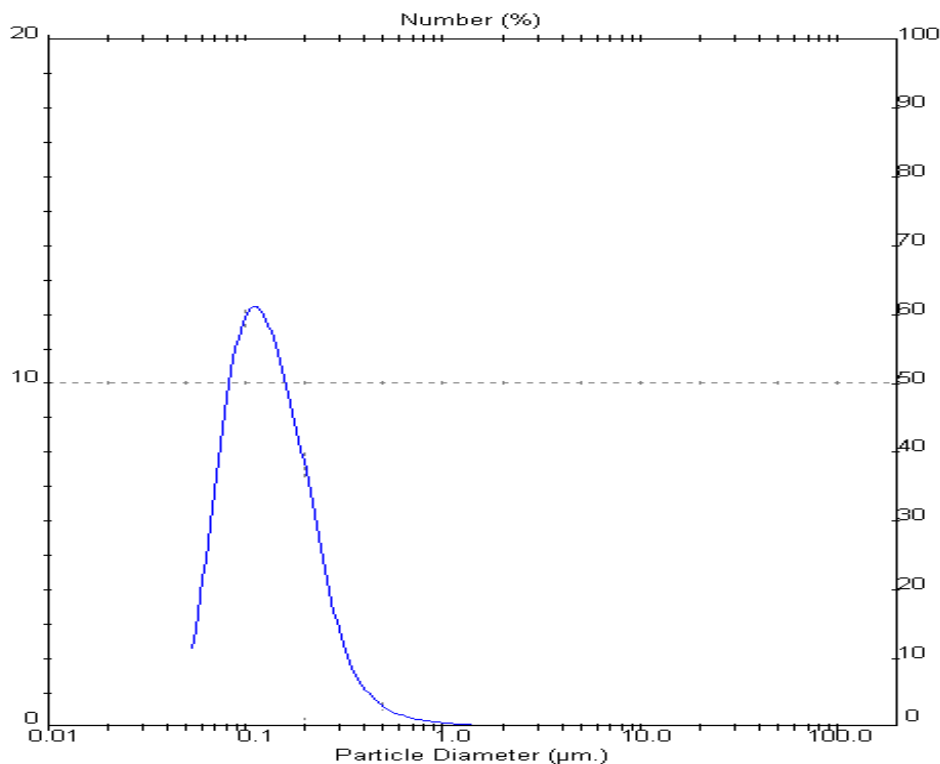


Figure III.1: Distribution en nombre de la taille des particules d'hydroxyapatite

III.2. Synthèse des céramiques d'hydroxyapatite

Le procédé de synthèse des céramiques d'hydroxyapatite est composé de trois étapes principales : la préparation des corps verts, le séchage et le frittage.

III.2.1. Préparation des corps verts

Pour préparer les corps verts nous avons mélangé la poudre d'hydroxyapatite avec un liquide liant. Nous avons utilisé trois types de liants: eau distillée, une solution aqueuse de gélatine et de glycérol à 10 %. Le mélange homogène obtenu a été moulé sous forme de cylindres d'environ 20 mm de longueur et 11mm de diamètre, séché à l'air pendant 12 h puis à l'étuve à 120 °C pendant 1h. Les quantités, en pourcentage massiques, de poudre d'hydroxyapatite et de liant utilisées pour réaliser les mélanges sont les suivantes :

- hydroxyapatite (73 %) + solution aqueuse de glycérol (27 %).
- hydroxyapatite (63 %) + solution aqueuse de gélatine (36 %).

Nous avons ensuite déterminé la densité de chacun des corps verts afin de choisir le liant qui permet d'obtenir des corps verts de densité élevée et par conséquent des céramiques possédant de bonnes propriétés mécaniques en compression.

La densité des corps verts synthétisés est donnée dans le tableau III.1. Elle est la moyenne des densités de cinq échantillons.

Tableau III.1: Densité des corps verts (n=5)

Liant	Densité (g/cm ³)
Eau	1,26 ± 0,10
Solution aqueuse de gélatine à 10 %	1,20 ± 0,06
Solution aqueuse de glycérol à 10 %	1,37 ± 0,06

n : nombre d'échantillons pour chaque mesure.

Ces résultats montrent que le glycérol est le liant qui permet d'obtenir des corps verts plus dense et plus homogènes. L'homogénéité est caractérisée par le pourcentage d'erreur qui est faible (4,37 %), comparativement à ceux obtenus avec l'eau et la solution aqueuse de gélatine. Pour synthétiser les céramiques d'hydroxyapatite, nous avons utilisé donc le glycérol comme liant.

III.3. Synthèse et propriétés physiques des céramiques d'hydroxyapatite

III.3.1. Synthèse des céramiques d'hydroxyapatite denses

Les céramiques d'hydroxyapatite denses ont été obtenues par frittage à hautes températures des corps verts préparés avec du glycérol à : 800, 900, 1000 1100 et 1200 °C. Le cycle de frittage est composé d'une montée en température de 3,7 °C/min et un palier

de 60min suivi d'un refroidissement jusqu'à la température ambiante. Le four utilisé est de type CESAME M6.

III.3.1.1. Densité et porosité des céramiques d'hydroxyapatite denses

Nous avons dans un premiers temps déterminé la densité des céramiques d'hydroxyapatite denses en fonction de la température de frittage afin de connaître la température qui permet d'obtenir des céramiques plus denses. Les résultats obtenus sont données dans le tableau III.2. Nous avons utilisé une série de cinq échantillons pour déterminer la densité et la porosité moyenne.

Tableau III.2: Densité, porosité et résistance à la rupture en compression des céramiques denses en fonction de la température de frittage (n=5)

Température (C°)	800	900	1000	1100	1200
Densité (g/cm ³)	1,54 ±0,43	1,58±0,75	1,54±0,23	1,73±0,17	1,75±0,08
Densité relative (%)	48,98	50,22	48,92	55,00	55,51
Porosité (%)	51,02	49,78	51,08	45,00	44,49

Ces résultats montrent que le frittage des corps vert conduit à des céramiques plus au moins denses en fonction de la température. La densité des céramiques est plus importante à 1200 °C. La densité des céramiques poreuses à cette température est de $1,75 \pm 0,08$ g/cm³, c'est une valeur très proche de la densité de l'os cortical qui est de 1,80 g/cm³ [4]. Le taux de densification maximal atteint (1200 °C) est de 55,51 %, il est un peu faible comparativement aux valeurs citées dans la littérature et qui sont d'environ 98 % [69, 70, 71,72]. Cette différence peut s'expliquer par le fait qu'aucune compression (à chaud ou à froid), dans notre cas, n'a été appliquée lors de l'étape de mise en forme. Les résultats du tableau III.2 sont représentés par la figure III.2. A partir de cette figure, nous constatons que la porosité des céramiques denses diminue en fonction de la température de frittage. Elle passe de 51,21 % (800 °C) à 44,55 % (1200 °C). Comme pour la densité qui augmente

d'une façon significative entre 1000 °C et 1100 °C, la diminution de la porosité est plus importante dans cet intervalle de température. La porosité varie en sens inverse de la densité.

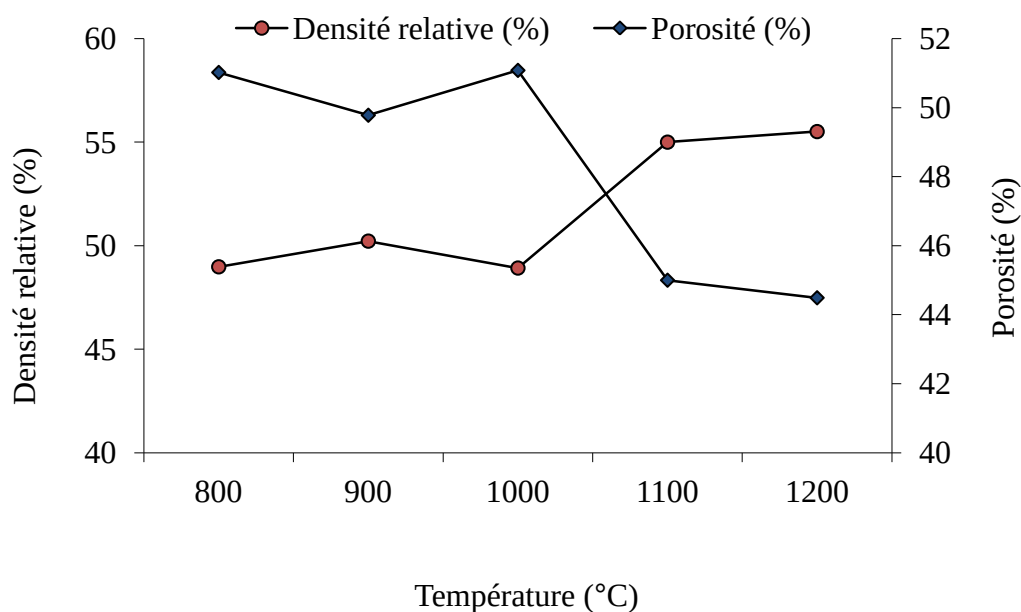


Figure III.2: Variation de la densité relative et de la porosité des céramiques calcinées à 800, 900, 1100, 1200 °C

III.3.1.2. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite denses

Les résultats du tableau III.3 illustrés par la figure III.3 montrent que la résistance à la rupture en compression des céramiques sans porogène augmente avec la température de frittage. Elle passe de 1,75 MPa à 8,27 MPa lorsque la température de frittage passe de 800 à 1200 °C. La résistance à la rupture en compression des céramiques d'hydroxyapatite denses frittées à 1200 °C est beaucoup plus importante (8,27 MPa) que celle trouvée par Oleg Prokopiev et Igor Sevostianov [73] pour des céramiques d'hydroxyapatite moins poreuses (porosité d'environ 25 %) et frittées à la même température (7,66 MPa). Ceci montre qu'une bonne préparation du corps vert (bonne homogénéisation, particules fines) peut conduire à de meilleures propriétés mécaniques.

La légère baisse de la résistance observée vers 900 °C peut être liée à la décomposition, vers 800 °C, de carbonates résiduels dans l'apatite utilisée. Nous avons effectué des séries de 5 essais pour chaque type d'échantillon afin de nous rendre compte de la dispersion des résultats. La valeur de la résistance à la rupture en compression est la moyenne des valeurs des cinq essais.

Tableau III.3: Résistance à la rupture en compression des céramiques denses (n=5)

Température (°C)	800	900	1000	1100	1200
R(MPa)	1,75±0,37	1,19±0,12	2,57±0,69	5,36±1,8	8,27±0,04

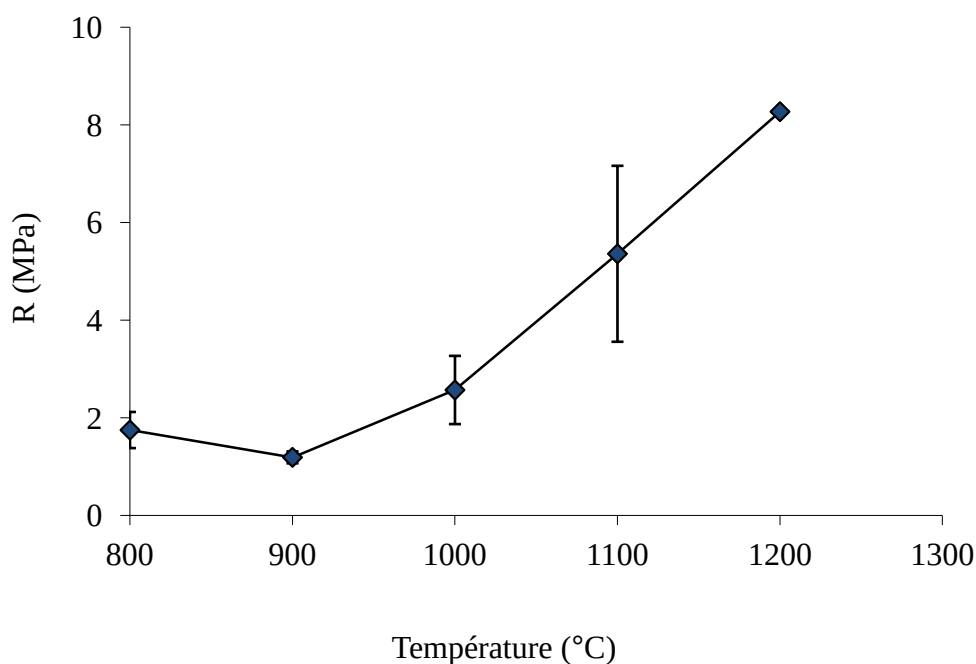


Figure III.3: Résistance à la rupture en compression des céramiques denses en fonction de la température de frittage

III.3.2. Synthèse des céramiques d'hydroxyapatite poreuses

Nous avons préparé des céramiques de différentes porosités en utilisant de la poudre de gélatine comme porogène. La quantité, exprimée en pourcentage massique, de poudre de gélatine par rapport à celle de l'hydroxyapatite est de : 5, 10 et 20 %. Les céramiques poreuses ont été préparées comme suit : nous avons réalisé dans un premier temps un mélange composé de la poudre d'hydroxyapatite, du porogène (gélatine) et de liant (glycérol en solution aqueuse à 10 %). Ce mélange, homogénéisé, est ensuite moulé sous forme de cylindres (32 mm de hauteur et 11 mm de diamètre) et de sphères (22 mm de diamètre). Ces cylindres et sphères sont ensuite séchés à l'air pendant une nuit puis à l'étuve à 120 °C pendant une heure. Enfin, les cylindres et sphères séchés ont été ensuite calcinés à 800 °C pour éliminer la gélatine puis frittés à 1200 °C, suivant le même cycle de frittage que celui utilisé pour les céramiques denses. Il n'est pas possible d'utiliser plus de 20 % de porogène (poudre de gélatine) pour fabriquer des céramiques plus poreuses car le moulage du mélange (hydroxyapatite, gélatine et liant) est impossible et la quantité d'hydroxyapatite est très faible pour avoir une structure solide après frittage. Nous avons utilisé ces céramiques d'hydroxyapatite poreuses pour :

- Etudier l'influence de la porosité et / ou de la quantité de porogène sur leur propriétés mécaniques.
- Etudier leur efficacité à libérer des principes actifs de façon contrôlée.

Un autre type de cylindres de céramiques d'hydroxyapatite a été fabriqué en utilisant 95 % de poudre d'hydroxyapatite, 5 % de poudre de bioverres, 20 % de porogène (gélatine) et du glycérol comme liant. Le bioverre est ajouté afin d'améliorer les propriétés mécaniques des céramiques poreuses. Le mélange est moulé sous forme de cylindres de 14 mm de longueur et 1,2 mm de diamètre. Ces cylindres sont ensuite séchés à l'air pendant une nuit puis à l'étuve à 120 °C pendant une heure. Les cylindres séchés ont été calcinés à 800 °C pour éliminer la gélatine puis calcinés à 1100 °C à 2°/min. Ce type de céramiques est utilisé pour étudier le relargage de médicaments.

III.3.2.1. Densité et porosité des céramiques d'hydroxyapatite poreuses

La variation de la densité et de la porosité des céramiques poreuses synthétisées en fonction de la quantité de porogène est donnée dans le tableau III.4 et illustrée par la figure III.4. La porosité maximale obtenue est de 68,61 %. La porosité augmente avec la quantité de porogène et la densité diminue. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par A.Cosijns et coll [74]. La densité et la porosité des céramiques poreuses est proportionnelle à la quantité de porogène (figure III.4).

Tableau III.4: Densité et porosité des céramiques poreuses (n=8)

Gélatine (%)	0	5	10	20
Densité (g/cm ³)	1,75±0,08	1,51±0,06	1,24±0,19	0,99±0,08
Porosité (%)	44,48	51,98	60,59	68,61

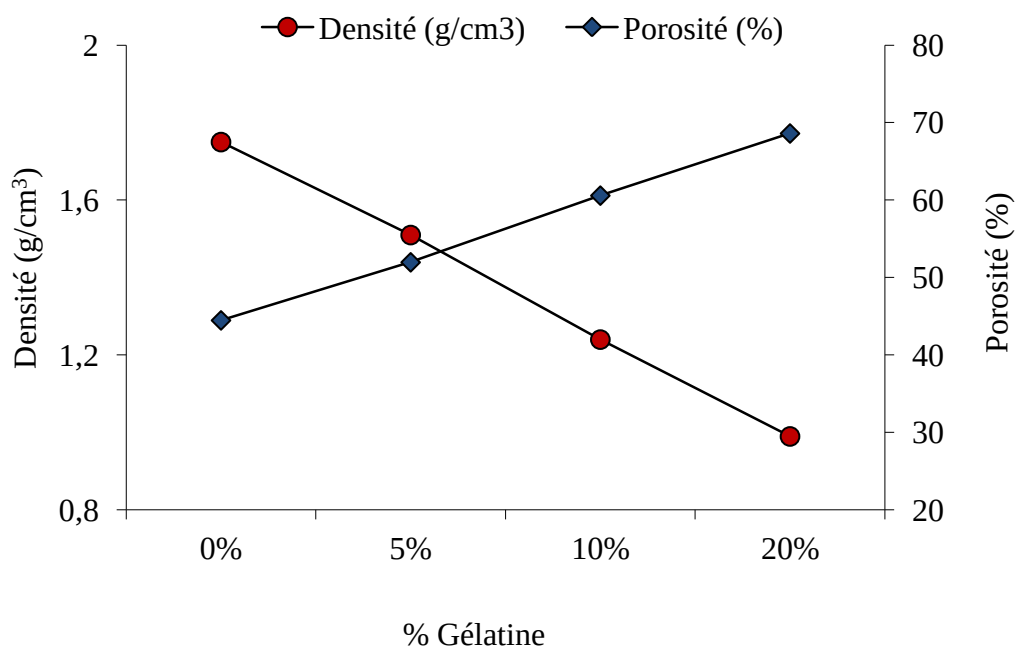


Figure III.4: Densité et porosité des céramiques poreuses, frittées à 1200 °C, en fonction de la quantité de porogène

III.3.2.2. Propriétés mécaniques des céramiques poreuses

Les résultats du tableau III.5 montrent que les céramiques poreuses sont très friables. La résistance à la rupture en compression varie de $3,17 \pm 0,14$ à $0,57 \pm 0,14$ MPa pour un taux de gélatine (porogène) allant de 5 à 20 %. La résistance à la rupture en compression passe de $8,27 \pm 0,04$ MPa, lorsque la céramique est dense (0 % de porogène), à $0,57 \pm 0,14$ MPa lorsque la céramique est poreuse (quantité de porogène égale 20%). Pour une température de frittage identique (1200 °C), la résistance à la rupture en compression des céramiques d'hydroxyapatite poreuses diminue lorsque la quantité de porogène augmente (Figure III.5). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par X. Miao et coll [11].

Tableau III.5: Résistance à la rupture en compression des céramiques poreuses (n=8)

Gélatine (%)	0	5	10	20
R(MPa)	$8,27 \pm 0,04$	$3,17 \pm 0,14$	$1,46 \pm 0,2$	$0,57 \pm 0,14$

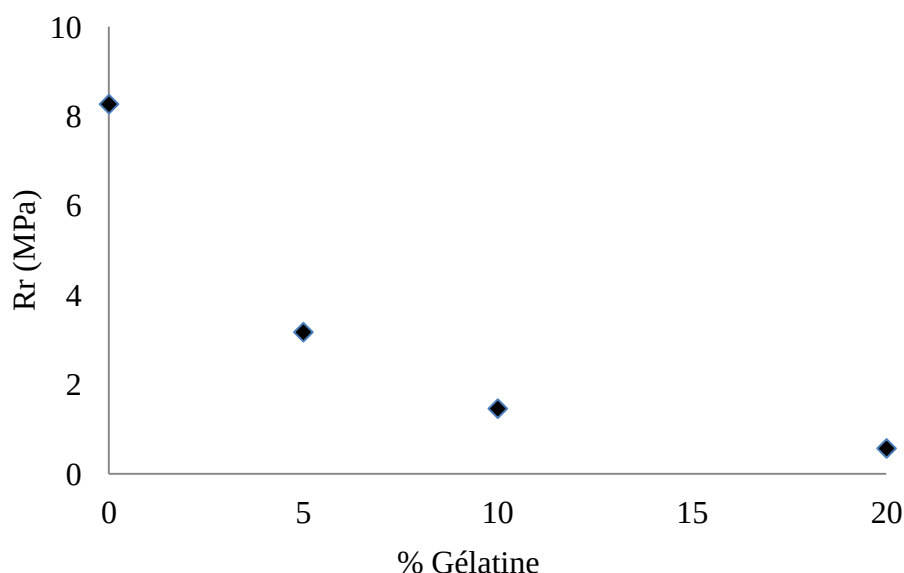


Figure III.5: résistance à la rupture en compression des céramiques poreuses en fonction de la quantité de gélatine (porogène)

III.4. Céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées

Les substituts osseux les plus importants sont ceux qui sont poreux et présentant de bonnes propriétés mécaniques. Pour améliorer les propriétés mécaniques de nos céramiques poreuses préparées avec 20 % de porogène, nous avons utilisé du PLLA et de la gélatine en solution.

III.4.1. Céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de polymère d'acide lactique

Nous avons utilisé, pour renforcer nos céramiques d'hydroxyapatite poreuses, des solutions de PLLA dissout dans le chloroforme de concentrations massiques égales à 5, 10, 15 et 20 %. On ne peut pas utiliser une solution de PLLA de concentration supérieure à 20 % car cette solution est très visqueuse et ne rentrera pas dans les pores de la céramique. Nous avons introduit les céramiques poreuses, dont les masses à sec sont connues, dans chacune des solutions de PLLA et nous avons fait trois tirages sous vide pour que la solution rentre bien dans les pores. Nous avons ensuite, sorti les céramiques et essuyé l'excès de PLLA se trouvant sur la surface, séchées à l'air pendant une semaine puis à l'étuve sous une pression de 200 mbar pour éliminer le solvant organique. Nous avons déterminé la quantité de PLLA introduite dans chaque céramique par la différence de masse des céramiques avec et sans PLLA. La densité du chloroforme est de $1,45 \text{ g/cm}^3$.

III.4.2. Céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine

Pour renforcer les céramiques d'hydroxyapatite poreuses à l'aide de la gélatine, nous avons utilisé le même procédé que celui utilisé pour les renforcer à l'aide de PLLA. Nous avons préparé quatre solutions aqueuses de gélatine de concentrations massiques de 5 ; 10 ; 15 et 20 %. Les solutions ont été préparées à 50 °C.

III.4.3. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de PLLA et de la gélatine

III.4.3.1. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de PLLA

La variation de la résistance à la rupture et du module d'élasticité en compression des différentes céramiques poreuses renforcée à l'aide de PLLA, en fonction de la quantité du

PLLA, est donnée dans le tableau III.6. Les résultats obtenus montrent que la résistance à la rupture en compression passe de $0,43 \pm 0,20$ MPa à $3,31 \pm 0,13$ MPa pour un taux de PLLA allant de 0 à 30,94 %. La présence de la phase organique (polymère PLLA) améliore donc les propriétés mécaniques des céramiques poreuses. La quantité de PLLA fixée sur les pores de la céramique dépend de la concentration initiale de la solution de PLLA. La porosité des céramiques d'hydroxyapatite renforcées à l'aide de PLLA diminue lorsque la quantité de ce dernier augmente. Elle passe de $78,11 \pm 0,4$ % pour 0 % de PLLA à 68,90 % pour 30,94 % de PLLA fixée. Le module d'élasticité en compression des céramiques d'hydroxyapatite renforcées à l'aide de PLLA est moins important ($E = 117,64$ MPa) que celui trouvé par X. Miao et coll [11] dans le cas des céramiques HA renforcées à l'aide d'un mélange bioverres-PLGA de même ordre de porosité ($E = 3,20$ GPa). La résistance à la rupture en compression trouvée par ces auteurs est de même plus importante. Elle est de 7,7 MPa. Les propriétés mécaniques importantes des céramiques d'hydroxyapatite renforcées à l'aide de PLGA-bioverre sont dues à la présence du bioverre. Le module d'élasticité des céramiques poreuses renforcées à l'aide de PLLA varie dans le même sens que la résistance à la rupture en compression. Il augmente lorsque la quantité de PLLA fixée augmente, autrement dit, il augmente lorsque la concentration de la solution de PLLA passe de 5 à 20 %.

Tableau III.6: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des céramiques poreuses renforcées à l'aide de PLLA

Porosité initiale (%)	Porosité finale (%)	[PLLA] (%)	(%) PLLA fixée	R_r (MPa)	E (MPa)
$78,11 \pm 0,4$	78,11	0	0,00	$0,43 \pm 0,20$	47,61
	75,00	5	6,50	$0,78 \pm 0,13$	64,93
	74,53	10	10,90	$1,21 \pm 0,07$	83,33
	72,46	15	20,80	$2,37 \pm 0,35$	103,4
	68,90	20	30,94	$3,31 \pm 0,13$	117,64
Os spongieux	Porosité (30-90%)	—	—	2-12	0;2-5 (GPa)

D'un point de vue porosité et résistance en compression, nos résultats sont comparables à ceux obtenus par Ting Tian et coll [42]. Ces auteurs ont montré que lorsque la porosité des composites PLLA/HA passe de $82,46 \pm 2,0$ à $70,05 \pm 2,0$ %, la résistance à la rupture en compression passe de $0,34 \pm 0,07$ à $3,03 \pm 0,08$ Mpa. Néanmoins, les quantités de PLLA dans les composites obtenus par ces auteurs sont beaucoup plus importante (rapport massique PLLA/HA: 0,58 ; 1,00 ; 1,42 ; 2,17, le poids moléculaire du PLA utilisé est $M_w = 400$ et la céramique d'hydroxyapatite poreuse de départ a été calcinée à 1300°C au lieu de 1200°C). La variation de la résistance à la rupture et du module d'élasticité en compression des céramiques poreuses, en fonction de la quantité de PLLA fixée sur les pores des céramiques, est illustrée par la figure III.6. Le module d'élasticité des céramiques poreuses renforcée avec du PLLA est proportionnel à la quantité et/ou à la concentration de la solution de PLLA.

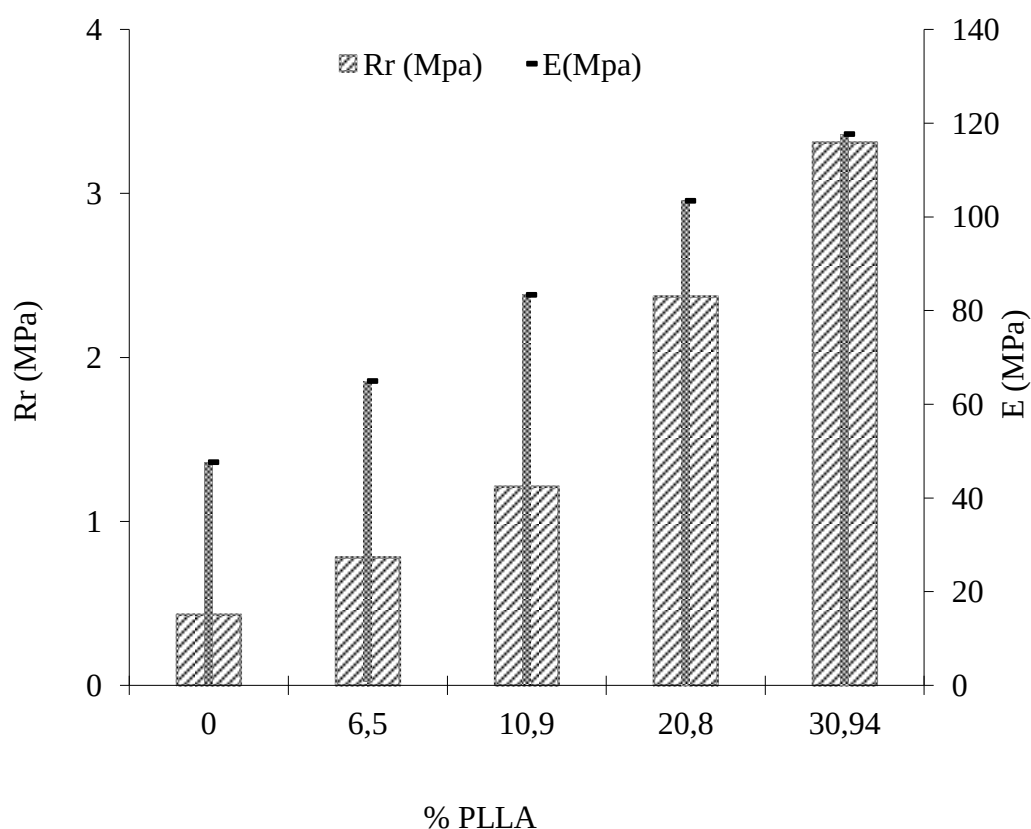


Figure III.6: Variation de la résistance à la rupture et du module d'élasticité en compression des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de PLLA

III.4.3.2. Propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine

Les résultats obtenus sur la variation de la résistance à la rupture et du module d'élasticité en compression des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine, en fonction de la quantité de gélatine, sont reportés dans le tableau III.7.

Tableau III.7: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine

Porosité initiale (%)	Porosité finale (%)	[gélatine] (%)	% gélatine fixée	R _r (MPa)	E (GPa)
78,55±0,2	78,55	0	0	0,43±0,20	0,047
	75,52	5	5,65	3,51±0,62	0,133
	76,45	10	6,11	6,17±0,67	0,107
	73,80	15	13,15	9,09±0,50	0,205
	71,75	20(f)	18,23	11,30±1,30	0,350
	70,17	20(f)	18,86	14,69±2,86	1,410
	74,50	20(c)	13,28	8,15±0,48	0,200
	73,65	20 (c)	16,61	9,16±1,11	0,230
Os spongieux	30-90			2-12	0,2-5

(c) : gélatine chaude (chauffée à 50 °C) ; (f) : gélatine froide

Les résultats du tableau III.7 montrent que les propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses, exprimées en termes de résistance à la rupture en compression, sont améliorées lorsqu'elles sont renforcées à l'aide de la gélatine. En effet, la résistance à la rupture en compression passe de $0,43 \pm 0,20$ MPa à $14,69 \pm 2,86$ MPa lorsque la quantité de gélatine fixée sur les parois des pores de la céramique poreuse passe de 0 à 18,86 % et lorsque la solution de gélatine utilisée a été refroidie. En revanche, lorsque la

solution de gélatine utilisée est chaude, la quantité maximale qui peut être fixée est de 16,61 % et la résistance à la rupture en compression correspondante est de $9,16 \pm 1,11$ MPa. Des résultats similaires sur l'influence de la gélatine sur les propriétés mécaniques des ciments phosphocalciques ont été constatés par A.Bigi et coll [60]. Nos céramiques poreuses renforcées à l'aide de la gélatine présentent des propriétés mécaniques similaires à celles de l'os spongieux ($2 \text{ MPa} \geq R_r \leq 12 \text{ MPa}$ et $0,2 \text{ GPa} \geq E \leq 5 \text{ GPa}$) lorsque la quantité de gélatine fixée est supérieure à 13,15%. De plus 13,5% de gélatine est la quantité qui a permis d'obtenir des composites plus homogènes (erreur plus faible). Le module d'élasticité des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées à l'aide de la gélatine augmente lorsque la quantité de gélatine fixée augmente.

La variation de la résistance à la rupture et du module d'élasticité en compression sont illustrées par la figure III.7.

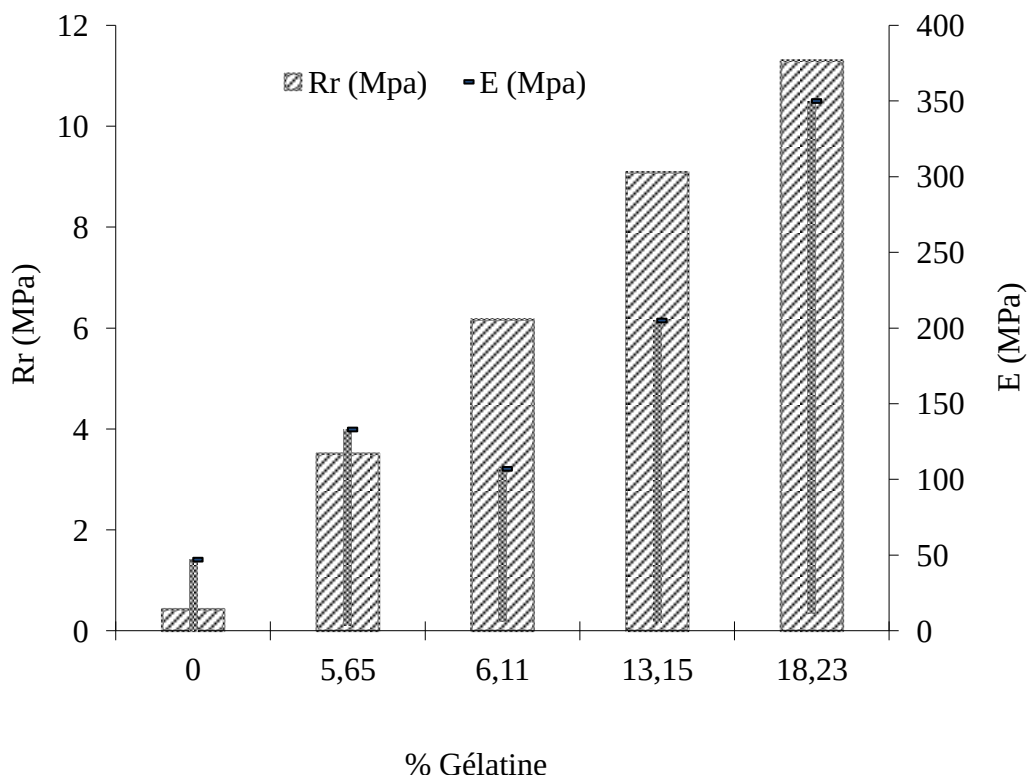


Figure III.7: Variation de la résistance à la rupture en compression et du module d'élasticité des céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées avec la gélatine

On constate que la porosité des céramiques ne diminuent que très légèrement suite à leur infiltration avec du polymère PLLA ou de la gélatine.

Les céramiques d'hydroxyapatite poreuses renforcées avec 6 % de gélatine sont plus résistantes que ceux renforcées avec 30 % de PLLA, et les propriétés élastiques varient dans le même sens. La gélatine améliore donc mieux les propriétés mécaniques des céramiques poreuses que le polymère poly-lactique. En revanche, les céramiques renforcées à l'aide du PLLA sont plus homogènes. Le pourcentage d'erreur est plus petit avec du PLLA qu'avec de la gélatine et plus la quantité de PLLA est grande plus les composites sont homogènes.

La variation de la résistance à la rupture en compression des céramiques renforcées à l'aide de PLLA et de la gélatine en fonction de la concentration des solutions de PLLA et de gélatine est illustrée par la figure III.8.

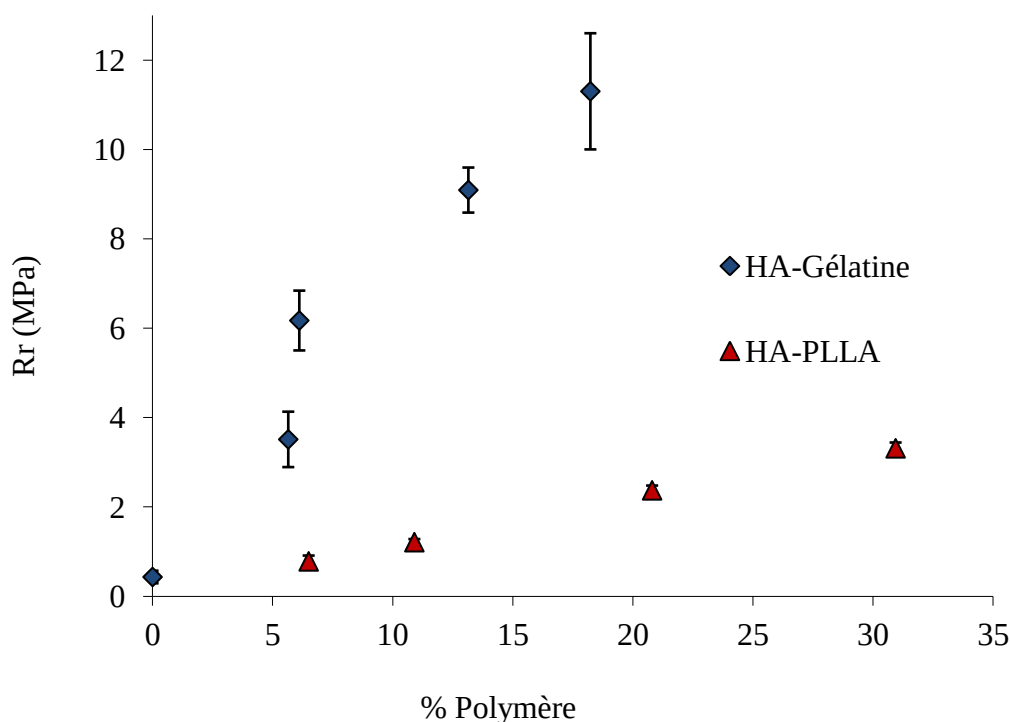


Figure III. 8: Variation de la résistance à la rupture en compression des céramiques renforcées en fonction de la concentration des solutions de gélatine et de PLLA

III.4.4. Variation de la résistance à la rupture en compression, des céramiques renforcées, en fonction de la porosité

La résistance à la rupture en compression des céramiques renforcées à l'aide de la gélatine diminue lorsque la porosité de ces matériaux augmente (figure III .9).

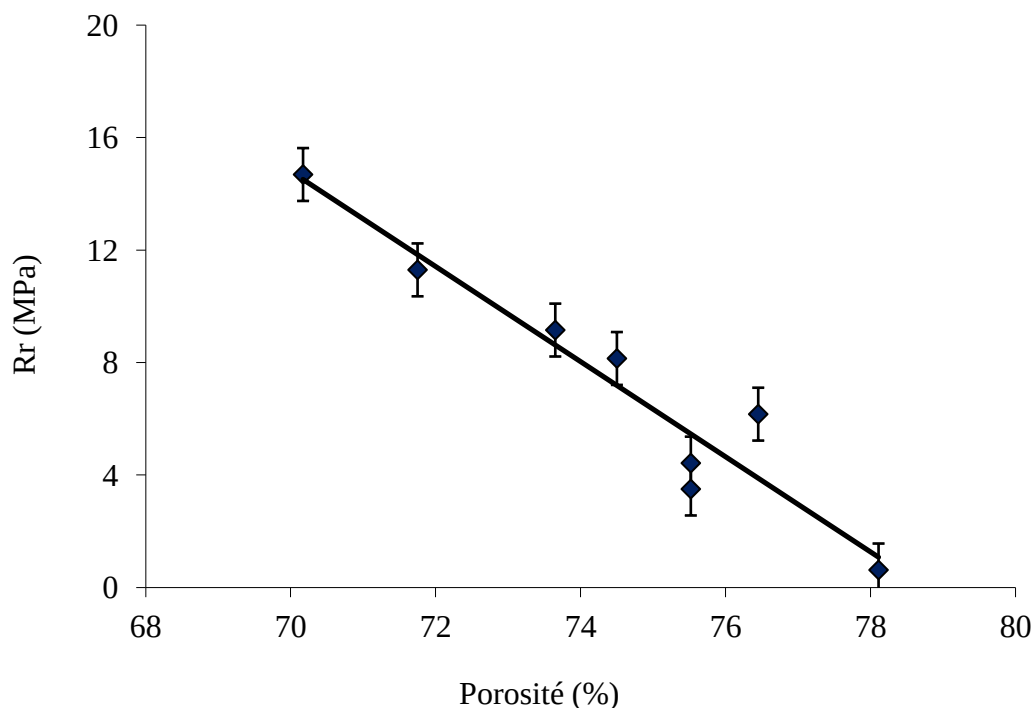


Figure III. 9: Variation de la résistance à la rupture en compression des céramiques poreuses renforcées à l'aide de la gélatine en fonction de la porosité

Les améliorations des propriétés physiques des céramiques avec les polymères peuvent être attribuées à un phénomène de remplissage et colmatage des micro-défauts céramiques par les molécules polymères. Comme représenté dans la figure III-10, le bouchage des fissures retarde la fracture sous compression initiée aux points faibles. La gélatine, composée d'acides aminés polaires, a plus d'affinités pour l'apatite que le PLLA, hydrophobe et incompatible avec la surface ionique de l'apatite. Le remplissage avec la gélatine combine l'effet volumique avec une bonne adhésion sur la surface des céramiques. La gélatine ressemble de près au collagène, le polymère constituant la phase organique des tissus calcifiés.

L'évolution des valeurs d'élasticité reflète notre mode de calcul du module de Young (basé sur la contrainte observée à mi-chemin avant la rupture). L'incorporation de polymères, aux modules plus faibles que celui des céramiques n'a pas fait diminuer le module des céramiques remplies de polymère. En effet, nous avons considéré la pente de la droite contrainte – déformation pour le segment compris entre 0 et la contrainte liée à la moitié de la résistance maximale. Or, la pente de la tangente initiale de cette courbe reflèterait le module lié au matériau composite polymère-apatite. Mais nous avons des composites hétérogènes, avec de nombreuses porosités et fissures. Le module dépend principalement de la phase continue céramique, qui s'exprime mieux en effaçant la contribution des défauts, par réparation avec les polymères.

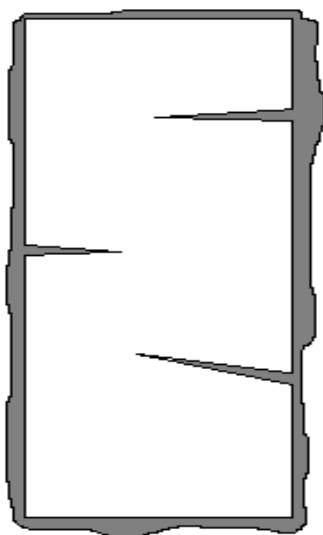


Figure III.10: Schéma représentant le remplissage des fissures par le polymère (en gris) dans les blocs de céramiques (en blanc)

III.5. Conclusion

Au cours de ce chapitre nous avons synthétisé et caractérisé des céramiques d'hydroxyapatite poreuses en utilisant de la poudre d'apatite non calcinée. L'utilisation de la gélatine comme porogène nous a permis d'atteindre des porosités d'environ 70 %. Néanmoins, nous n'avons pas pu obtenir des porosités supérieures car la quantité de porogène que nous avons pu utiliser est limitée et ne peut excéder 20 %. Les céramiques

poreuses préparées avec 20 % de porogène sont très friables et leur résistance à la rupture en compression est très faible ce qui nous a incité à les renforcer avec de la gélatine en solution aqueuses et du PLLA en solution organique. Le renforcement des céramiques poreuses à l'aide de polymères est une méthode très récemment utilisée. Les résultats obtenus ont montré l'efficacité de ces deux polymères à renforcer les céramiques poreuses. Les céramiques poreuses sont plus renforcées avec la gélatine que le PLLA. Néanmoins, les céramiques renforcées avec du PLLA sont plus homogènes que celles préparées avec de la gélatine. Le rôle de renfort de la gélatine et du PLLA dépend de la concentration de la solution de départ. Les composites HA/gélatine sont plus homogènes lorsque la solution de gélatine a été chauffée. D'un point de vue porosité, les résultats obtenus montrent qu'il est possible de modifier et d'améliorer les propriétés mécaniques des céramiques d'hydroxyapatite poreuses en les renforçant à l'aide de PLLA et/ou de la gélatine tout en conservant des porosités.

Les composites HA/PLLA hétérogènes, bioactives et biodégradables, peuvent donc être utilisés en chirurgie orthopédique comme substitut osseux dans des zones peu ou non sollicité mécaniquement. En revanche, les composites HA/gélatine pourraient être utilisé comme substitut osseux dans des zones plus sollicités mécaniquement.

ChapitreIV

Composites homogènes HA/PLLA

L'objectif de cette partie de travail est de synthétiser des composites de structure et composition proche de celles de l'os naturel. Nous allons pour cela utiliser de l'hydroxyapatite additionnée de TCP comme phase minérale et du PLLA comme phase organique. Nous essayons dans un premier temps d'estimer la quantité maximale de la phase minérale (HA) qu'on peut utiliser pour fabriquer des composites HA/PLLA denses et poreux. Nous nous intéressons ensuite à l'étude de leurs propriétés mécaniques en compression. L'influence du vieillissement chimique sur les propriétés physiques de ces composites de synthèse est étudiée et exprimée en fonction de la concentration des ions calcium, du pH, de la perte de masse et des propriétés mécaniques en compression. Une étude cinétique du relargage du sel NaCl à partir de ces composites est aussi étudiée.

IV.1. Synthèse des composites HA/PLLA

IV.1.1. Synthèse des composites HA/PLLA poreux

Nous avons préparé des mélanges contenant de l'hydroxyapatite, du PLLA dissout dans le chloroforme et du sel NaCl. Les mélanges sont composés de 0, 10, 25, 50, 80 % d'hydroxyapatite et de 35 et 50 % de porogène (NaCl). Les mélanges ont été homogénéisés pendant 30min puis moulés sous forme de cylindres d'environ 16mm de hauteur et 8 mm de diamètre. Ces cylindres ont été ensuite séchés à l'air puis sous vide à une pression de 200 mbar et une température de 40°C. L'élimination totale du chloroforme a été vérifiée en suivant par pesées successives la masse des composites jusqu'à poids constant. La solution de PLLA a été préparée par dissolution, à température ambiante et pendant une nuit, de 100 g de granules de PLLA dans 300 g de chloroforme. Un mélange de sel fin et de gros sel a été utilisé pour fabriquer les composites HA/PLLA à 50 % de porogène. Le gros et le petit sel ont été obtenus par tamisage en utilisant un tamis n°5 et n°2 respectivement. Les composites à 35 % de porogène ont été fabriqués avec seulement du sel fin.

Le pourcentage massique de PLLA, d'hydroxyapatite et de sel NaCl dans chaque type de composite est donné dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1: Composition, en pourcentage massique, des composites HA/PLLA

Composite	PLLA/HA	NaCl/PLLA+HA
PLLA0	100 :0	
PLLA10	90 :10	
PLLA25	75 :25	0 :100
PLLA50	50/50	
PLLA0	100 :0	
PLLA10	90 :10	
PLLA25	75 :25	35 :65
PLLA50	50 :50	
PLLA0	100 :0	
PLLA10	90 :10	
PLLA25	75 :25	50 :50
PLLA50	50 :50	
PLLA80	80 :20	

Les composites HA/PLLA à 50% de porogène ont été divisé en deux lots :

- Lot n°1: utilisé pour étudier l'influence de la quantité d'hydroxyapatite sur les propriétés mécaniques du PLLA et sur la porosité des composites.
- Lot n°2 : utilisé pour étudier la cinétique de relargage du sel NaCl à partir des composites HA/PLLA et l'influence du temps de vieillissement sur les

propriétés physique de ces composites. Les composites HA/PLA à 35 % de porogène ont été utilisées pour le même objectif.

Pour éliminer le sel porogène, les composites du lot n°1 ont été lavé à l'eau distillée. Le lavage a été réalisé à 37 °C en changeant l'eau toutes les 6h, pendant trois jours. L'élimination totale du sel porogène a été vérifiée en utilisant du nitrate d'argent (AgNO_3).

Nous avons introduit les composites à 35 et 50 % de porogène (NaCl) dans des flacons contenant 300 ml d'eau distillée. Les flacons ont été laissés à température ambiante pour une période de 12 à 20 jours. Pour suivre l'évolution de la concentration du sel NaCl relargué en fonction du temps, nous avons mesuré la conductance de chaque solution de relarguage. Avant chaque mesure, la solution a été homogénéisée par agitation et sa température a été ramenée à 20 °C.

IV.1.2. Synthèse des composites HA/PLLA denses

Le même procédé de synthèse et les mêmes pourcentages en masse d'hydroxyapatite et de PLLA ont été utilisés pour fabriquer les composites PLLA/HA denses. Ce type de composites a été fabriqué pour étudier l'influence de la quantité d'hydroxyapatite sur les propriétés mécaniques du PLLA.

IV.2. Propriétés physiques des composites HA/PLLA

IV.2.1. Propriétés physiques des composites HA/PLLA denses

Lors de la synthèse des composites HA/PLLA denses, nous avons constaté qu'il n'est pas possible de fabriquer des composites avec plus de 80 % de poudre d'hydroxyapatite. Les résultats obtenus sur les propriétés physiques des composites denses sont les suivants :

IV.2.1.1. Densité

La densité des composites HA/PLLA augmente avec la quantité d'apatite (tableau IV.2). Cette augmentation a été constatée pour des quantités d'hydroxyapatite supérieure à 10 %. Pour 10 % d'hydroxyapatite, la densité des composites est identique à celle de PLLA pur. Des quantités d'hydroxyapatite inférieures à 10 % n'ont aucun effet renfort.

Tableau IV.2: Densité des composites HA/PLLA denses

Composite	Densité (g/cm ³)	Densité théorique (g/cm ³)	Densité relative (%)
PLLA0	1,09± 0,03	1,24	87,90
PLLA10	1,09± 0,02	1,32	82,57
PLLA25	1,32± 0,02	1,47	89,79
PLLA50	1,49± 0,04	1,78	83,70

IV.2.1.2. Propriétés mécaniques

La détermination de la résistance à la rupture en compression du PLLA seul est impossible car le matériau est caoutchouteux. Seules les déformations plastiques sont enregistrées pendant l'analyse. Les résultats donnés dans le tableau IV.3 montrent que la résistance à la rupture en compression des composites augmente lorsque la quantité d'hydroxyapatite augmente. Elle passe de $6,39 \pm 1,40$ MPa à $10,60 \pm 1,52$ MPa lorsque la quantité d'hydroxyapatite passe de 10 à 50 %. Il en résulte que la présence de la phase minérale dans le composite améliore les propriétés mécaniques du polymère PLLA.

Tableau IV.3: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des composites HA/PLLA denses

Composite	PLLA0	PLLA10	PLLA25	PLLA50
R(MPa)	-----	6,39± 1,40	7,16± 0,77	10,60± 1,52
E(MPa)	50,72± 8,42	64,52± 6,42	75,73± 8,97	80,80± 9,40

Le module d'élasticité des composites denses varie dans le même sens que la résistance en compression. Il passe de $50,72 \pm 8,42$ MPa à $80,80 \pm 9,40$ MPa lorsque la

quantité d'hydroxyapatite passe de 0 à 50 %. Des modules d'élasticité plus élevés auraient pu être obtenus avec des polymères de plus haut poids moléculaire [75]. Le polymère PLLA se caractérise par un module d'élasticité modeste de 50,72 MPa. Néanmoins, l'ajout de l'hydroxyapatite à ce polymère a conduit à des composites plus résistants aux forces de compression. Le taux de déformation de ces composites diminue lorsque la quantité d'hydroxyapatite augmente. On constate sur la courbe contrainte-déformation (figure IV.1 (a)), cas où de l'hydroxyapatite a été introduite dans le polymère PLLA, la présence de deux zones : une zone élastique pour les petites déformations et une zone plastique jusqu'à rupture.

Le PLLA seul résiste très peu aux forces de compression et sa déformation est très importante. La figure IV.1 (b) représente la courbe contrainte-déformation du PLLA. Cette courbe a été obtenue pour un essai non terminé. L'arrêt de l'essai a été volontaire pour ne pas endommager la machine car le PLLA se déforme continuellement jusqu'à $\ell \approx \ell_0$ et $\Delta \ell \approx \ell$.

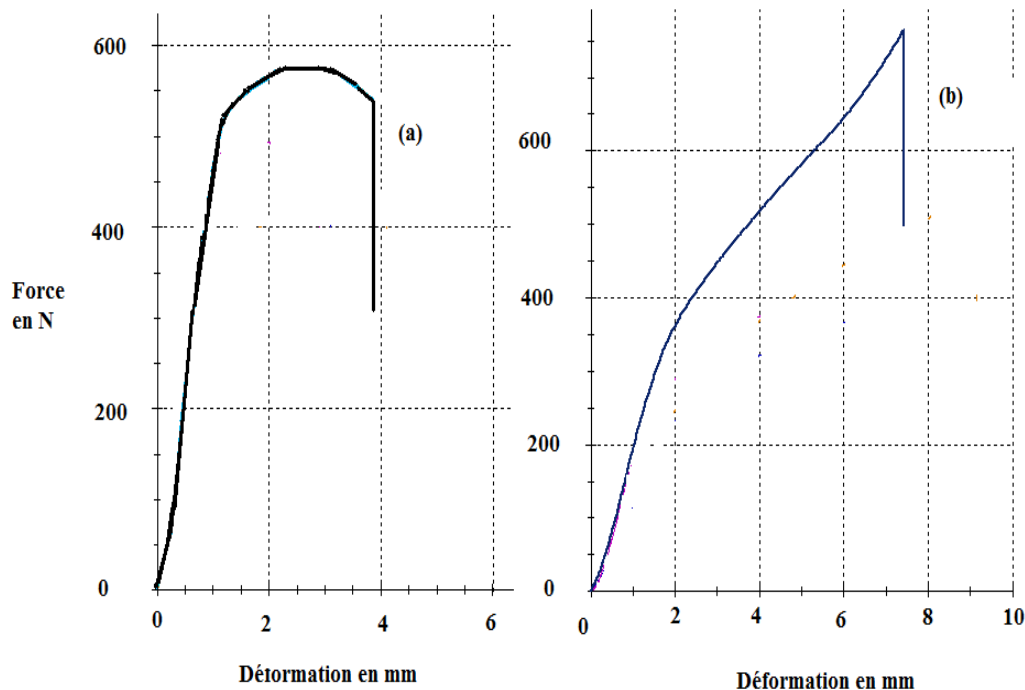


Figure IV.1: Courbe contrainte-déformation: (a) PLLA-HA ($l_0 = 14\text{mm}$, $l = 3,8\text{mm}$); (b) PLLA ($l_0 = 14,82\text{mm}$, $l = 7,5\text{mm}$)

IV.2.2. Propriétés physiques des composites HA/PLLA poreux

Nous analyserons dans ce qui suit les résultats obtenus sur l'influence de la quantité d'apatite sur les propriétés mécaniques des composites HA/PLLA poreux préparées avec 50 % de porogène.

IV.2.2.1. Densité et porosité

Tableau IV.4: Densité et porosité des composites HA/PLLA poreux avec 50% de porogène

Composite	PLLA0/50	PLLA10/50	PLLA25/50	PLLA50/50	PLLA80/50
Densité (g/cm ³)	0,48± 0,008	0,49± 0,003	0,60± 0,010	0,64± 0,070	0,76± 0,040
Porosité (%)	61,60	63,15	59,23	64,24	68,57

On constate à partir des résultats du tableau IV.4 que, pour la même quantité de porogène (50 %), la densité des composites augmente lorsque la quantité d'hydroxyapatite introduite dans la matrice polymère augmente. De même, on constate que pour la même quantité de porogène, la porosité augmente avec la quantité d'hydroxyapatite dans le composite. Elle varie de 61,60 à 68,57 % lorsque la quantité d'hydroxyapatite passe de 0 à 80 %. La porosité mesurée n'est pas égale à la quantité de porogène introduite dans le composite, elle augmente avec la quantité d'hydroxyapatite à l'exception du composite PLLA25/50. L'augmentation de la porosité peut s'expliquer par la création de vide après introduction de l'hydroxyapatite, ce qui laisse apparaître une porosité supplémentaire. La porosité des composites PLLA25/50 est la plus faible, ceci peut être expliqué par le phénomène de rétrécissement constaté lors de l'étape de lavage. Un phénomène de gonflement a été constaté pendant l'étape de lavage dans le cas des matériaux en PLLA pur.

IV.2.2.2. Propriétés mécaniques

Pour la même quantité de porogène (50 %), on constate que la résistance à la rupture en compression et le module d'élasticité des composites PLLA/HA augmente lorsque la

quantité d'apatite passe de 0 à 25 % puis diminue pour des quantités d'hydroxyapatite supérieures (tableau IV.5, figures IV.2 et IV.3). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Robert et ses collaborateurs [76] pour des composites PLGA/FHA de porosité égale à $47\% \pm 0,02$. Ces auteurs ont montré que la résistance à la rupture en compression des composites PLGA/FHA est maximale ($2,82 \pm 0,63$ MPa) pour une quantité de fibres d'apatite égale à 35 %. Au-delà de cette quantité, la résistance en compression diminue. Le module d'élasticité est maximal pour la même quantité de fibres d'apatite (35 %) et il est de 82 ± 30 MPa. Des résultats similaires ont été aussi trouvés par Moncy et ses collaborateurs [46] dans le cas des composites PLGA/HA. Ces auteurs ont montré que pour une quantité d'hydroxyapatite allant de 1 à 5 %, les propriétés mécaniques des composites sont améliorées. Ces propriétés mécaniques diminuent lorsque la quantité d'hydroxyapatite dans le composite est de 10 et 20 %.

La diminution de la résistance à la rupture en compression des composites à 50 et 80% d'hydroxyapatite peut s'expliquer par la présence de zones d'interactions hydroxyapatite-hydroxyapatite non renforcées par le PLLA.

Tableau IV.5: Résistance à la rupture et module d'élasticité en compression des composites poreux HA/PLLA

Composite	Rr(MPa)	E(MPa)
PLLA0/50	$1,47 \pm 0,01$	138 ± 5
PLLA10/50	$1,55 \pm 0,14$	149 ± 6
PLLA25/50	$2,23 \pm 0,14$	159 ± 2
PLLA50/50	$2,11 \pm 0,26$	149 ± 7
PLLA80/50	$1,88 \pm 0,50$	97 ± 14

Avec erreur = $\frac{\Delta Rr}{Rr} \times 100$

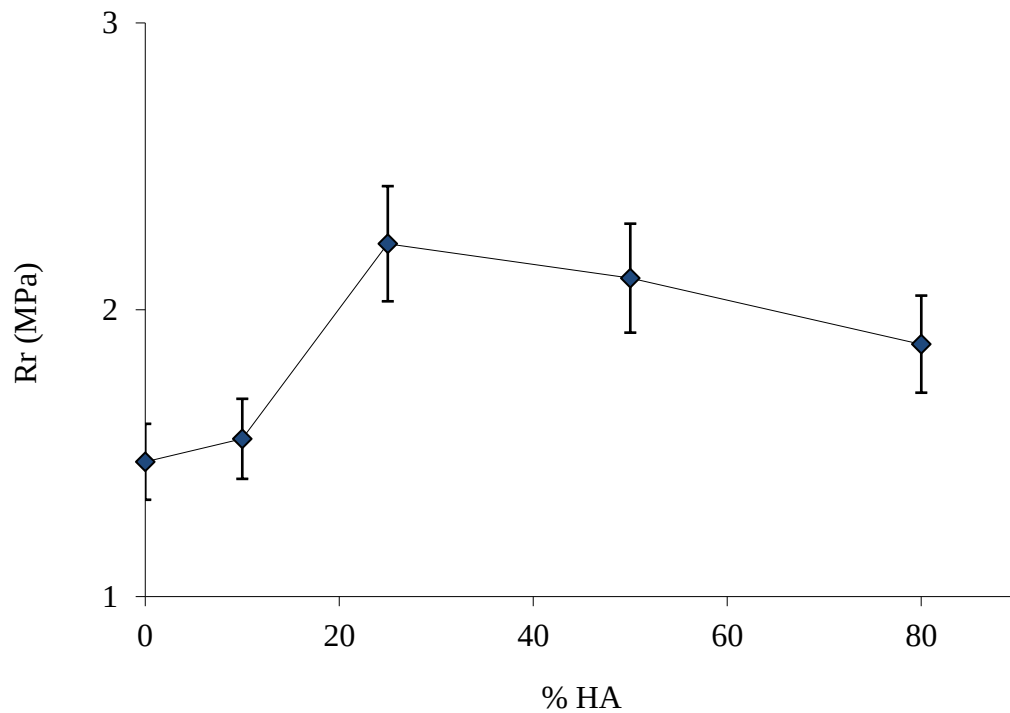


Figure IV.2: Résistance à la rupture en compression des composites PLLA/HA poreux (50% de porogène) en fonction de la quantité d'apatite

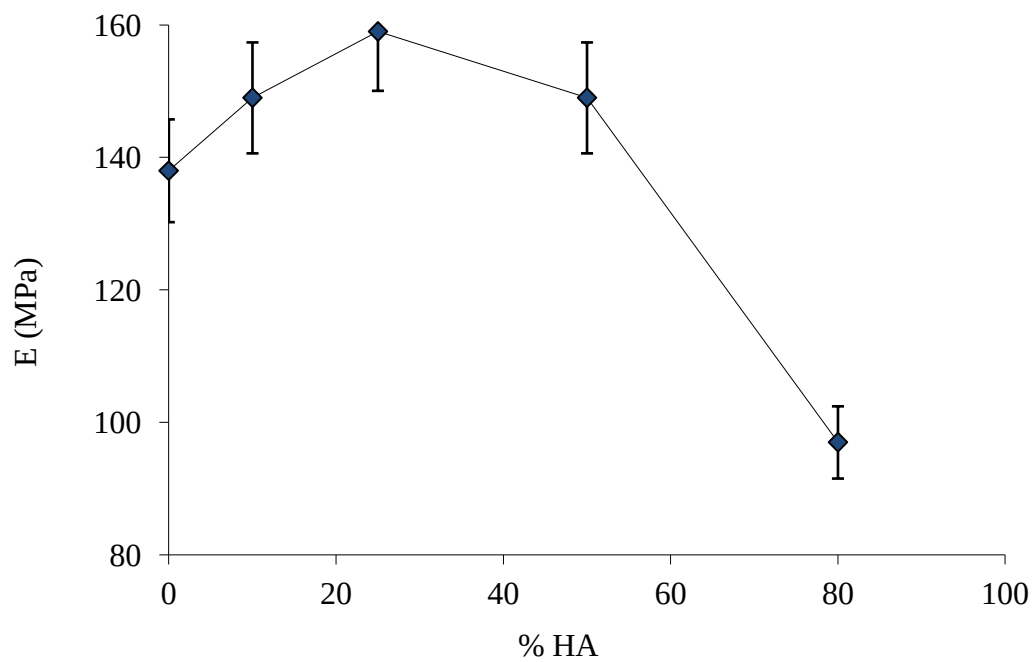


Figure IV.3: Module d'élasticité des composites HA/PLLA poreux (50% de porogène) en fonction de la quantité d'apatite

La porosité des composites PLLA50 préparée avec 35 et 50% de porogène est illustrée par les images 1 et 2. Les composites à 35% de porogène sont moins poreux et les pores sont petits. Les composites à 50% de porogène sont plus poreux et on constate la présence des gros et petits pores. Les images 1 et 2 montrent que le mélange (HA, PLLA) est bien homogène, aucune zone montrant une séparation des phases solides organique et minérale n'a été constatée.



Image 1: Composite PLLA 50/35



Image 2: Composite PLLA50/50

IV.3. Etude de la dégradation in vitro des composites HA/PLLA

Des tests de dégradation in vitro (dans l'eau distillée) des composites contenant 35 et 50 % de porogène ont été réalisés. Ces composites ont été vieillis dans 300 ml d'eau distillée (pH = 6,8) pendant un mois et deux ans. Le taux de dégradation des composites a été estimé en mesurant la concentration des ions calcium contenu dans chaque solution de dégradation et le pH de ces mêmes solutions.

IV.3.1. Variation du pH et de la concentration des ions calcium en fonction du temps

La variation du pH et de la concentration des ions calcium des solutions contenant les différents composites, en fonction du temps et de la quantité de porogène, est représentée par les figures IV.4 et IV.5.

Pour une quantité de porogène identique, le pH des solutions contenant les différents composites augmente et tend vers des pH moins acides lorsque la quantité d'apatite augmente. L'acidité des différentes solutions diminue lorsque le temps de vieillissement des composites augmente. Le pH des solutions contenant le PLLA pur varie très peu avec le temps de vieillissement, ce qui montre que la dégradation du PLLA dans un milieu aqueux est très lente (figure IV.4). La concentration des ions calcium dans les différentes solutions varie dans le même sens que le pH. Elle augmente avec le temps de vieillissement et la quantité d'hydroxyapatite dans le composite (figure IV.5).

Pour un temps de vieillissement identique, la variation de pH en fonction de la quantité de porogène n'est appréciable que pour les matériaux en PLLA pur comparativement aux matériaux composites HA/PLLA (figure IV.6). Cette variation peut s'expliquer ainsi : les polymères PLLA35 sont moins poreux que les polymères PLLA50 et les pores sont petits. Ceci rend difficile le passage des produits de dégradation du PLLA35 vers la solution et un phénomène d'autocatalyse se produit. Ce phénomène d'autocatalyse conduit à une augmentation de la vitesse de dégradation du polymère PLLA35 et par conséquent de l'acidité de la solution. La quantité de porogène n'a pas d'influence significative sur le pH des solutions contenant les composites HA/PLLA.

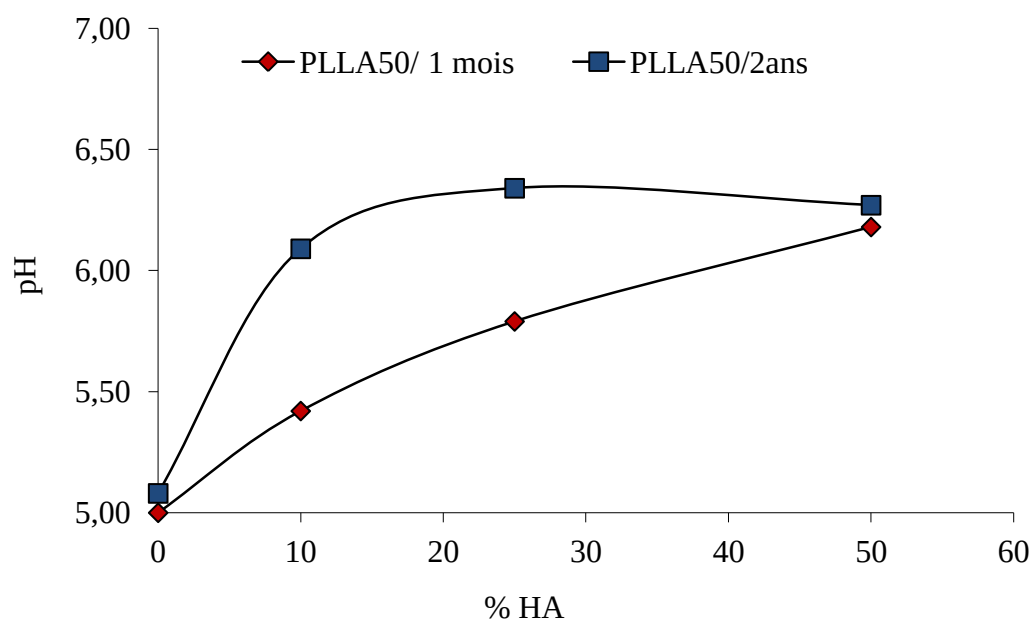


Figure IV.4: Variation du pH des solutions contenant les composites PLLA/HA (50% de porogène) vieillissant pendant un mois et deux ans; température ambiante

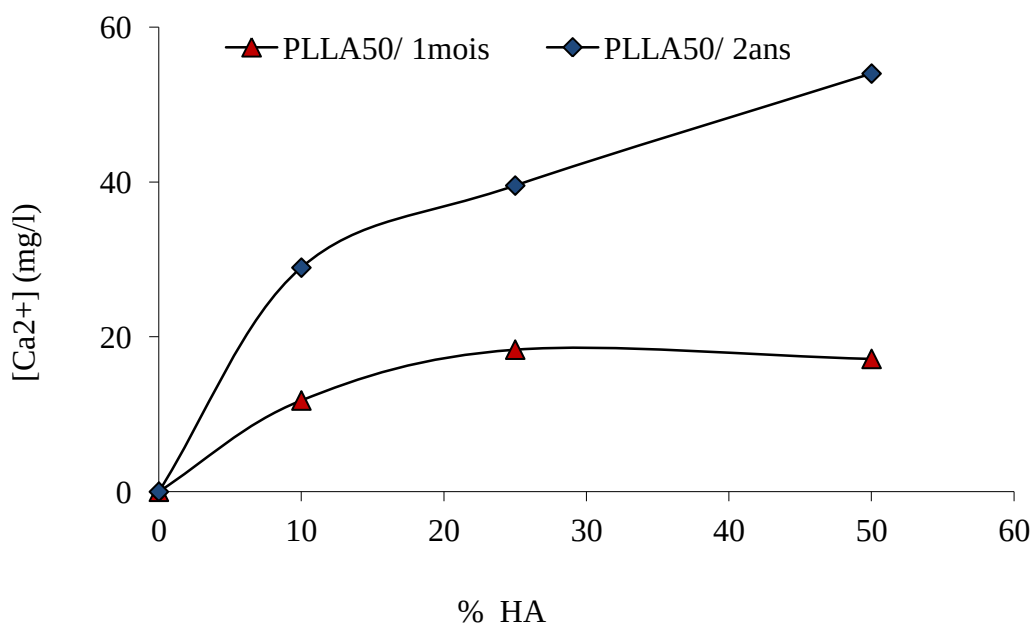


Figure IV.5: Variation de la concentration des ions calcium dans les solutions contenant les composites PLLA/HA (50% de porogène) vieillissant pendant un mois et deux ans, température ambiante

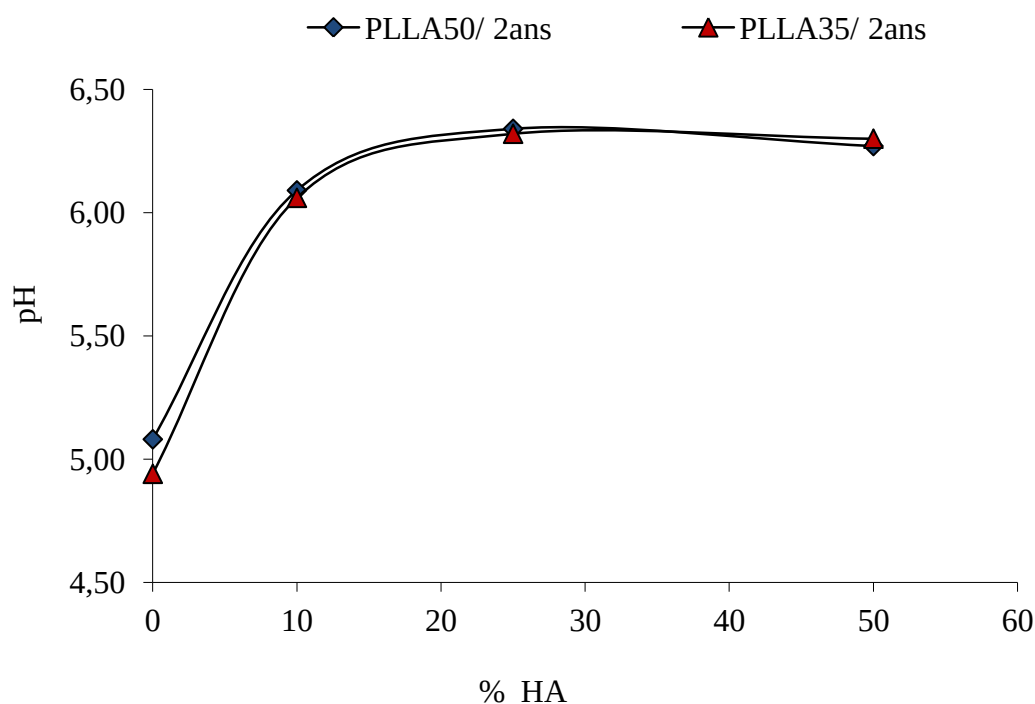


Figure IV.6: Variation du pH des solutions contenant les composites PLLA/HA (35 et 50% de porogène) vieillies pendant deux ans; température ambiante

En revanche, d'un point de vue concentration des ions calcium, on constate sur la figure IV.7 que : pour des quantités d'apatite inférieures à 30 %, la concentration des ions Ca^{2+} dans les solutions contenant les composites à 35 % de porogène est plus élevée que celle des solutions contenant les composites à 50% de porogène. Ceci montre que les composites HA/PLLA35 se dégradent plus vite que les composites HA/PLLA50. La dégradation moindre des composites HA/PLLA 50 peut être attribuée à la porosité élevée de ces composites et à la présence de gros pores qui facilitent le passage des produits de dégradation vers la solution et empêchent ainsi le phénomène d'autocatalyse.

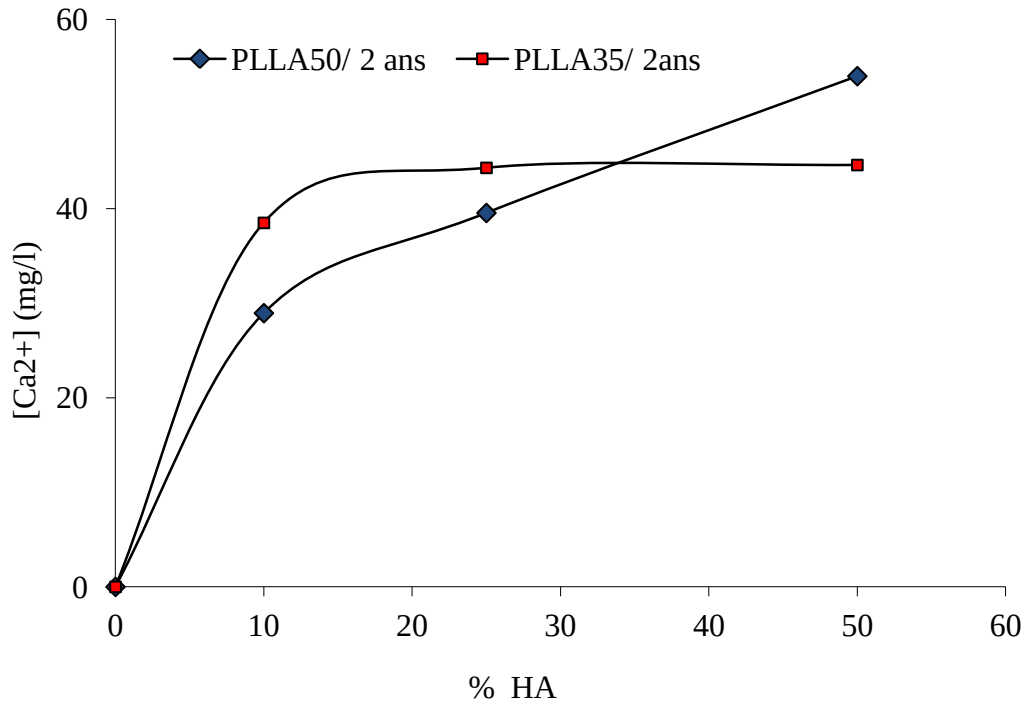


Figure IV.7: Variation de la concentration des ions calcium des solutions contenant les composites PLLA/HA (35 et 50% de porogène) vieillies pendant deux ans; température ambiante

IV.3.2. Perte de masse

La perte de masse des composites PLLA/HA vieillies pendant deux ans est représentée par la figure IV.8. On constate que la perte de masse est moins importante lorsque la quantité d'hydroxyapatite dans le composite augmente. Les valeurs de la perte de masse, qui caractérise le taux de dégradation, montre que les polymères PLLA pur sont plus dégradés que les composites HA/PLLA [77].

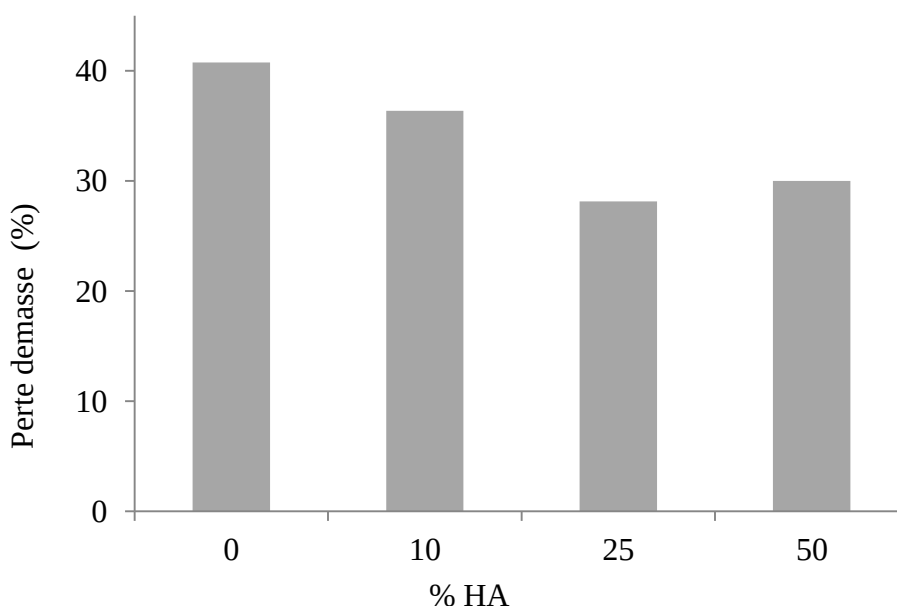


Figure IV.8: Perte de masse des composites PLLA/HA avec 50% de porogène après deux ans de vieillissement dans l'eau distillée

IV.3.3. Propriétés physiques des composites PLLA/HA

IV.3.3.1. Porosité

On constate à partir de la figure IV.9 que la porosité des composites HA/PLLA augmente avec le temps de vieillissement.

Pour un temps de vieillissement de un mois, la porosité des composites HA/PLLA diminue lorsque la quantité d'hydroxyapatite passe de 0 à 25 % puis augmente pour 50 % d'apatite. La porosité élevée des polymères PLLA pur par rapport à ceux contenant de l'apatite peut s'expliquer par le phénomène de gonflement constaté pendant l'étape de lavage. En revanche, un phénomène de rétrécissement a été constaté pour les composites HA/PLLA à 10 et 25 % d'hydroxyapatite, ce qui a conduit à une diminution de la porosité. La porosité des composites HA/PLLA à 50 % d'hydroxyapatite est supérieure à celle des polymères PLLA pur. Ceci est dû à une faible interaction entre la phase organique et la phase minérale, ce qui a laissé apparaître des vides en plus de la porosité laissée par l'élimination du sel porogène.

Pour un temps de vieillissement de deux ans, la porosité augmente par rapport à ceux vieillis pendant un mois. La porosité des polymères PLLA pur est plus élevée par rapport à celle des composites à 10 et 25 % d'hydroxyapatite. La porosité des composites HA/PLLA à 50 % de porogène n'a pas été mesurée. Ces composites sont devenues très friables après un temps de vieillissement de deux ans.

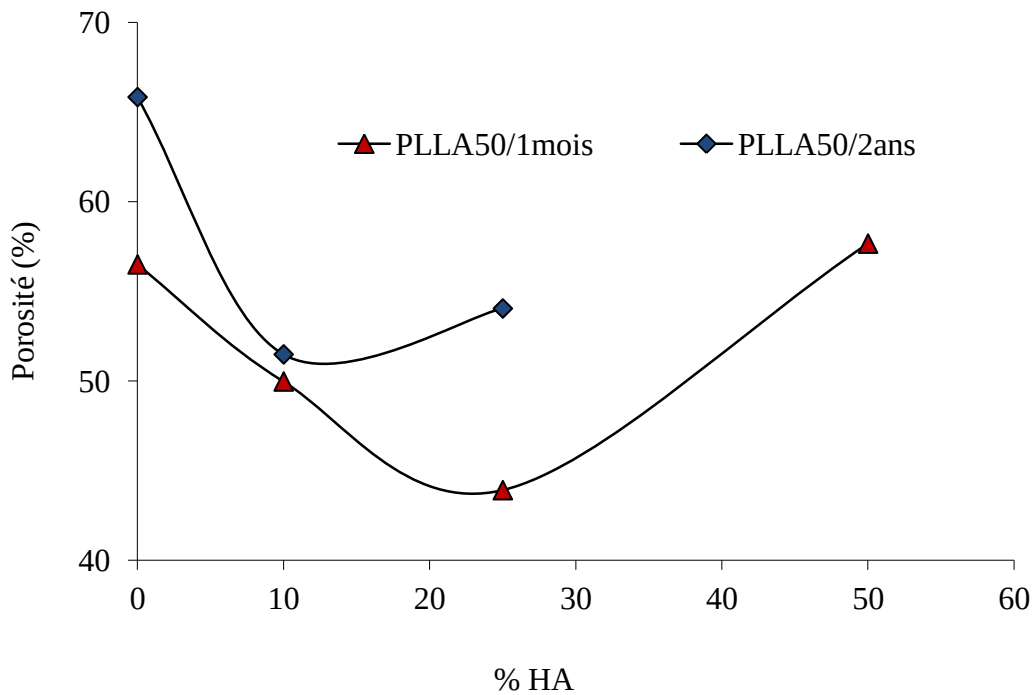


Figure IV.9: Variation de la porosité des composites PLLA/HA (50% de porogène) en fonction du temps de vieillissement

IV.3.3.2. Propriétés mécaniques

La figure IV .10 montre que la résistance à la rupture en compression des composites HA/PLLA diminue avec le temps de vieillissement. Le vieillissement a conduit, en effet, à une détérioration des propriétés mécaniques de ces composites. Quelque soit le temps de vieillissement, la résistance en compression des composites augmente lorsque la quantité d'hydroxyapatite passe de 0 à 25 % puis diminue pour 50 % d'hydroxyapatite. La résistance en compression varie en sens inverse de la porosité.

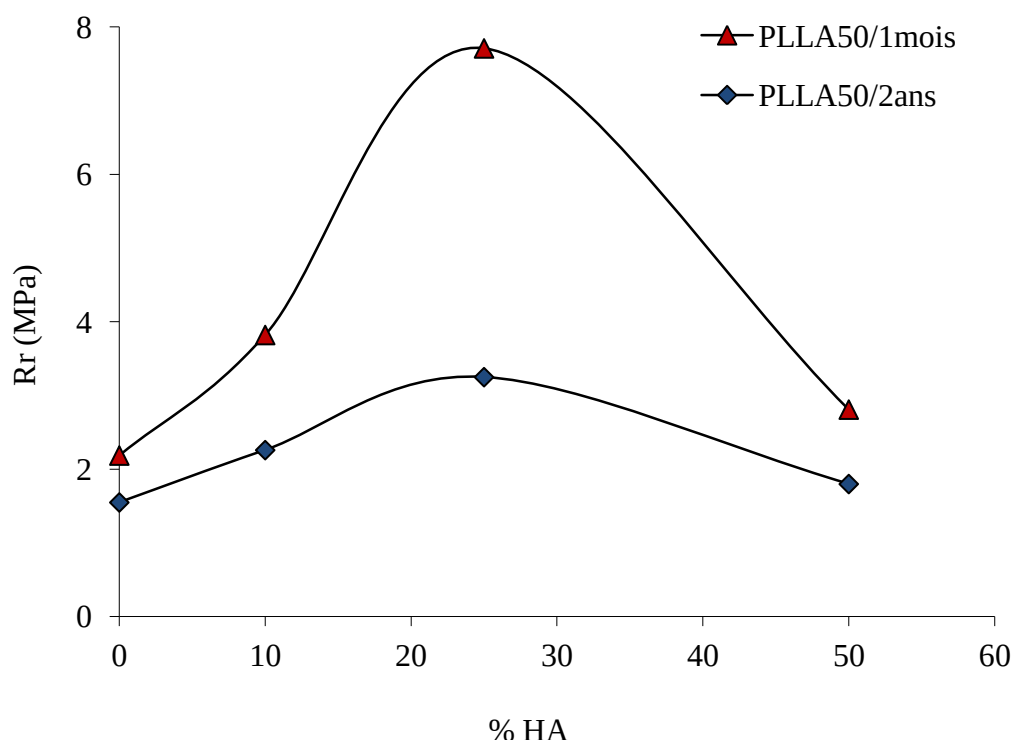


Figure IV.10: Résistance à la rupture en compression des composites PLLA/HA (50% de porogène) après un mois et deux ans de vieillissement dans l'eau distillée; température ambiante

IV.4. Etude de la cinétique de relargage du sel NaCl à partir des composites HA/PLLA, à température ambiante

Nous avons étudié la cinétique de relargage du sel NaCl, par les composites HA/PLLA, en mesurant la conductivité des solutions en fonction du temps. Les résultats de la figure IV.11 et IV.12 montrent que la conductivité des solutions de relargage augmente avec le temps, c.à.d. que, la concentration du sel porogène augmente. Pour les deux porosités (35 et 50 %), on constate que la conductivité des solutions de relargage augmente lorsque la quantité d'hydroxyapatite dans le composite augmente. Ainsi, la présence de l'hydroxyapatite dans le composite facilite le passage du sel NaCl par dissolution à travers le polymère PLLA vers la solution aqueuse. Le relargage du sel NaCl à partir du matériau polymère pur est très lent comparativement aux matériaux composites.

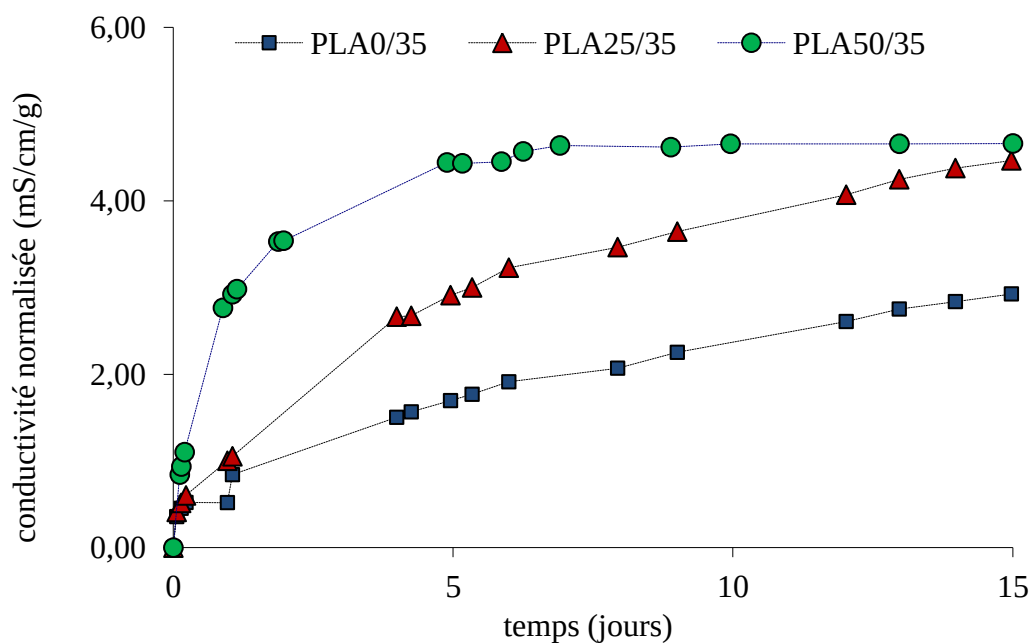


Figure IV.11: Conductivité des solutions de relargage contenant les composites préparées avec 35% de porogène; température ambiante

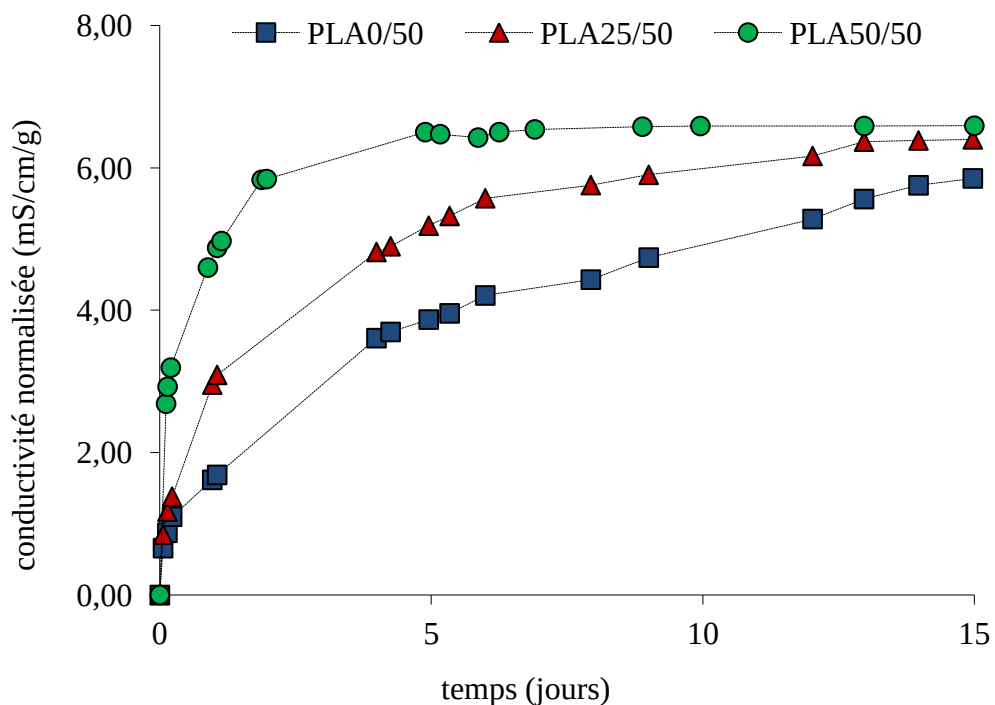


Figure IV.12: Conductivité des solutions de relargage contenant les composites préparées avec 50% de porogène; température ambiante

D'un point de vue porosité (ou quantité de porogène), on constate que plus la quantité de porogène est élevée plus le relargage du sel à partir de ces matériaux est rapide (figure IV.13).

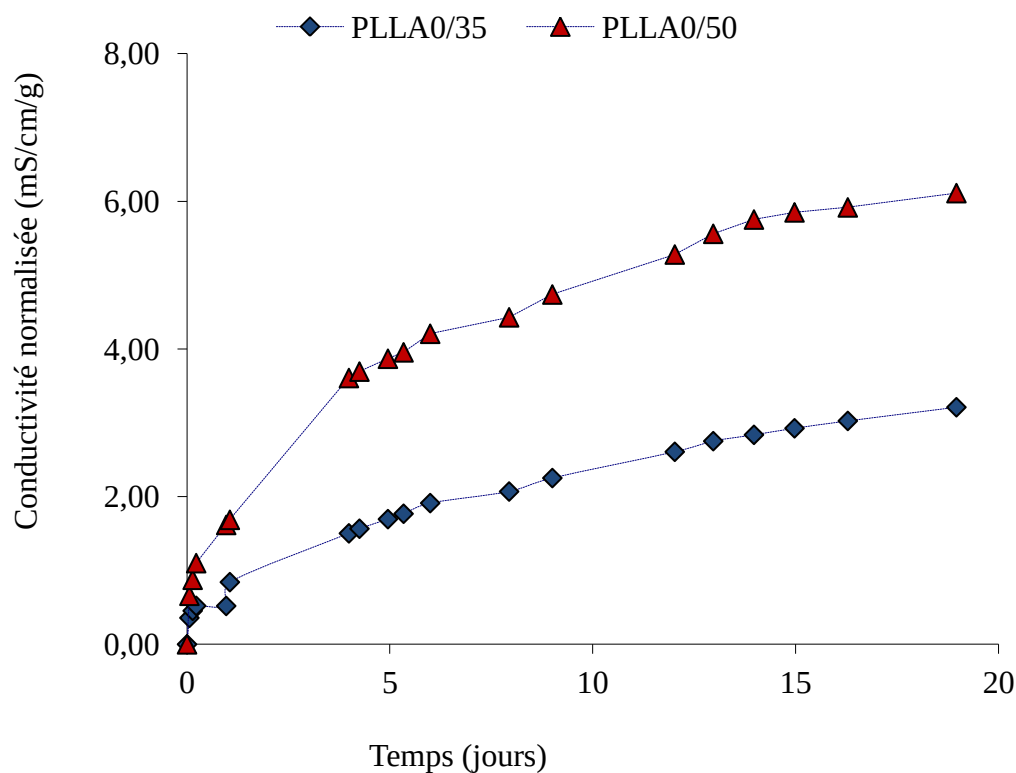


Figure IV.13: Conductivité des solutions de relargage contenant les composites avec 35% et 50% de porogène; température ambiante

La représentation graphique de $\ln (C_0 - C_t) / C_0$ en fonction du temps est une droite de pente k . La cinétique de relargage du sel NaCl est donc une cinétique d'ordre un (Figures IV.14. et IV.15).

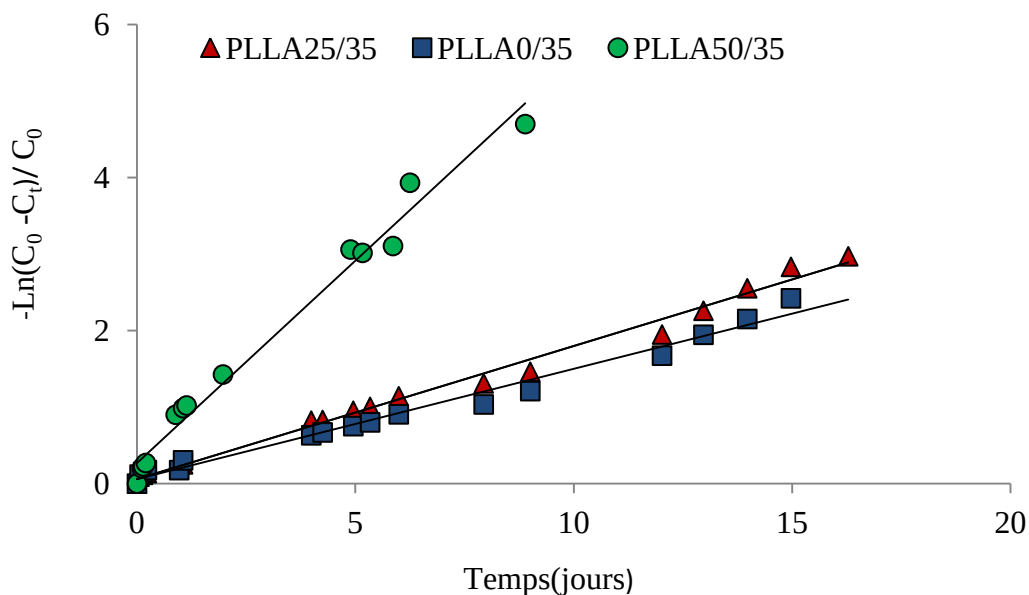


Figure IV.14: Représentation graphique de la courbe $\text{Ln} (C_0 - C_t)/C_0$ en fonction du temps (composites PLLA/HA avec 35% de porogène)

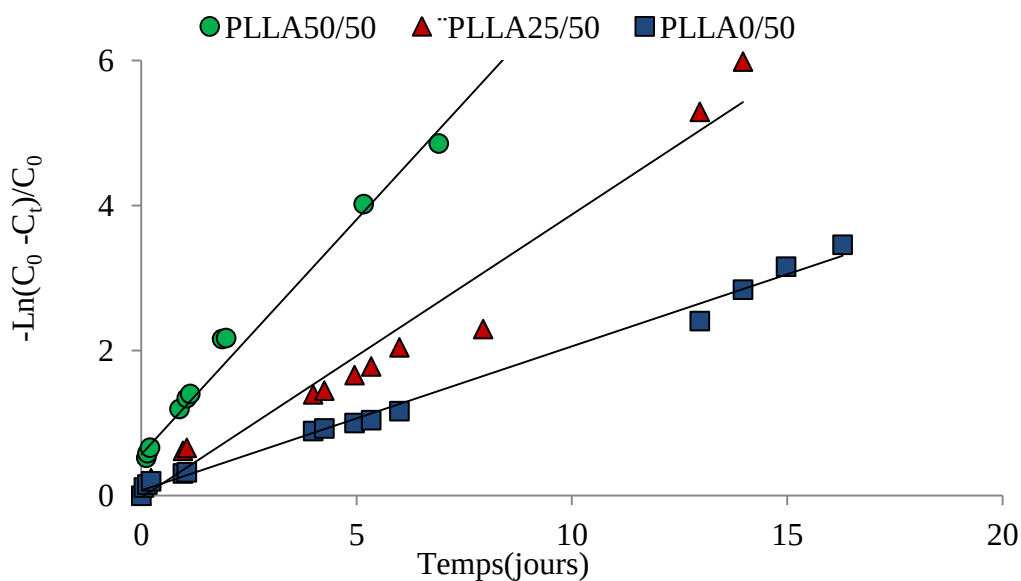


Figure IV.15: Représentation graphique de la courbe $\text{Ln} (C_0 - C_t)/C_0$ en fonction du temps (composites PLLA/HA avec 50% de porogène)

C_0 : Conductivité de la solution après dissolution totale du sel NaCl ; C_t : Conductivité de la solution à l'instant t.

Les résultats rassemblés dans le tableau IV.6 montrent que les constantes de vitesse dépendent de la quantité d'hydroxyapatite et de porogène dans le composite. Lorsque la quantité d'apatite augmente (0 à 50 %), la constante de vitesse passe de 0,143 à 0,528 jours⁻¹ pour les composites à 35 % de porogène et de 0,198 à 0,648 jours⁻¹ pour les composites à 50 % de porogène. Les constantes de vitesse augmentent aussi avec l'augmentation de la quantité de porogène.

Tableau IV.6: Constante de vitesse à température ambiante

Composite	k (jours ⁻¹)	R ²
PLLA0/35	0,143	0,98
PLLA25/35	0,173	0,99
PLLA50/35	0,528	0,98
PLLA0/50	0,198	0,99
PLLA25/50	0,390	0,96
PLLA50/50	0,648	0,98

IV.5. Conclusion

Les résultats de la première partie de ce travail ont montré que la quantité maximale d'apatite que l'on peut introduire dans la matrice polymère, pour fabriquer des composites denses, ne peut pas excéder 80 %. Nous avons pu obtenir des composites denses de densité égale à 80,70 % pour 50 % d'hydroxyapatite et ceci sans comprimer sous pression les éprouvettes et/ou cylindre lors de l'étape de mise en forme. L'ajout de l'hydroxyapatite

dans la matrice polymère augmente la résistance à la rupture et le module d'élasticité en compression du polymère PLLA.

Nous avons utilisé la méthode dite de « solvant casting salt leaching » pour fabriquer des composites HA/PLLA poreux. Cette méthode nous a montré qu'il est possible de fabriquer des composites de porosité contrôlée en faisant varier la quantité de porogène. La porosité des composites à 25 % d'hydroxyapatite est la plus faible comparativement aux matériaux en PLLA pur et ceux contenant 10, 50 et 80 % d'apatite, ceci est dû au phénomène de rétrécissement constaté pendant l'étape de lavage. On assiste, en revanche, à un phénomène de gonflement lorsque le matériau n'est composé que du PLLA pur. Dans tous les cas on a obtenu des composites HA/PLLA de porosité supérieure à la quantité de porogène introduite.

D'un point de vue propriétés mécaniques, l'ajout de l'hydroxyapatite à la matrice polymère nous a permis d'obtenir des composites de plus en plus résistants aux forces de compression en fonction de la quantité d'hydroxyapatite. La résistance à la rupture en compression des composites est maximale pour 25 % d'hydroxyapatite ($2,23 \pm 0,14 \text{ MPa}$) puis diminue pour des quantités supérieures. Des quantités d'apatite supérieures à 25% ne peuvent donc pas être considérées comme renforts. Ces résultats montrent que ces matériaux composites poreux ne peuvent pas être utilisés dans des zones très sollicitées mécaniquement sans ostéosynthèse d'accompagnement.

Le module d'élasticité des composites poreux varie dans le même sens que la résistance à la rupture en compression. La présence de l'hydroxyapatite dans la matrice polymère conduit à la diminution du taux de déformation des composites correspondants lors de la compression.

Les matériaux en PLLA pur non poreux ont une faible résistance en compression, ils ont le même comportement que le collagène dans le tissu osseux. La bonne résistance en compression des composites HA/PLLA dense est attribuée à la contribution de la phase minérale (hydroxyapatite).

Le phénomène de dégradation des composites HA /PLLA, in vitro, a été mis en évidence par la variation du pH et la présence des ions calcium dans les solutions de

relarguage, les pertes de masses et les propriétés physiques de ces matériaux. L'acidité des solutions est attribuée aux produits de dégradation du polymère d'acide lactique et les ions calcium proviennent de la dissolution de l'hydroxyapatite et du phosphate tricalcique. L'intérêt de l'ajout du phosphate tricalcique dans le composite PLLA/HA est d'augmenter la solubilité de l'hydroxyapatite. Pour un temps de vieillissement égal à deux ans, les pertes de masse mesurées ont montré que les matériaux en PLLA pur sont plus dégradés que les composites HA/PLLA et la dégradation de ces derniers diminue lorsque la quantité d'hydroxyapatite augmente. In vitro, la dégradation totale des matériaux en PLLA pur poreux nécessite plus de deux ans de vieillissement. L'acidité des produits de dégradation du PLLA est diminuée par la présence de l'hydroxyapatite qui agit comme un tampon.

Le vieillissement in vitro des composites HA/PLLA poreux a conduit à une augmentation de leur porosité et à la diminution de leur résistance en compression. Les composites HA/PLLA50 vieillis n'ont aucune résistance mécanique, ce qui montre que le PLLA qui joue le rôle de renfort, est pratiquement dégradé.

Le composite HA/PLLA 25 semble être le meilleur candidat pour la substitution osseuse. Il présente une bonne résistance en compression et une bonne porosité (environ 60%) comparativement aux autres composites. Au cours de sa dégradation : l'acidité des produits de dégradation du PLLA est mieux baissée ce qui implique une diminution des réactions inflammatoires in vivo. La porosité du composite a augmenté, ce qui facilite sa colonisation par l'os néoformé, et sa résistance mécanique est maintenue.

La cinétique de relarguage du sel porogène (NaCl) à partir des composites HA/PLLA est d'ordre un, c.à.d. que la quantité de sel NaCl relarguée diminue avec le temps. La durée de relarguage dépend de la quantité d'apatite et de porogène dans le composite, elle est de 15 jours ou plus. La vitesse de relarguage du sel NaCl est plus élevée pour les composites contenant 50 % de porogène que ceux contenant 35 % de porogène. Ces résultats montrent que les composites HA/PLLA peuvent être utilisés pour relarguer des principes actifs solubles et introduit pendant l'étape de mélange des produits de synthèse des composites.

ChapitreV

Utilisation des céramiques d'hydroxyapatite pour la libération contrôlée de principe actif

Chapitre V : Utilisation des céramiques d'hydroxyapatite pour la libération contrôlée de principe actif

De part leurs propriétés d'ostéoconduction (support à la croissance osseuse) et de bioactivité, nécessaires à la reconstruction osseuse, les céramiques de phosphate de calcium poreuses sont élaborées afin de les utiliser comme systèmes à libération contrôlée de molécules actives. Ces systèmes ont pour objectif de cibler la zone de relargage et de maîtriser la cinétique de libération [78,79]. Dans le présent chapitre, nous avons utilisé des céramiques d'hydroxyapatite de synthèse à 0, 5 et 20% de porogène pour étudier la cinétique de libération de trois principes actifs : le métronidazole, le kétoprofène et le chloramphénicol. Le choix de ces médicaments est basé sur leurs structures chimiques différentes. Ces molécules ont été utilisées dans le but d'avoir un effet antibiotique local et/ou anti-inflammatoire pour des implants en céramiques d'hydroxyapatite à usage orthopédique ou dentaire. Nous avons exposé les deux méthodes d'inclusion des médicaments que nous avons utilisés puis nous avons décrit les mécanismes mis en jeu lors du relargage en utilisant des modèles mathématiques classiques. Dans le cas où ces modèles mathématiques ne sont pas applicables et en particulier dans le cas des médicaments inclus dans les céramiques sous forme de poudre, nous avons essayé de développer deux modèles mathématiques, en fonction de la localisation du médicament, en utilisant les lois de diffusion de Fick. Nous avons en effet apporté une modification dans les équations de diffusion de Fick en ajoutant au coefficient de diffusion D le paramètre géométrique α . Les allures des courbes théoriques obtenues ont été comparées à celle des profils de relargage obtenus expérimentalement.

V.1. Céramiques d'hydroxyapatite et principe actif

Les céramiques d'hydroxyapatite que nous avons utilisées pour étudier le relargage de principe actif sont celles fabriquées avec 0 ; 5 et 20% de porogène et frittées à 1200°C. Nous avons utilisé les céramiques de formes cylindrique et sphérique.

Les principes actifs utilisés sont : Le métronidazole (2-méthyl-5-nitroimidazole-1-éthanol, 98%), Le chloramphénicol (2,2-dichloro-N-(1R, 2R)-2-hydroxy-1-

(hydroxyméthyl)-2-(4-nitrophényl) acetamide, 99%) et le kétoprofène (acide (RS)-2-(3-benzoylphényl) propionique).

Les masses moléculaires du métronidazole, chloramphénicol et kétoprofène sont respectivement de 171,154 ; 323,129 et 254,2806 g/mol et leurs solubilités dans l'eau à 25°C sont de : 9,5 ; 2,5 et 51.10^{-3} g/l respectivement. Ces principes actifs ont été fournis par la société SIGMA et utilisés sans purification supplémentaire.

V.2. Inclusion de principe actif dans les céramiques d'hydroxyapatite

Nous avons utilisé deux méthodes afin d'inclure le principe actif dans les céramiques d'hydroxyapatite:

Méthode n° 1

Il s'agit de la méthode d'imprégnation. Nous avons utilisé pour cela les céramiques poreuses de forme cylindriques et le principe actif dissout dans le méthanol. La concentration des solutions de métronidazole, kétoprofène et chloramphénicol est de 25g/l. Elles ont été préparées dans le méthanol par dissolution de 50 mg de médicament dans 2 ml de méthanol. L'imprégnation a été réalisée en déposant goutte à goutte 2 ml de chaque solution en utilisant une pipette pasteur. Les céramiques chargées de principes actifs ont été séchées pendant une nuit à la température ambiante.

Nous avons utilisé du PLLA pour ralentir le relargage du métronidazole lorsque celui-ci est rapide. Nous avons pour cela immergées les céramiques poreuses chargées de médicament pendant quelques minutes dans des solutions de PLLA dissout dans le chloroforme. Les solutions de PLLA sont de concentration massique de 10 et 20%. La surface des céramiques a été ensuite essuyée pour enlever l'excès de PLLA. Après un séchage de plusieurs jours à l'air, le pourcentage massique de PLLA fixée sur chaque céramique a été déterminé en calculant la différence de masse avant et après imprégnation.

Méthode n ° 2

Le principe actif est introduit directement sous forme de poudre dans les céramiques poreuses. Afin d'inclure le principe, nous avons réalisé un trou de 1mm de longueur au centre de la base de chaque cylindre et/ ou sphère. Des quantité de médicaments ont été introduites puis déterminées par pesée. Les trous remplis de médicament ont été ensuite refermés avec de la paraffine. Toute la surface de la céramique cylindrique a été recouverte de paraffine, seule la face opposée à la face contenant le médicament a été laissé libre. Le médicament sera donc libéré à partir de la surface non recouverte avec de la paraffine. Ces céramiques chargées sont notées C1. Un deuxième type de céramique chargée de principe actif noté C2 a été aussi réalisé. Elle s'agit des céramiques d'hydroxyapatite dans lesquelles nous avons réalisé un trou de 1mm de longueur au centre de chacune des deux bases du cylindre qu'on a ensuite rempli avec une quantité de médicament. Seules les surfaces des bases du cylindre ont été refermées à l'aide de la paraffine, le reste de la surface du cylindre a été laissé libre. Un trou rempli de médicament puis refermé avec de la paraffine a été aussi réalisé dans le cas des céramiques d'hydroxyapatite de forme sphérique.

V.3. Méthodes utilisées pour étudier la cinétique de relargage

L'étude cinétique a été réalisée sur 48h dans le cas des céramiques chargées de médicament par imprégnation et pendant plusieurs jours dans le cas des médicaments incorporé sous forme de poudre, à 37°C. Les céramiques chargées de médicament par imprégnation ont été introduites dans des flacons en polyéthylène contenant 25 ml de solution tampon Tris, à pH 7,3. La solution tampon utilisée contient 228 ml d'une solution aqueuse de tris (hydroxyméthyl) aminométhane à 0,4M et 152 ml d'acide chlorhydrique HCl à 0,4M, complétée jusqu'à 500ml avec de l'eau distillé. Le pH de la solution obtenue est de 7,3. Pour déterminer la quantité de médicament relarguée, 3 ml de solution ont été prélevés toutes les 10 min, dosés par spectroscopie UV et remis en fin de mesure dans le flacon.

Lorsque le médicament est incorporé dans les céramiques poreuses sous forme de poudre, l'étude cinétique a été réalisé en suspendant horizontalement les cylindres de céramiques d'hydroxyapatite chargées de médicament à l'aide d'un fil en Inconel dans des

flacons en polyéthylène contenant 40ml d'eau distillé. Les solutions de relargage ont été homogénéisées par agitation en utilisant un agitateur magnétique. Le dosage des solutions de relargage a été réalisé toutes les heures en prélevant 3ml de solution qu'on dose par spectroscopie UV et que l'on remet en fin de mesure dans le flacon. L'eau est changée lorsque l'absorbance est supérieure à 1,5.

Pour vérifier qu'aucune interaction chimique n'a lieu entre le médicament et la céramique d'hydroxyapatite, nous avons ajouté de la poudre d'hydroxyapatite à chacune des solutions de principe actif et nous avons mesuré l'absorbance. L'absorbance est ensuite comparé à celle de la solution contenant le principe actif seul. Les absorbances mesurées sont identiques, ce qui montre qu'aucune adsorption du principe actif n'a eu lieu sur la surface de l'hydroxyapatite.

V.4. Cinétique de relargage de principe actif inclut dans les céramiques par imprégnation

V.4.1. Cinétique de relargage du métronidazole

La figure V.1 montre que la libération du métronidazole par la céramique d'hydroxyapatite poreuse (contenant 20% de porogène) est très rapide. En effet, 62 % de la quantité initiale a été libéré pendant les 10 premières minutes et après 25 min, la libération du métronidazole a atteint 90 %. La rapidité de libération du métronidazole, malgré sa faible solubilité dans l'eau, peut s'expliquer par la concentration de la plus grande quantité de médicament sur la surface de la céramique et/ou par une faible interaction entre le métronidazole et l'hydroxyapatite [80]. Le métronidazole est totalement libéré en moins d'une heure, ce qui n'est pas intéressant lors d'utilisation clinique possible de ces céramiques comme systèmes à libération contrôlée de principe actif.

Afin de retarder la libération du métronidazole, nous avons enrobé les céramiques poreuses chargées de métronidazole à l'aide de polymère PLLA. La quantité de PLLA fixée sur chaque céramique poreuse dépend de la concentration de la solution de PLLA. Les résultats obtenus sont données dans le tableau V.1.

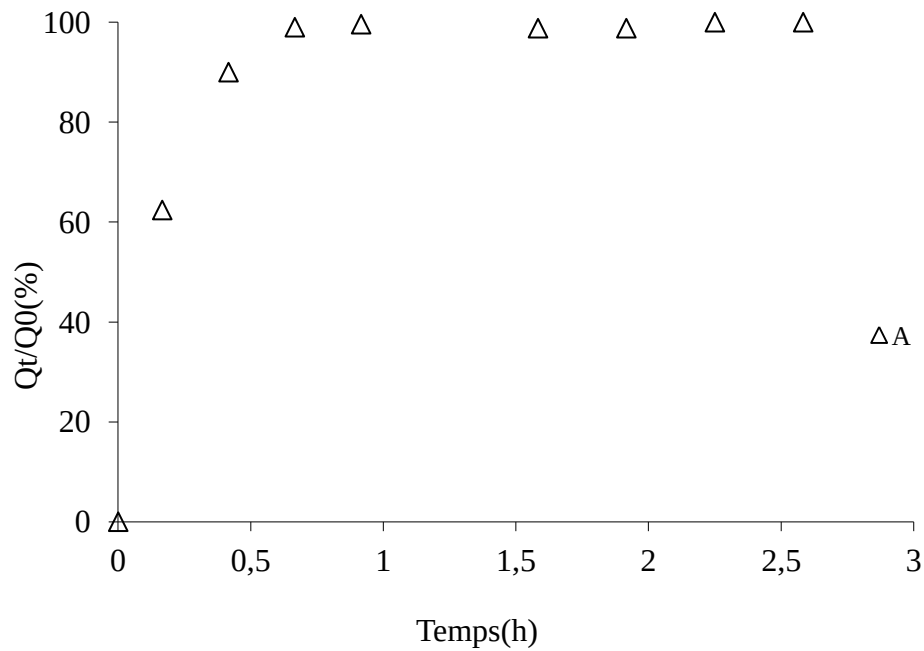


Figure V. 1: Pourcentage de métronidazole libéré en fonction du temps; céramiques d'hydroxyapatite préparée avec 20% de porogène. Q_t : quantité de métronidazole libéré à l'instant t , Q_0 : quantité de métronidazole introduite dans la céramique de départ

Tableau V.1: Quantité de PLLA fixée sur les systèmes HA-métronidazole en fonction de la concentration de la solution de PLLA

Concentration de la solution de PLLA			
(% en poids)	0	10	20
Pourcentage massique de PLLA fixé			
(% en poids)	0,00	25,85	29,00
Système : HA-métronidazole- PLLA	A	B	C

Les cinétiques de relargage du métronidazole en présence du PLLA sont illustrées par la figure V.2. A partir de cette figure, nous constatons que le polymère PLLA dans le système HA-métronidazole agit comme une barrière et retarde le passage du médicament

vers la solution [81, 82]. L'effet retard du PLLA dépend de la concentration des solutions utilisées pour l'enrobage. Après cinq heures, seulement 31 % de la quantité initiale de métronidazole ont été libéré à partir du système à 20% de PLLA (système C) et 40% à partir de celui à 10% de PLLA, (système B). En revanche, dans les deux systèmes, le médicament a été totalement relargué après 15 h.

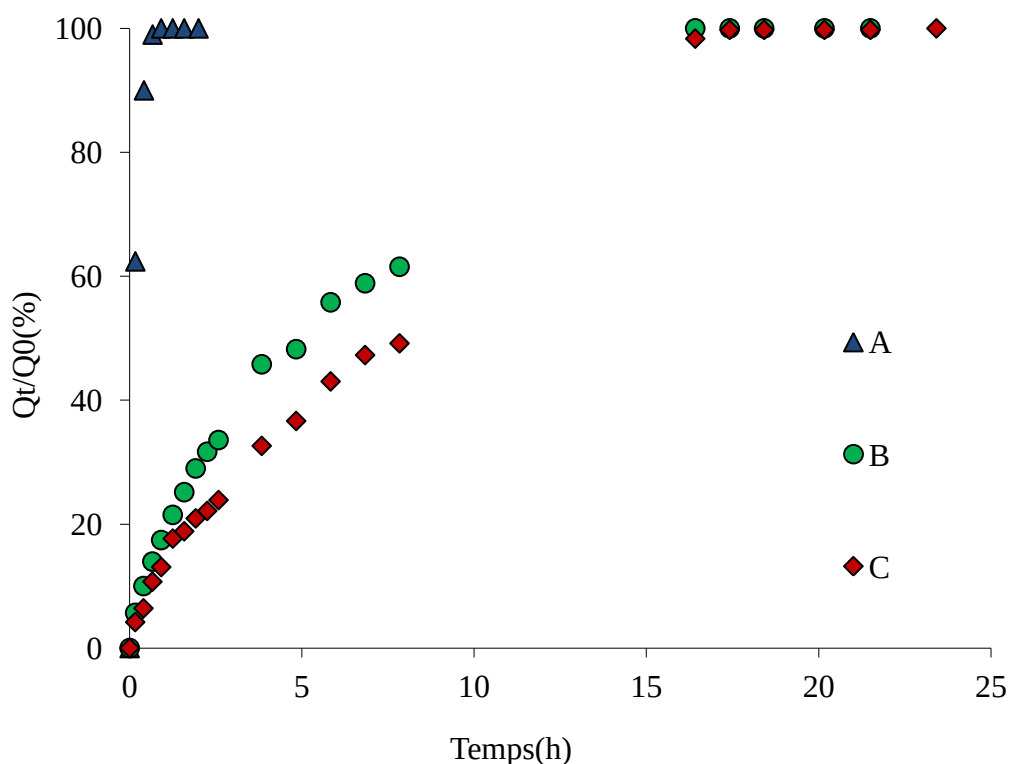


Figure V.2: Pourcentage de métronidazole libéré par les céramiques d'hydroxyapatite poreuses en fonction du temps et du pourcentage de PLLA (systèmes A, B et C)

La libération du métronidazole à partir du système A (en l'absence de PLLA à effet retard) est trop rapide par conséquent elle ne peut pas être décrite par la cinétique d'ordre zéro. En revanche, pour les systèmes B et C, la cinétique de relargage est d'ordre zéro, la quantité d'antibiotique libéré est proportionnelle au temps comme le montre la Figure V.3. Le profil de libération est composé de deux phases : (0-1h) relargage rapide et (1-17h)

relargage lent. Les constantes de vitesse correspondantes à ces deux phases sont données dans le tableau V.2 (elles sont données par la pente de la droite $Q_t/Q_0 = f(t)$).

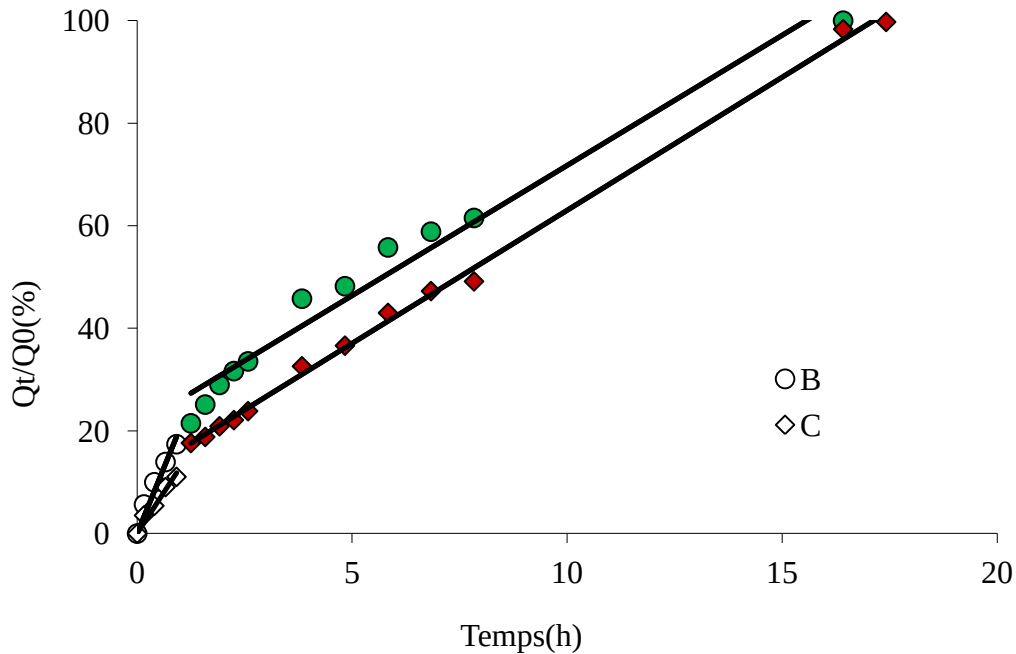


Figure V. 3: Profil de libération du métronidazole, systèmes (B) et (C)

Les résultats du tableau V.2 montrent que pendant la première heure, le système B libère plus vite le métronidazole que le système C, puis la vitesse de relargage devient presque identique pour les deux systèmes, un peu plus élevée pour le système (C). Ces résultats peuvent être expliqués en supposant que la première phase correspond au relargage du métronidazole se trouvant à la surface de la céramique et la deuxième phase correspond à la libération de celui contenu dans les pores de la céramique recouverts de PLLA. La libération du métronidazole est plus importante pendant la première heure dans la céramique où il y a moins d'enrobage puis ralentie pour les deux systèmes, ce qui explique les deux parties correspondantes au profil de relargage du métronidazole. La totalité du métronidazole est libérée avant la dégradation du polymère PLLA (environ 18h) [80]. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus sur la libération de la vancomycine à partir d'une céramique phosphocalcique microporeuse imprégnée d'une solution de PLLA-PLGA à 30 et 40 %. L'effet retard du copolymère PLLA-PLGA étant aussi constaté [82].

Tableau V.2: Constantes de vitesse des systèmes (B) et (C)

Système	Partie I (0-1h)	r^2	k (%/h)	Partie II (1-17h)	k (%/h)	r^2
B	$y=20,59x$	0,94	20,59	$y=5,07x+21,00$	5,07	0,97
C	$y=12,90x$	0,96	12,90	$y=5,19x+11,13$	5,19	0,99

V.4.2. Etude de l'influence du type de molécule d'antibiotique sur la cinétique de relargage

Les profils de libération du métronidazole et du kétoprofène en fonction du temps sont représentés par la figure V.4.

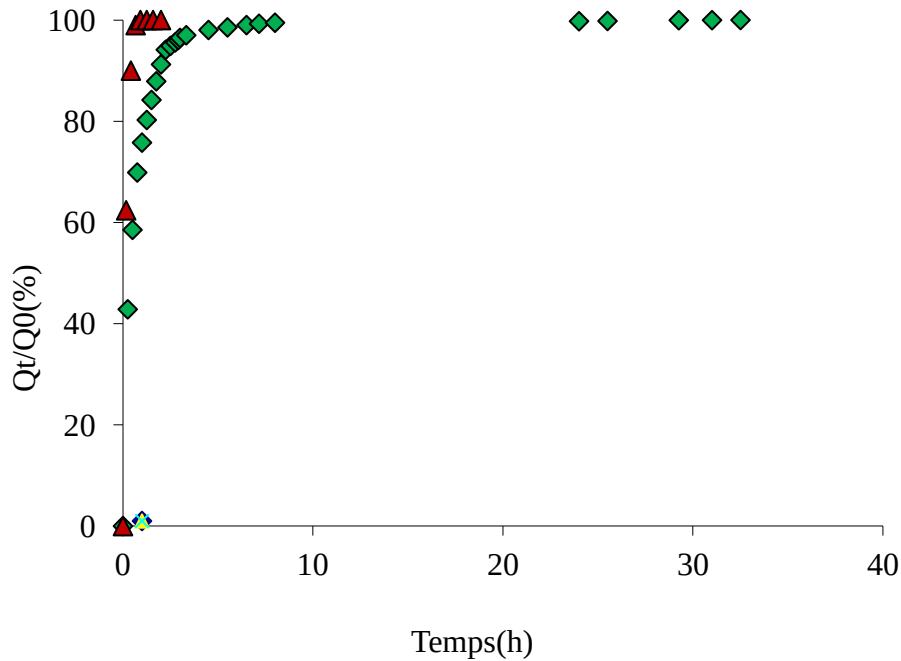


Figure V. 4: Pourcentage massique de kétoprofène (en vert) et de métronidazole (en rouge) relargué en fonction du temps par les céramiques préparées avec 20% de porogène

Nous constatons à partir de la figure V.4 que le métronidazole est relargué plus rapidement que le kétoprofène. La totalité du métronidazole a été relargué en 30min alors que le relargage du kétoprofène n'est total qu'après 8h. Pour des céramiques de même porosité, la différence dans le profil de relargage des deux antibiotiques peut être attribuée à leurs structures chimiques différentes. En effet, la molécule de kétoprofène contient un groupement COOH qui peut interagir avec les ions calcium de l'hydroxyapatite ce qui ralentie sa libération [83]. En revanche, aucune interaction n'a lieu entre la molécule de métronidazole et les sites anioniques ou cationiques de l'hydroxyapatite.

V.4.3. Influence de la porosité sur la cinétique de libération du kétoprofène

Nous avons étudié la cinétique de libération du kétoprofène inclus dans les céramiques préparées avec 0 ; 5 et 20% de porogène. Les résultats obtenus sont représentés par la figure V.5.

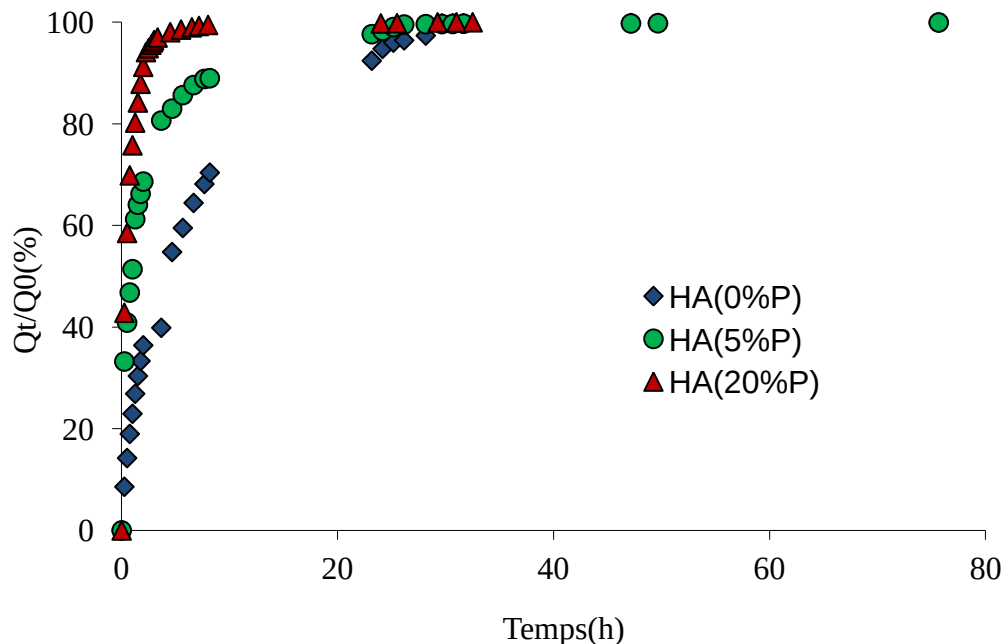


Figure V. 5: Pourcentage massique de kétoprofène relargué en fonction du temps à partir des céramiques poreuses préparées avec 0 ; 5 et 20% de porogène

Les résultats de la figure V.5 montrent que la libération du kétoprofène dépend de la porosité de la céramique. En effet, plus la céramique est poreuse plus le relargage du kétoprofène est rapide. La libération du kétoprofène par de la céramique à 0 % de porogène (microporeuse) est lente tandis que, l'ajout d'un certain pourcentage de porogène conduit à la création de pores de plus grande dimension, leur présence facilitant le passage de la molécule du kétoprofène et par conséquent le relargage plus rapide. Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par A.Ślósarczyk et ses collaborateurs qui ont montré que le relargage de pentoxifylline à partir des céramiques d'hydroxyapatite de forme cylindrique, dépend de la porosité de ces dernières. La nature de la poudre d'apatite de départ (calcinée ou non) n'a pas d'influence sur la vitesse de relargage [20].

Les résultats obtenus sur l'influence de la porosité sont différents de ceux trouvés par B.Pallazo et ses collaborateurs [66]. Ces auteurs ont montré que dans le cas où la molécule d'antibiotique présente un effet stérique important, une faible porosité favorise le relargage. Les molécules d'antibiotique se concentrent à la surface de la céramique et leur passage vers la solution est plus facile. Le kétoprofène est une molécule qui ne présente pas d'effet stérique et rentre bien dans les pores de la céramique d'hydroxyapatite.

V.5. Cinétique de relargage du principe actif inclut sous forme de poudre dans les céramiques de forme cylindrique et sphérique

V.5.1. Cinétique de relargage du métronidazole

On constate à partir de la figure V.6 que 50 % de métronidazole introduit dans la céramique C1 ont été relargués pendant les quatre premiers jours. Les 50 % restants ont nécessité huit jours. Le relargage est totale en 12 jours. Dans le cas de la céramique C2, le relargage n'a commencé qu'après trois jours, ce laps de temps est attribué au temps nécessaire pour que le métronidazole atteigne l'autre extrémité du cylindre dont la concentration initiale est égale à zéro. 50% de métronidazole ont été relargués à partir de la céramique C2 pendant les huit premiers jours, les 50 % restants ont nécessité huit autres jours. Le profil de relargage est lent pendant les quatre premiers jours, rapide les sept jours suivants puis ralentit les six jours restants.

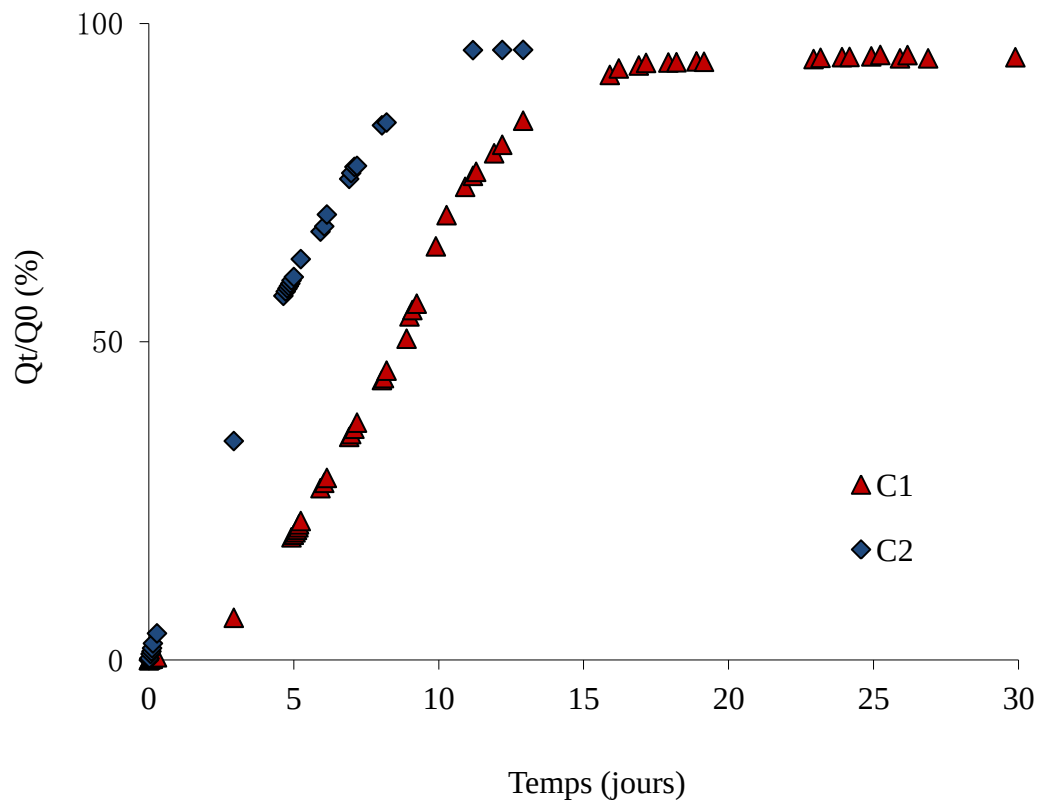


Figure V. 6: Pourcentage de métronidazole libéré en fonction du temps à partir des céramiques C1 et C2

V.5.2. Cinétique de relargage du chloramphénicole

La figure V.7 montre que 50 % de chloramphénicole ont été relargués pendant les six premiers jours, le reste a été relargué pendant les dix sept jours suivants. Ces résultats montrent que la vitesse de relargage est rapide au début puis diminue avec le temps. En comparant la figure V.6 et V.7, on constate que le profil de relargage dépend plus du mode d'inclusion de médicament que de la géométrie de la céramique.

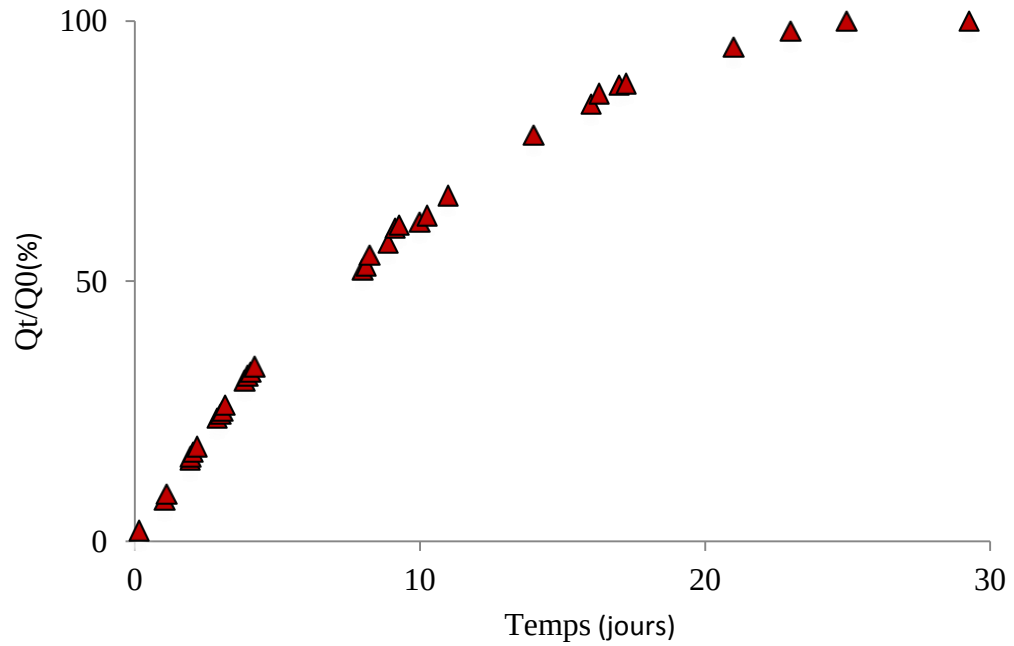


Figure V. 7: Pourcentage de chloramphénicol libéré en fonction du temps à partir des céramiques de forme sphérique

V.6. Mécanismes de libération et modèles mathématiques

Les modèles mathématiques classiques les plus utilisées pour décrire les mécanismes mis en jeu lors d'un relargage de médicament sont : la cinétique d'ordre zéro, la cinétique d'ordre un, le modèle d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas [84,85]. Un système à libération contrôlée idéal est celui qui libère le médicament selon une cinétique d'ordre zéro. Aucun des profils de relargage obtenus précédemment ne correspond à une cinétique d'ordre zéro, à l'exception des systèmes (B) et (C). Pour cela et afin de décrire les mécanismes mise en jeu lors de la libération du métronidazole et du kétoprène à partir des céramiques d'hydroxyapatite poreuses, nous avons utilisé les modèles mathématiques classiques d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas [86].

- Le modèle mathématique d'Higuchi est décrit par la formule suivante:

$$Q_t/Q_0 = k_H [t]^{1/2} \quad (1)$$

Dans l'équation (1), Q_t est la quantité de médicament relarguée à l'instant t , Q_0 est la quantité totale de médicament et k_H est la constante de diffusion d'Higushi.

Si le pourcentage de médicament relargué est proportionnel à la racine carrée du temps, alors le relargage est contrôlé par un mécanisme de diffusion.

- Le modèle de Korsmeyer-Peppas est décrit par la formule suivante :

$$Q_t/Q_0 = k [t]^n \quad (2)$$

Dans l'équation (2), Q_t/Q_0 est la fraction de médicament relarguée à l'instant t , k est la constante de vitesse de relargage et n est une constante qui caractérise le mécanisme de relargage.

La représentation graphique de $\ln Q_t/Q_0$ en fonction du $\ln t$ est une droite de pente n . k est une constante appelée constante de Korsmeyer-Peppas. Seule la partie de la droite correspondante à $Q_t/Q_0 < 60\%$ est utilisée pour calculer la valeur de n [87].

La valeur de n dépend du mécanisme mis en jeu lors du relargage du médicament et de la géométrie de la céramique. Si le relargage est contrôlé par la diffusion de Fick et si la céramique est carrée, cylindrique ou sphérique, la constante n prend la valeur 0,50 ; 0,45 et 0,43 respectivement. Dans le cas où la céramique est cylindrique, si n est compris entre 0,45 et 0,89 le relargage est contrôlé par un mécanisme dit de « diffusion non-fickienne ». La diffusion non-fickienne est en fait une combinaison de deux phénomènes : diffusion et érosion de la matrice. Si $n = 0,89$, le mécanisme est dit « Case II transport » et si n est supérieur à 0,89 le mécanisme est dit « super Case II transport » ou cinétique d'ordre zéro. Le modèle de Korsmeyer-Peppas est utilisé lorsqu'un mécanisme de libération n'est pas bien connu ou lorsque plusieurs types de phénomènes de libération pourraient être impliqués.

V.6.1. Mécanismes de libération du métronidazole et du kétoprofène inclus dans les céramiques d'hydroxyapatite poreuses par imprégnation

Nous avons représenté graphiquement les pourcentages de métronidazole et de kétoprofène relargué en fonction du temps suivant le modèle d'Higushi et de Korsmeyer – Peppas (figures V.8 et V.9). Les constantes k , k_H et R^2 sont données dans les tableaux V.3 et V.4.

Les figures V.8 et V.9 montrent que la quantité de métronidazole relarguée est proportionnelle à la racine carrée du temps, ce qui indique que la libération de cet antibiotique est contrôlée par la diffusion de Fick. Néanmoins, le modèle d'Higushi n'est pas très adéquat pour décrire le mécanisme de relargage du métronidazole à partir des céramiques enrobées de PLLA ($R^2 < 0,99$) (tableau V.3).

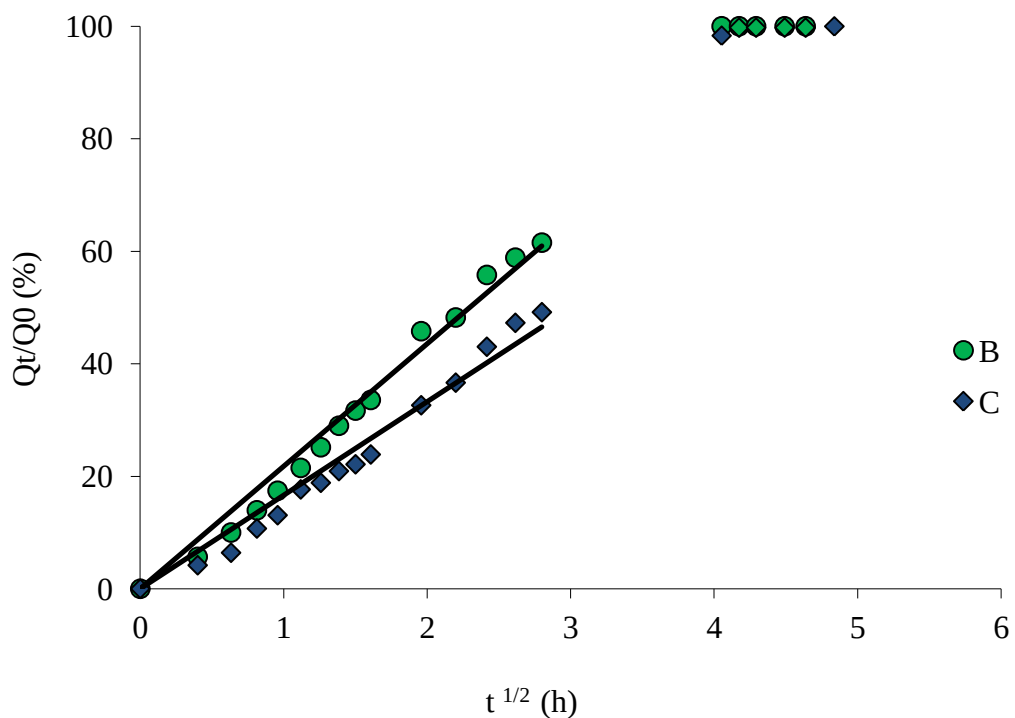


Figure V. 8: Pourcentage de métronidazole relargué en fonction de la racine carrée du temps, systèmes (B) et (C)

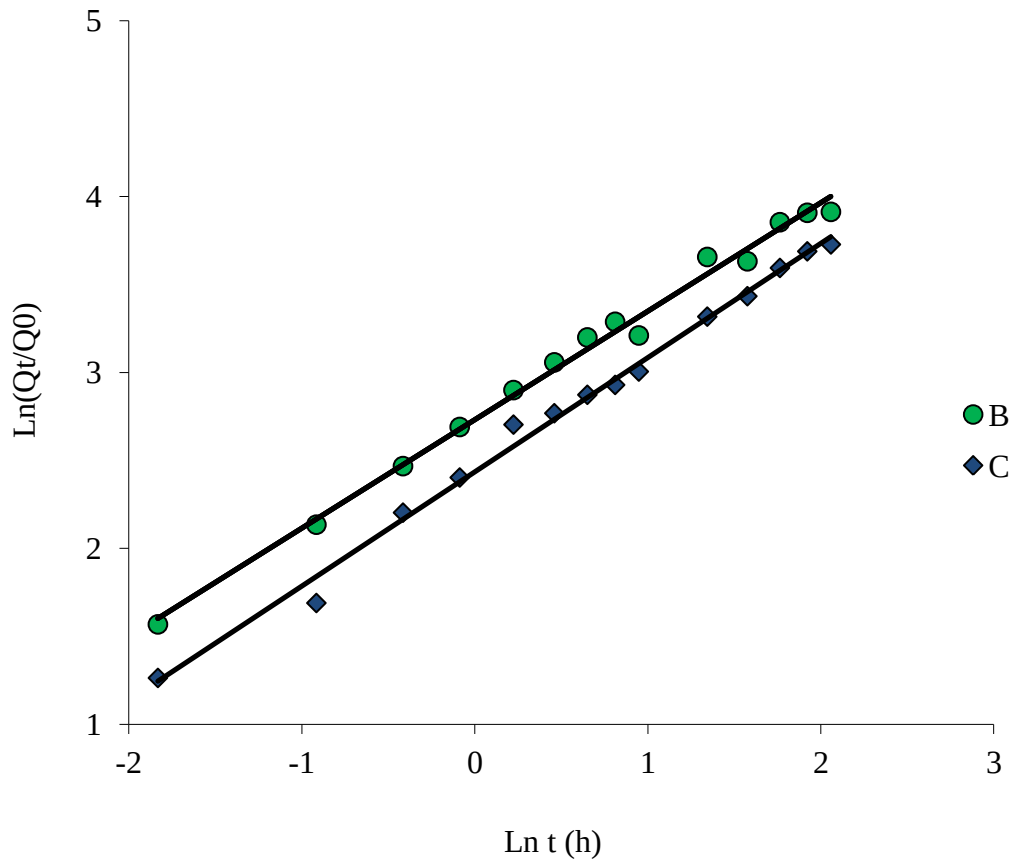


Figure V. 9: Courbe représentant $\text{Ln}(Q_t/Q_0)$ en fonction de $\text{Ln}(t)$, métronidazole

Les résultats du tableau V.3 montre que la constante d'Higushi dépend de la quantité de PLLA fixée sur la surface et dans les pores de la céramique. Dans le cas des systèmes (B) et (C), la constante d'Higushi est plus élevée lorsque la quantité de PLLA est faible et plus la constante k_H est grande plus la libération du métronidazole est rapide. En revanche, le modèle de Korsmeyer-Peppas est très adéquat pour décrire le mécanisme de relargage du métronidazole à partir des céramiques enrobées de PLLA ($R^2 = 0,99$). La constante k varie dans le même sens que la constante d'Higushi, c.à.d. elle augmente avec la quantité de PLLA. Les valeurs de n sont supérieures à 0,45 (0,61 et 0,65), ce qui indique que le mécanisme de relargage n'est pas contrôlé par la diffusion de fick. Le relargage est contrôlée par le phénomène de relaxation des chaines de polymères PLLA.

Tableau V.3: Paramètre cinétiques: k , k_H , R^2 et n selon l'équation de Korsmeyer - Peppas et Higushi, métronidazole

Modèle d'Higushi			Modèle de Korsmeyer-Peppas			
Système	k_H	R^2	$\ln(Q_t/Q_0)=\ln(k) + n \ln(t)$	n	K	R^2
	(% h ^{-1/2})				(% h ⁻ⁿ)	
B	21,78	0,98	Y=0,61x+2,73	0,61	15,33	0,99
C	16,64	0,97	Y=0,65x+2,43	0,65	11,35	0,99

Pour la libération du kétoprofène à partir des céramiques préparées avec 0 ; 5 et 20% de porogène, les constantes de diffusion d'Higushi augmente avec la porosité, ce explique l'augmentation de la vitesse de relargage lorsque la porosité du matériau augmente. Les valeurs de R^2 (0,99) montrent que le modèle d'Higushi est très adéquat pour décrire le mécanisme de relargage du kétoprofène à partir de ces céramiques poreuses (tableau V.4 et figures V.10 et V.11).

Les valeurs de n et de R^2 montrent que le relargage du kétoprofène est contrôlé par la diffusion de fick seulement pour la céramique à 5 % de porogène ($n = 0,31$ et $R^2 = 0,99$).

Tableau V.4: Paramètres cinétiques: k , k_H , R^2 et n selon l'équation de Korsmeyer-Peppas et Higushi, Kétoprofène

Modèle d'Higushi			Modèle de Korsmeyer-Peppas			
Système	K_H	R^2	$\ln(Q_t/Q_0)=\ln k + n \ln t$	n	k	R^2
	(%.h ^{-1/2})				(% h ⁻ⁿ)	
HA (0%.P)	24,38	0,98	Y=0,59x+3,09	0,59	21,97	0,98
HA (5%.P)	52,12	0,99	Y=0,31x+3,93	0,31	50,90	0,99
HA(20% P)	79,63	0,99	-	-	-	-

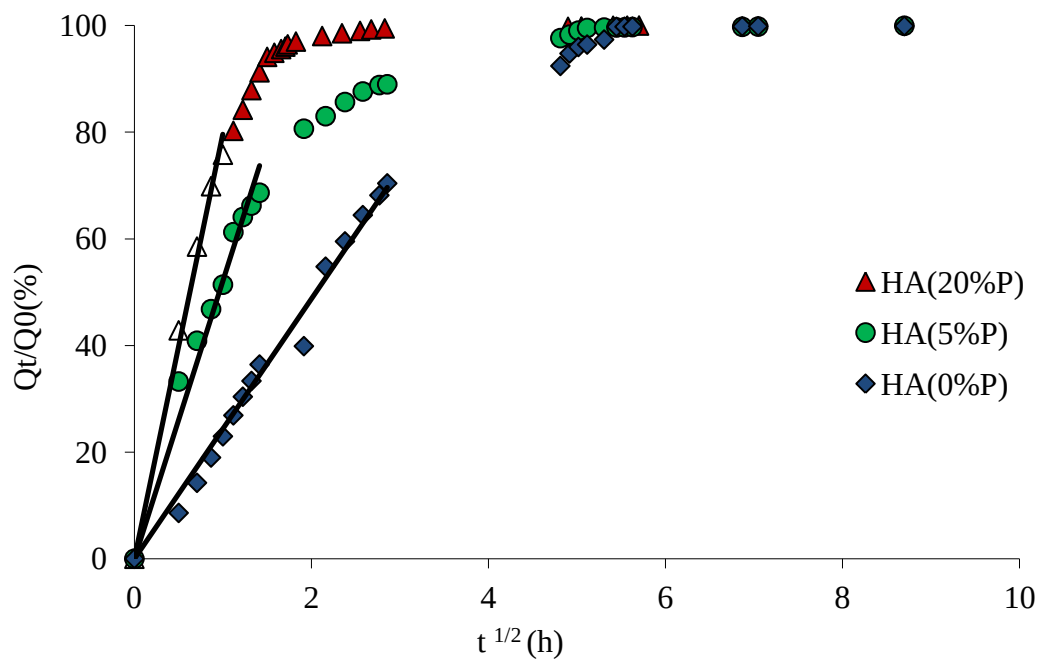


Figure V. 10: Pourcentage de kétoprofène relargué en fonction de la racine carrée du temps, céramiques préparées avec 0 ; 5 et 20% de porogène

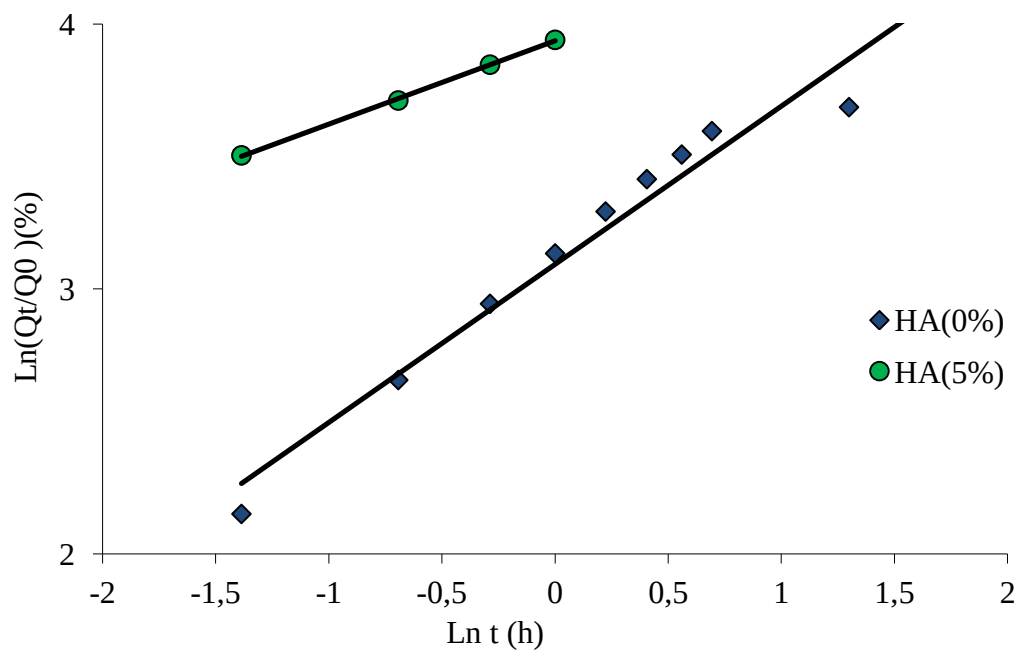


Figure V. 11: Courbe représentant $\ln (Q_t/Q_0)$ en fonction de $\ln(t)$, Kétoprofène

V.6.2. Mécanisme de libération du métronidazole inclus dans les céramiques d'hydroxyapatite poreuses sous forme de poudre

Le modèle d'Higushi n'est pas satisfaisant pour décrire les données de la figure V.12. En revanche, les valeurs de R^2 obtenus en utilisant le modèle de Korsmeyer-Peppas montrent que ce modèle est très adéquat pour décrire le mécanisme de relargage du métronidazole à partir des céramique C1 et C2 (tableau V.5, figure V.13). Les valeurs de n (0,92 et 1,22 supérieures à 0,89) montrent que la cinétique de relargage du métronidazole est une cinétique d'ordre zéro. Néanmoins ces résultats ont été obtenus sans tenir compte des quantités de médicament relargué pendant les premières heures.

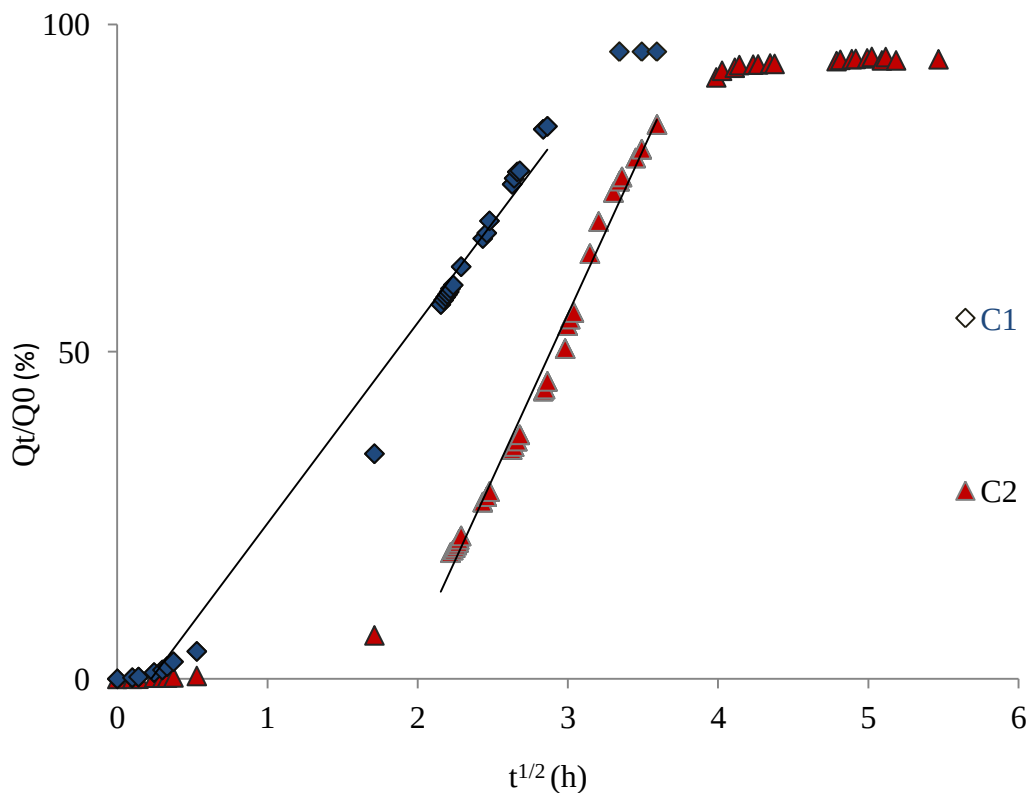


Figure V. 12: Pourcentage de métronidazole relargué en fonction de la racine carrée du temps, céramiques C1 et C2

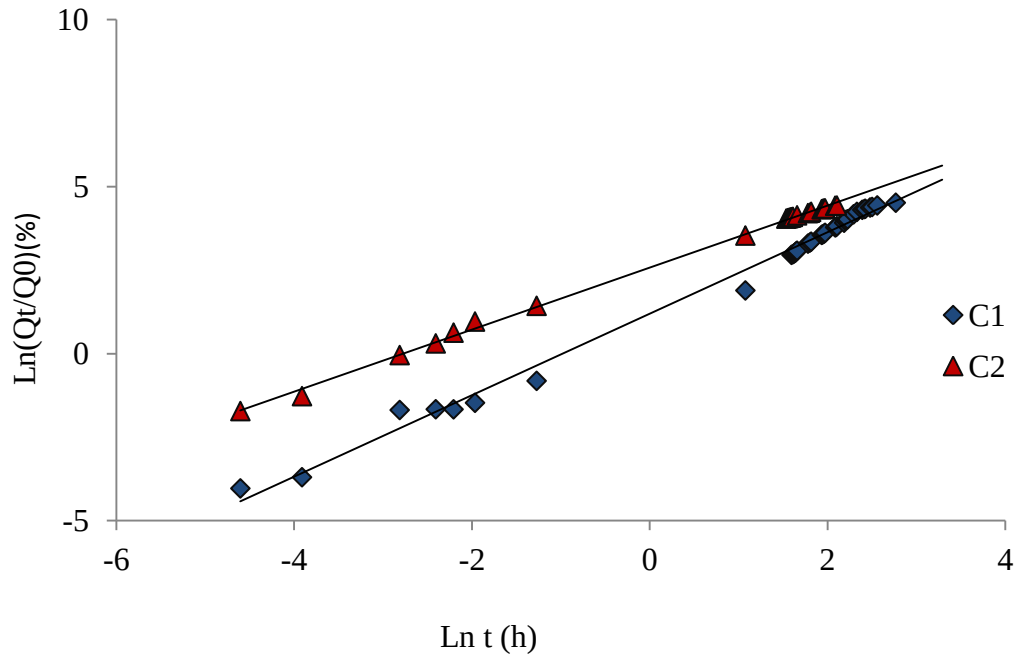


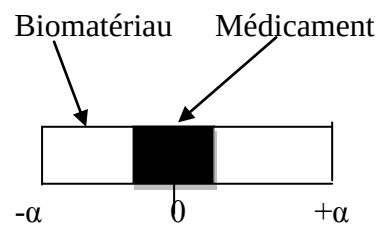
Figure V. 13: Courbe représentant $\ln (Q_t/Q_0)$ en fonction de $\ln(t)$, métronidazole, céramiques C1 et C2

Tableau V.5: Paramètres cinétiques: k , k_H , R^2 et n selon l'équation de Korsmeyer - Peppas, métronidazole, céramiques C1 et C2

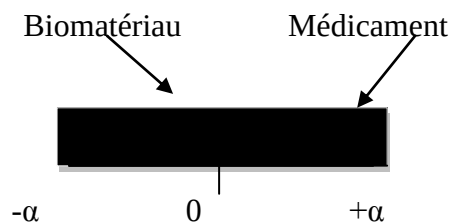
Modèle de Korsmeyer-Peppas				
Système	$\ln (Q_t/Q_0)=\ln(k) + n \ln(t)$	n	k (% h^{-n})	R^2
C1	$Y=0,927x+2,573$	0,92	13,10	0,99
C2	$Y=1,22x+1,196$	1,22	3,30	0,99

Les difficultés rencontrées lors de l’utilisation de ces deux modèles mathématiques, pour décrire le mécanisme de relargage du métronidazole, nous ont incités à développer un autre modèle mathématique basé sur les deux lois de diffusion de fick. Nous avons donc apporté une modification dans les deux équations de diffusion en ajoutant au coefficient de diffusion D un paramètre α qui caractérise la localisation du médicament dans la céramique

poreuse. Ce nouveau modèle mathématique est basé sur une analyse unidimensionnelle de la diffusion du médicament suivant un axe gradué. Nous avons introduit les équations de diffusion de fick pour la fonction $p(x; t)$. Cette fonction quantifie la proportion de médicament présent à un point x à l'instant t . Nous avons étudié le cas où le médicament est distribué de façon homogène dans l'implant et lorsqu'il est localisé au centre. Les deux modes d'inclusion sont représenté par les modèle A et B de la figure V.14.



Modèle A : médicament localisé au centre de l'implant



Modèle B : médicament uniformément distribué dans l'implant

Figure V. 14: Schéma représentant les deux modes d'inclusion de médicament

La première loi de fick indique que le flux de diffusion est proportionnel gradient de concentration. A une dimension, le flux de diffusion s'écrit :

$$J = -D \frac{\partial p}{\partial x} \quad (1)$$

J : flux de médicament traversant une unité de surface par unité de temps ;

D : coefficient de diffusion ;

$\partial p / \partial x$: Gradient de concentration

La deuxième loi de Fick est dérivée de la première loi de Fick. Elle exprime l'évolution de la concentration $p(x; t)$ en fonction du temps si la constante de diffusion est constante.

$$\frac{\partial p}{\partial t} = D \frac{\partial^2 p}{\partial x^2} \quad (2)$$

Dans notre cas, l'équation (2) nous permet de déterminer la quantité de médicament présente dans le biomatériau rectangulaire de base $[-\alpha, +\alpha]$ (figure V-14). Cette proportion est de :

$$I(t) = \int_{-\alpha}^{+\alpha} p(x; t) dx \quad (3)$$

Deux cas peuvent être considérés suivant que le médicament est localisé au centre ou distribué de façon homogène tout au long du rectangle de base $[-\alpha, +\alpha]$.

- **Premier cas :** le médicament est situé au centre de l'implant. Ce cas correspond à une distribution initiale donnée par $p(x; 0) = \delta_0(x)$. La résolution de l'équation différentielle partielle, on trouve :

$$p(x; t) = \frac{1}{\sqrt{4Dt}} \exp\left(-\frac{x^2}{4Dt}\right) \quad (4)$$

Un calcul supplémentaire conduit à :

$$I(t) = \int_{-\alpha}^{+\alpha} p(x; t) dx = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\frac{\alpha}{\sqrt{4Dt}}} \exp(-x^2) dx = \operatorname{erf}\left(\frac{\alpha}{\sqrt{4Dt}}\right) \quad (5)$$

Avec

$$\operatorname{erf}(z) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^z \exp(-x^2) dx \quad (6)$$

- **Deuxième cas :** le médicament est distribué de façon homogène dans l'implant. Dans ce cas la distribution initiale du médicament est donnée par :

$$p(x; t) = \frac{1}{2\alpha} 1[-\alpha, +\alpha](x) \quad (7)$$

Il peut être constaté que chaque élément $d\zeta$ localisé à ζ contribue à un incrément $\delta p(x; t)$ à l'instant t et à un point x avec :

$$\delta p(x; t) = \frac{1}{2\alpha} \frac{1}{\sqrt{4\pi Dt}} \exp\left(-\frac{(x - \zeta)^2}{4Dt}\right) d\zeta \quad (8)$$

Ce qui nous conduit à calculer $p(x; t)$:

$$p(x; t) = \frac{1}{2\alpha} \int_{-\alpha}^{+\alpha} \frac{1}{\sqrt{4Dt}} \exp\left(-\frac{(x - \zeta)^2}{4Dt}\right) d\zeta \quad (9)$$

La quantité totale de médicament dans l'implant à l'instant t est donc :

$$I(t) = \int_{-\alpha}^{+\alpha} p(x; t) dx = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\frac{2\alpha}{\sqrt{4Dt}}} \exp(-x^2) dx - \frac{1}{\alpha} \sqrt{\frac{D}{\pi}} t \left[1 - \exp\left(-\frac{\alpha^2}{Dt}\right) \right] \quad (10)$$

$$I(t) = \operatorname{erf}\left(\frac{2\alpha}{\sqrt{4Dt}}\right) - \frac{1}{\alpha} \sqrt{\frac{D}{\pi}} t \left[1 - \exp\left(-\frac{\alpha^2}{Dt}\right) \right] \quad (11)$$

La représentation graphique du pourcentage de métronidazole relargué à partir des céramiques C1 et C2 en utilisant les modèles mathématiques théoriques proposés (modèles A et B) est donnée par la figure V .15.

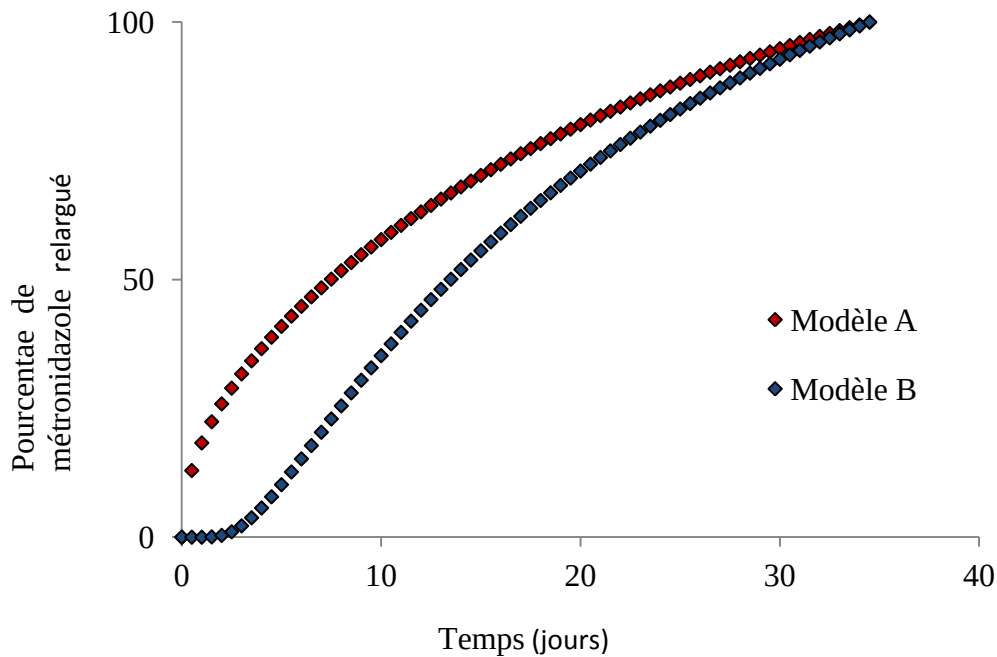


Figure V.15: Pourcentage de métronidazole relargué, $p(t) = I - I(t)$, en fonction du temps ($\alpha=1$ et $D=0,025$), d'après les modèles mathématiques théoriques A et B

Les allures des courbes expérimentales correspondantes à la céramique C1 et celle contenant le chloramphénicol (figure V.6 et V.7) sont semblables à celle du modèle mathématique théorique B (médicament distribué uniformément dans l'implant). De même, le laps de temps constaté lorsque le métronidazole est introduit à l'une des extrémités du cylindre d'hydroxyapatite est identique à celui calculé d'après le modèle mathématique théorique A (médicament localisé au centre de l'implant). En comparant les courbes expérimentales et théoriques, on constate que le profil de relarguage doit aussi dépendre de la forme géométrique et / ou du volume de la céramique ou de l'implant.

V.7. Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus dans la première partie de ce chapitre montrent que le relargage, dans le tampon Tris à 37 °C, du métronidazole et du kétoprofène à partir des céramiques d'hydroxyapatite varie en fonction de la porosité des céramiques et de la nature

du médicament. D'un point de vue porosité, le relargage est plus lent quand la céramique est peu poreuse et il est très rapide dans le cas où la céramique est très poreuse (20% de porogène). D'un point de vue de la nature chimique du médicament, le kétoprofène, qui contient une fonction acide carboxylique est relargué plus lentement que le métronidazole. Néanmoins, le relargage de ce dernier peut être ralenti en enrobant la céramique poreuse contenant déjà le médicament à l'aide d'une couche de PLLA par imprégnation.

En ce qui concerne l'adsorption du kétoprofène sur les céramiques à base d'hydroxyapatite, une interaction entre la fonction acide carboxylique et l'ion Ca^{2+} de l'hydroxyapatite stabiliserait l'adsorption. Ce résultat a déjà été observé dans l'adsorption de colorants présentant la fonction phénol. L'étude physico-chimique de l'interaction du kétoprofène avec l'ion Ca^{+2} n'est pas dans le but de cette thèse, néanmoins il sera utile de le développer par la suite. Les céramiques microporeuses (0% de porogène) chargées de médicament avec une fonction acide carboxylique peuvent donc être utilisées comme système à libération contrôlée de principes actifs tandis que les plus poreuses doivent être, en revanche, enrobées avec du PLLA pour ralentir le relargage.

La durée de relargage est prolongée lorsque le médicament est introduit dans la céramique sous forme de poudre (environ deux semaines). Lorsque le médicament est introduit à l'extrémité du cylindre d'hydroxyapatite, on a constaté un laps de temps, qui correspond au temps nécessaire pour que le médicament atteigne l'autre extrémité du cylindre et diffuser vers l'extérieur. Le modèle mathématique que nous avons proposé est unidimensionnel. Néanmoins pour mieux simuler les résultats expérimentaux, il est intéressant de le développer en trois dimensions et tenir compte de la géométrie de la céramique, de son volume et de sa porosité.

Conclusion et perspectives générales

Conclusion et perspectives générales

L'un des problèmes des substituts osseux en céramique d'hydroxyapatite poreuses est leur fragilité. Ainsi, ils risquent d'être endommagés lors de leur mise en place par le chirurgien. Notre objectif a été de développer des substituts osseux présentant des propriétés mécaniques optimisées, afin de les rendre plus résistants aux contraintes de compression.

Dans la première partie de ce travail, nous avons montré qu'il est possible, en utilisant de la poudre de gélatine comme porogène, d'obtenir des céramiques d'hydroxyapatite poreuses et de porosité élevée (environ 70%). Les résultats obtenus ont montré aussi que le type de liant est un paramètre important à prendre en compte afin d'avoir des céramiques poreuses possédant des propriétés mécaniques importantes en compression. Les propriétés mécaniques des céramiques poreuses peuvent d'avantage être améliorées en les renforçant à l'aide de matériaux polymères. Dans notre cas, nous avons utilisé le polymère d'acide lactique et la gélatine, produit dérivé du collagène. Les essais mécaniques ont montré le rôle bénéfique du PLLA et de la gélatine sur la résistance à la rupture en compression. La résistance à la rupture en compression obtenue concernant les céramiques poreuses renforcées avec la gélatine sont comparables à celle de l'os spongieux. Les propriétés mécaniques en compression sont plus importantes lorsque les céramiques poreuses sont infiltrées avec la gélatine qu'avec du PLLA et ce pour des quantités plus faibles de gélatine. Les céramiques d'hydroxyapatite renforcées avec la gélatine peuvent en effet être utilisées dans des zones très sollicitées mécaniquement contrairement à celles renforcées avec du PLLA. D'un point de vue porosité, l'infiltration des céramiques d'apatite poreuses avec la gélatine et /ou du PLLA n'a pas conduit à une baisse importante de la porosité. Grâce à cette porosité, les céramiques d'apatite ainsi renforcées seraient ostéoconductrices et permettraient de recevoir la repousse osseuse.

En perspective, il serait intéressant de faire une caractérisation au microscope électronique à balayage (MEB) afin de voir l'épaisseur de la couche polymère qui recouvre les pores de la céramique poreuse après infiltration et la qualité de recouvrement. Des micrographies MEB seraient de même souhaitables après rupture de la céramique renforcée et ce dans le but de mieux comprendre le mécanisme de renforcement mis en jeu.

Des tests *in vivo* seraient souhaitables afin de mettre en évidence le caractère ostéoconducteur des céramiques poreuses obtenues avec et sans renfort.

Une autre méthode dite «Méthode de Solvent casting salt leaching » est une voie directe de synthèse d'un os artificiel. L'avantage de cette méthode est qu'elle permet d'obtenir des matériaux poreux à porosité interconnectée. Nous avons donc utilisé cette méthode pour fabriquer des composites HA/PLLA poreux. Le PLLA et l'hydroxyapatite remplacent respectivement le collagène et l'apatite biologique de l'os naturel. Les résultats obtenus ont montré que l'ajout de l'hydroxyapatite améliore les propriétés mécaniques en compression du PLLA. En revanche, lorsque le composite est poreux, la résistance à la rupture en compression du matériau est maximale pour une quantité d'apatite de 25%, au delà de cette quantité l'hydroxyapatite ne joue aucun rôle de renfort, elle conduit au contraire à une détérioration des propriétés mécaniques du composite. Pour une porosité équivalente, les composites avec 25% d'hydroxyapatite possède une résistance à la rupture en compression proche de celle de l'os spongieux mais un module élasticité inférieure.

Le vieillissement des composites HA/PLLA dans l'eau distillée nous a permis de mettre en évidence leur propriété de dégradation. La présence de l'apatite dans le composite a un effet tampon sur les produits de dégradation du PLLA. En effet l'acidité des produits de dégradation du PLLA est neutralisée par la présence de l'apatite à caractère basique. Les composites HA/PLLA poreux vieillissant *in vitro* présentent une cinétique de dégradation compatible avec la cinétique de repousse osseuse.

La cinétique de relargage du sel NaCl à partir des composites PLLA/HA est d'ordre un. Ces composites peuvent en effet être utilisés pour la libération contrôlée de principe actif soluble.

Nous avons enfin utilisé les céramiques d'hydroxyapatite poreuses préparées avec 0, 5 et 20% de porogène pour étudier la cinétique de relargage de trois types de principes actifs : métronidazole, chloramphénicol et kétoprofène. Les résultats obtenus ont montré que la cinétique de relargage dépend d'une part de la méthode d'inclusion, de la solubilité et de la composition chimique du médicament et d'autre part de la porosité de la céramique. La cinétique de relargage est ralentie lorsque le médicament contient une fonction acide carboxylique (COOH) qui interagit avec les ions calcium de

l'hydroxyapatite. D'un point de vue porosité, la cinétique de relargage augmente en fonction de la quantité et de la taille de pores (micropores et macropores) dans la céramique. Plus la taille et la quantité de pores sont élevées, plus l'eau accède facilement dans les pores et solubilise le médicament, qui passe ensuite dans la solution. La cinétique de relargage peut être ralentie en enrobant les céramiques poreuses chargées de médicament à l'aide d'un polymère PLLA. Concernant la méthode d'inclusion du médicament dans la céramique poreuse, les résultats ont montré qu'il est possible de maintenir une durée de relargage de 15 jours lorsque le médicament est introduit sous forme de poudre et ce quelque soit la géométrie de la céramique, sphérique ou cylindrique. En revanche, lorsque le médicament est introduit par la méthode d'imprégnation, le relargage est terminé en quelques heures (durée de relargage inférieure à 24h) quelque soit la porosité de la céramique.

D'un point de vue mécanisme de relargage, quelque soit la méthode d'inclusion, le médicament est relargué suivant un mécanisme de diffusion. Les modèles mathématiques d'Higushi et de Korsmeyer-Peppas ont suffi pour décrire les cinétiques de relargage des médicaments introduits par imprégnation dans les céramiques poreuses. Néanmoins, dans le cas des médicaments utilisés sous forme de poudre, il a été nécessaire de développer un nouveau modèle mathématique afin de pouvoir décrire les cinétiques de relargage et ceci en tenant compte dans l'équation de diffusion de la localisation du médicament dans la céramique. La représentation graphique des modèles mathématiques théoriques ainsi développés, pour un coefficient de diffusion D et un paramètre α donné, ressemble de près à celle des résultats expérimentaux. Ceci montre que la localisation du médicament dans la céramique est un paramètre important à prendre en considération dans les équations de diffusion, en plus de la porosité et de la méthode d'inclusion, afin de mieux décrire les profils de relargage. Les modèles mathématiques développés nous permettent de prédire, en connaissant la constante de diffusion D et le paramètre α , la quantité de médicament relargué à chaque instant t . La suite de ce travail serait d'améliorer la modélisation en tenant compte d'autres paramètres tels que la géométrie, la taille et/ou le volume de la céramique. Les systèmes céramiques d'hydroxyapatite chargées d'antibiotique que nous avons développés peuvent avoir une double fonction en chirurgie orthopédique: substituer un tissu osseux défectueux, suite à un traumatisme ou une exérèse de tumeur, et traiter les infections postopératoires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]: A.C.Maurin, R.Fromental, D.Cantaloube, R. Caterini. **(2005)**. Etude de la colonisation par des ostéoblastes humains de métaux poreux à base de nitinol ou de tantale dans un modèle de culture cellulaire tridimensionnelle. *Implantodontie* 14, 44-50.
- [2]: J.M.Mayer. **(2007)**. Dégradation des biomatériaux, « Cours biomatériaux ».
- [3]: L.G.Griffith. **(2000)**. Polymeric Biomaterials. *Acta mater* 48, 263-277.
- [4]: F.Barrère, T.A.Mahmood, K.de Groot, C.A.van Blitterswijk. **(2008)**. Advanced biomaterials for skeletal tissue regeneration: Instructive and smart functions. *Materials Science and Engineering R* 59, 38–71.
- [5]: V.Toppets, C.Pastoret, V.De Behr, R.Antoine, C.Dessy, A.Gabriel. **(2004)**. Morphologie, croissance et remaniement du tissu osseux. *Ann.Méd* 148, 1-13.
- [6]: M.Gerard., B.Gilber, T.Jean christian, H.Jean claude, R.Christian. Progrès dans le domaine de la chimie des composés phosphores solides à structure d'apatite, application à labiologie et au traitement des minerais. *Pure et appl. Chimie*, Volume 52, 973-987.
- [7]: M. Vallet-Regí, J.M. González-Calbet. **(2004)**. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry* 32, 1–31.
- [8]: M.M.Stevens. **(2008)**. Biomaterials for bone tissue engineering. *Materials today*, Volume 11, Number 5, 18-25.
- [9]: D.W.A.Fawcet. **(1994)**. Bone. Livre d'histologie de Chapman et Hall: New york, 194-233.
- [10]: J.D.Currey. **(2004)**. Tensile yield in compact bone is determined by strain, post-yield behaviour by mineral content. *J Biomech*, 549-546.
- [11]: X.Miao, L.P.Tan, L.S.Tan, X.Huang. **(2007)**. Porous calcium phosphate ceramics modified with PLGA-bioactive glass. *Materials Science and Engineering C* 27, 274-279.

[12]: K.Rezwana, Q.Z.Chena, J.J.Blakera, A.R.Boccaccinia. **(2006)**. Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27, 3413–3431.

[13]: F.Tancret, J.M.Bouler, J.Chamoussset, L.M.Minois. **(2006)**. Modelling the mechanical properties of microporous and macroporous biphasic calcium phosphate bioceramics. *Journal of the European Ceramic Society* 26, 3647–3656.

[14]: Q.Zhou, Y.Gong, C.Gao. **(2005)**. Microstructure and mechanical proprties of poly(L-lactide) scaffolds fabricated by gelatine particle leaching method. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 98, 1373-1379.

[15]: N.Melba, D.V.Sergio, M. Salvador, Z. Stefania, A.Luigi, A.P.Josep, P.G.Maria. **(2004)**. New macroporous calcium phosphate glass ceramic for guided bone regeneration. *Biomaterials* 25, 4233-4241.

[16]: L.Galois, D.Mainard, K.Bordji, H.Membre, L.Marchal, B.Foliguet, D.Clement, J.P.Delagoutte. **(1996)**. Influence de la taille des pores sur la réhabitation osseuse de 2 céramiques phosphocalciques: l’hydroxyapatite et le phosphate tricalcique β . *Actualités en biomatériaux, Volume III, Eds Romillat*, 361-380.

[17]: K.Vassilis., K. David. **(2005)**. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. *Review. Biomaterials* 26, 5474-5491.

[18]: W.J.E.M.Habraken, J.G.C.Wolke, J.A.Jansen. **(2007)**. Ceramic composites as matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Advanced drug delivery Reviews* 59, 234-248.

[19]: S.Vladimir. S.Komlev. M.Serguei. V.Barinov. K.Elena. **(2002)**. A method to fabricate porous spherical hydroxyapatite granules intended for time controlled drug release. *Biomaterials* 23, 3449-3454.

[20]: A.Ślósarczyk, J. Szymura-Oleksiak, B.Mycek. **(2000)**. The kinetics of pentoxifylline release from drug-loaded hydroxyapatite implants. *Biomaterials* 21, 1215-1221.

[21]: H.Aoki. **(1994)**. Medical applications of hydroxyapatite. Tokyo, St. Louis: Ishikayu *Euro America Inc.*

[22]: L.Obadia, F.Triaud, C.Dupas, P.Pilet, B.Lamy, J.M.Bouler, G.Grimandi. **(2005)**. Etude comparative des caractéristiques physicochimiques de substituts osseux phosphocalciques. *Revue générale, ITBM-RBM*, 312-318.

[23]: M.H.Fethi, A.Hanifi, V.Mortazavi. **(2007)**. Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder. *Journal of materials processing technology*, Vol 202, 536-542.

[24]: D.Guy, M.Olivier, G.Eric. **(2005)**. Efficacité et performance des substituts osseux pour remplacer les allogreffes et autogreffes. *ITBM-RBM*, 218-222.

[25]: S.M.Best, A.E.Porter, E.S.Thian, J.Huang .**(2008)**. Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society* 28, 1319–1327.

[26]: E. Jallot, JL. Irigaray, H. Oudadesse, V. Brun, G. Weber, P. Frayssinet. **(1999)**. Resorption kinetics of four hydroxyapatite based ceramics by PIXE and neuron activation analysis. *Eur Phys J AP*, 205-215.

[27]: P. Laquerriere., L. Killian., A. Bouchot, E Jallot, A. Grandjean, M. Guenounou, et al. **(2001)**. Effect of hydroxyapatite sintering temperature on intracellular ionic concentrations of monocytes: a TEM-cryo-X-ray microanalysis study. *J; Biomed Mater Res*, 58, 238-246.

[28]: P. Laquerriere, A. Grandjean, E. Jallot, P. Frayssinet., M.Nardin, J.M.Nedelec, D.Laurent-Maquin. **(2005)**. Influence des propriétés physicochimiques d'hydroxyapatite sur le comportement cellulaire. *ITBM-RBM* 26, 200-205.

[29]: M.Mathew and S.Takagi. **(2001)**. Structures of Biological Minerals in Dental. Research. *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol* 106, 1035–1044.

[30]: De Maeyer, E.A.P.and Verbeeck, R.M.H. **(1993)**. Possible substitution mechanisms for sodium and carbonate in calcium hydroxyapatite. *Bull. Soc.Chim.Belg* 102, 601-609.

[31]: X.miao, Y.Hu, J.Liu, X.Huang. **(2007)**. Hydroxyapatite coating on porous zirconia. *Materials science and engineering C* 27, 257-261.

[32]: S.Jinawath, P Sujaridworakun. **(2002)**. Fabrication of porous calcium phosphate. *Materials Science and Engineering C* 22, 41–45.

[33]: C.Schwartz. **(2010)**. Bilan d'utilisation des substituts osseux de synthèse en chirurgie orthopédique et en traumatologie.e-mémoires de l'académie nationale de chirurgie, 9 (2), 76-86.

[34]: L Galois, D.Mainard, P.Cohen, F.Pfeffer, R.Traversari, J.P.Delagoutte. **(2000)**. Comblement des pertes de substance osseuses par le phosphate tricalcique. *Ben traumatologie.Ann Chir*, 125, 972-981.

[35]: Yunqing Kang , Guangfu Yin, Quan Yuan , Yadong Yao , Zhongbing Huang ,Xiaoming Liao , Bo Yang , Li Liao , Hui Wang. **(2008)**.Preparation of poly (L-lactic acid)/ β -tricalcium phosphate scaffold for bone tissue engineering without organic solvent. *Materials Letters* 62, 2029–2032.

[36]: M.Wang, N.H.Ladizesky, K.E.Tanner,I.M.Ward, W.Bonfield. **(2000)**. Hydrostatically extruded HAPEX. *J.Mater.Sci*, 35, 1023-1030.

[37]: Toshihiro Kasuga, Yoshio Ota, Masayuki Nogami, Yoshihiro Abe. **(2001)**. Preparation and mechanical properties of polylactic acid composites containing hydroxyapatite fibers. *Biomaterials* 22, 19-23.

[38]: AR.Boccaccini, V.Maquet. **(2003)**. Bioresorbable and bioactive polymer/bioglass® composites with tailored pore structure for tissue engineering application. *Compos Sci Technol* 63, 2417-29.

[39]: P.E.Sarah,G. M.G.Kaacey, K.N.Prashant. **(2006)**. Chimical synthesis of poly(lactic-co-glycolic acid)/ hydroxyapatite composites for orthopaedic application. *Acta Biomaterialia* 2 (3), 277-286.

[40]: Chandrasekhar R.Koothapalli, Montgomery.T.Shaw, Mei WEI. **(2005)**.Biodegradable HA-PLA 3D porous scaffolds: Effect of nano-sized content on scaffold properties. *Acta Biomaterialia* 1, 653-662.

[41]: M. Peroglio Martynovitch. **(2008)**. Composites organiques-inorganiques poreux pour la substitution osseuse. Thèse. Institut national des sciences appliquées de Lyon. N° d'ordre 2008-ISAL-0083.

[42]: Ting Tian, Dongliang Jiang, Jingxian Zhang, Qingling Lin. **(2007)**. Fabrication of bioactive composite by developing PLLA onto the framework of sintered HA scaffold. *Materials Science and Engineering C*. Volume 28, 51-56.

[43]: Sandrine Gay, Saioa Arostegui, Jacques Lemaitre. **(2009)**. Preparation and characterization of dense nanohydroxyapatite/PLLA composites. *Materials Science and Engineering C* 29, 172–177.

[44]: Nabakumar Pramanik, Sasmita Mohapatra, Parag Bhargava, Panchanan Pramanik.**(2009)**. Chemical synthesis and characterization of hydroxyapatite (Hap)-poly(ethylene co vinyl alcohol) (EVA) nanocomposite using a phosphonic acid coupling agent for orthopaedic applications. *Materials science and engineering C* 29, 228-236.

[45]: Sang-Soo Kima, Min Sun Park, Oju Jeon, Cha Yong Choi, Byung-Soo Kim. **(2006)**. Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials* 27, 1399–1409.

[46]: Moncy V. Jose, Vinoy Thomas, Kalonda T. Johnson, Derrick R. Dean, Elijah Nyairo. **(2009)**. Aligned PLGA/HA nanofibrous nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia* 5, 305–315

[47]: H.J.Chung, T.G.Park. **(2007)**. Surface engineered and drug releasing pre-fabricated scaffolds for tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59, 249–262.

[48]: Li.S.M. **(1989)**. Etude de la dégradation des poly(α -hydroxyacides)aliphatiques dérivés des acides lactique et glycolique en milieu aqueux modelés. Diplôme de doctorat, université de rouen, 183p.

[49]: A.Torres.De Dominguez, S.Roussos, M.Vert, S.M.Li, C.Soccol. **(1995)**. Bioconversion de l'amidon en acide L(+) lactique, synthèse chimique du poly (acide lactique) et dégradation par des microorganismes. Valorisations non-alimentaires des grandes productions agricoles. Nantes (France), 18-19 mai 1994. Ed. INPA, Paris (Les Colloques, n°71)

[50]: J.C.Middleton., A.J Tipton. **(2000)**. Synthetic biodegradable polymers as orthopeadic devices. *Biomaterials* 21, 2335-45.

[51]: I.Soriano, C.E.vora. **(2000)**. Formulation of calcium phosphates /poly (d,l-lactide) blends containing gentamicin for bone implantation. *Journal of Controlled Release* 68, 121–134

[52]: S.P.Marina, A.Kapil, O.Andrew, S.Kevin, J.D.Abraham. **(2007)**. Polymer carriers for drug delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews* 59, 187–206.

[53]: SCJ.Loo, CP.Ooi, SHE.We, YCF.Boey. **(2005)**. Effect of isothermal annealing on the hydrolytic degradation rate of poly(lactide-coglycolide) (PLGA). *Biomaterials* 26, 2827–33.

[54]: G.Schwach, M.Vert. **(1999)**. In vitro and in vivo degradation of lactic-acid based interference screws used in cruciateligament reconstruction. *International Journal of biological macromolecules*, Volume 25, Issue: 1-3, 283-291.

[55]: A.Stephane, C.Denis, F.Patrick, H.Marie Francois, L.H.Jean Charles. **(2005)**. Biological performance of a new β -TCP/PLLA composite material for applications in spine surgery: In vitro and in vivo studies. Online (www.interscience.wiley.com).

[56]: J.Chlopek, P. Rosol, A. Morawska-Chochol. **(2006)**. Durability of polymer-ceramics composite implants determined in creep tests. *Composites Sciences and technology*, Volume 66, 1615-1622.

[57]: M. B. Yaylaoğlu, P. Korkusuz, Ü. Örs, F. Korkusuz, V. Hasirci. **(1999)**. Development of a calcium phosphate-gelatin composite as a bone substitute and its use in drug release. *Biomaterials* 20, 711-719.

[58] : M. Sivakumar, K. Panduranga Rao. **(2002)**. Preparation, characterization and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite–gelatin composite microspheres. *Biomaterials* 23, 3175–3181.

[59]: Y.Simon, W.Mark, T.Yasuhiko, .G.M.Antonios. **(2005)**. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. *Journal of controlled release* 109, 256-274.

[60]: A.Bigi, B.Bracci, S.Panzavolta. **(2004)**. Effect of added gelatin on the properties of calcium phosphate cement. *Biomaterials* 25, 2893-2899.

[61]: A.Sousa, K.C.Souza, E.M.B.Sousa. **(2007)**. Mesoporous silica/apatite nanocomposite: Special synthesis route to control local drug delivery. *Acta Biomaterialia*, 4(3), 671-679.

[62]: M.P.Ginebra, T.Traykova, J.A.Planell. **(2006)**. Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: A review. *Journal of controlled Release* 113, 102-110.

[63]: Yoshitaka Shinto, Atsumasa Uchida, Feza Korkusuz, Nobuhito Araki, Keiro Ono. **(1992)**. Calcium hydroxyapatite ceramic used as a delivery system for antibiotics. *J Bone Joint Surg [Br]*, 74-B, 600-604.

[64]: Akihiro sudo, Msahiro hasegawa, Aki Fukuda, Atsumasa Uchida. **(2008)**. Treatment of infected Hip Arthroplasty With Antibiotic-Impregnated Calcium Hydroxyapatite. Case Report. *The Journal of Arthroplasty* Vol 23, N°1, 145-150.

[65]: L.G.Anita, V.Marie-Clémence, T.Olivier, S.Jean-Christophe. **(2005)**. Gentamicin-Loaded Calcium Carbonate Materials : Comparison of Two Drug-Loading Modes. *Wiley Periodicals, Inc. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater* 73B: 164-170.

[66]: L.M.Rodriguez-Lorenzo, J.M.F. Ferreira. **(2004)**..Development of porous ceraamic bodies for applications in tissue engineering and drug delivery systems. *Materials Research Bulletin* 39, 83-91.

[67]: B. Palazzo , M.C. Sidoti, N. Roveri, A. Tempieri, M. Sandri, L. Bertolazzi, F. Galbusera, G. Dubuni, P. Vena, R. Contro. **(2005)**. Controlled drug delivery from porous hydroxyapatite grafts: An experimental and theoretical approach. *Materials Science and Engineering C* 25, 207-213.

[68]: Robert C. Thomson, Michael J, John M. Powers, Antonios G. Mikos. **(1998)**. Hydroxyapatite fiber reinforced poly(alpha-hydroxy ester) foams for bone regeneration. *Biomaterials* 19, 1935-1943.

[69]: A.J.Ruys, M.Wei, C.C.Sorrell, M.R.Dickson, A.Brandwood and B.K.Milthorpe. **(1995)**. Sintering effects on the strength of hydroxyapatite. *Biomaterials* 16, 409-415.

[70]: G.Muralithran, S. Ramesh. **(2000)**. The effects of sintering temperature on the properties of hydroxyapatite. *Ceramics International* 26, 221-230.

[71]: S.Ramesh, C.Y.Tan, I. Sopyan, M. Hamdi, W. D.Teng. **(2007)**. Consolidation of nanocrystalline hydroxyapatite powder. *Science and Technology of advanced Materials* 8, 124-130.

[72]: Oleg Prokopiev, Igor Sevostianov. **(2006)**. Dependence of the mechanical properties of sintered hydroxyapatite on the sintering temperature. *Materials science and Engeneering A* 431, 218-227.

[73]: Nithyanantham Thangamani, Kandasamy Chinnakali, F.D.Gnanam. **(2002)**. The effect of powder processing on densification, microstructure and mechanical properties of hydroxyapatite. *Ceramics International* 28, 355-362.

[74]: A.Cosijns, C.Vervaet, J.Luyten, S.Mullens, F.Siepmann, L.Van Hoorbeke, B.Masschaele, V.Cnudde, J.P.Remon. **(2007)**. Porous hydroxyapatite tablets as carriers for low dosed drugs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 67, 498-506.

[75]: Vainionpää S, Rokkanen P, Törnäälä P. **(1989)**. Surgical applications of biodegradable polymers in human tissues. *Prog Polym Sci*14, 679-716.

[76]: T.C Robert, Y.J Michael, P.M John, M.G Antonios. **(1998)**. Hydroxyapatite fiber reinforced poly (α -hydroxy ester) foams for bone regeneration. *Biomaterials* 19, 1935-1943.

[77]: Ruixue Sun, Musen Li, Yupeng Lu , Shitong Li. **(2005)**. Dissolution behavior of hollow hydroxyapatite microspheres immersed in deionized water. *Materials Research Bulletin*, Volume 41, Issue 6, 1138-1145.

[78]: E.Chevalier, M.Viana, S.Cazalbou, L.Makein, J.Dubois, D.Chulia. **(2010)**. Ibuprofen loaded calcium phosphate granules: combination of innovative characterisation methods to relate mechanical strength to drug location. *Acta Biomaterialia*, Volume 6, issue1, 266-274.

[79]: G.Mbay, L.A.D.Diouf, A. Ndiaye, A.S.Diallo, M.Soumbounou. **(2009)**. Mise au point d'un système hydroxyapatite/ polymère pour la libération contrôlée d'acide acétylsalicylique. *J.SCI. Parma. Biol*, volume 10, N°2 ? 21-29.

[80]: A. Akashi, Y. Matsuya, M. Unemori, A. Akamine. **(2001)**. Release profile of antimicrobial agents from alpha-tricalcium phosphate cement. *Biomaterials* 22, 2713-2717.

[81]: U. Gbureck, E. Vorndran, A. Frank, Müller, Jake E Barralet. **(2007)**. Low temperature direct 3D printed bioceramics and biocomposites as drug release matrices. *Journal of controlled Release* 122, 173 -180.

[82]: U. Gbureck, E. Vorndran, Jack E Barralet. **(2008)**. Modeling Vancomycin release kinetics from microporous calcium phosphate ceramics comparing static and dynamic immersion conditions. *Acta Biomaterialia* 4(5), 1480-1486.

[83]: Z. Zahihua, Y.Qingfeng; L. Xiaoping, L. Lihua, L. Qingquan. **(2009)**. In vitro degradation behaviour of poly-L-lactide / bioactive glass composite materials in phosphate-buffered solution. *Polymer Bulletin*, vol 63, n°4, 575-586.

[84]: Md.M.Rahman, A.B. Ripon Khalifa, Rishikech, Md. Borhanuddin Opu Fakhruddin. **(2011)**. Formulation and in vitro evaluation of kitotifen Fumarate Sustained release matrix tablets Using HPMC 4000 cps (methocel K4M CR) and Xanthan gum (3:1). *International Journal of Drug Delivery* 3, 513-524.

[85]: R. Sharma, W. Roderik B, k; Pathak. **(2010)**. Evaluation of the kinetics and mecanism of drug release from econazole nitrate nanosponge loaded carbapol hydrogel. *Indien Journal of Pharmaceutical Education and research*, 25-31.

[86]: P. Costa, J. M. S. Lobo. **(2001)**. Modeling comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 13, 123-133.

[87]: S. Dash, P. N. Murchay, L. Nath, P. Chowdhury. **(2010)**. Kinetic Modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutic. Drug research*. Vol N °3, 217-223.

JCPDS n°9-432, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

Annexes

Annexes

Annexe A

La concentration et l'absorbance des solutions de métronidazole, kétoprofène et chloramphénicol sont données dans les tableaux A.1, A.2, A.3. La concentration et l'absorbance des solutions contenant les ions Ca^{2+} sont donnés dans le tableau A.4.

Tableau A.1: Concentration et absorbance des différentes solutions de métronidazole

C	0,001	0,004	0,005	0,006	0,007	0,008	0,01	0,02	0,04	0,06
(g/l)										
A	0,230	0,370	0,406	0,468	0,512	0,578	0,630	1,310	2,215	2,928

Tableau A.2: Concentration et absorbance des solutions contenant le kétoprofène

C (g/l)	0,01	0,008	0,007	0,006	0,005	0,004	0,001
A	0,65	0,53	0,49	0,44	0,38	0,32	0,16

Tableau A.3: Concentration et absorbance des solutions contenant le chloramphénicol

C (g/l)	0,1	0,05	0,01	0,005	0,001
A	2,423	1,392	0,287	0,136	0,029

Tableau A.4: concentration et absorbance des solutions contenant les ions calcium

$C_{Ca^{2+}}$ (g/l)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
A	0,004	0,007	0,010	0,013	0,017

Les courbes d'étalonnage correspondantes aux métronidazole, kétoprofène, chloramphénicol et les ions Ca^{2+} sont données par les figures. A.1, A.2, A.3, A.4.

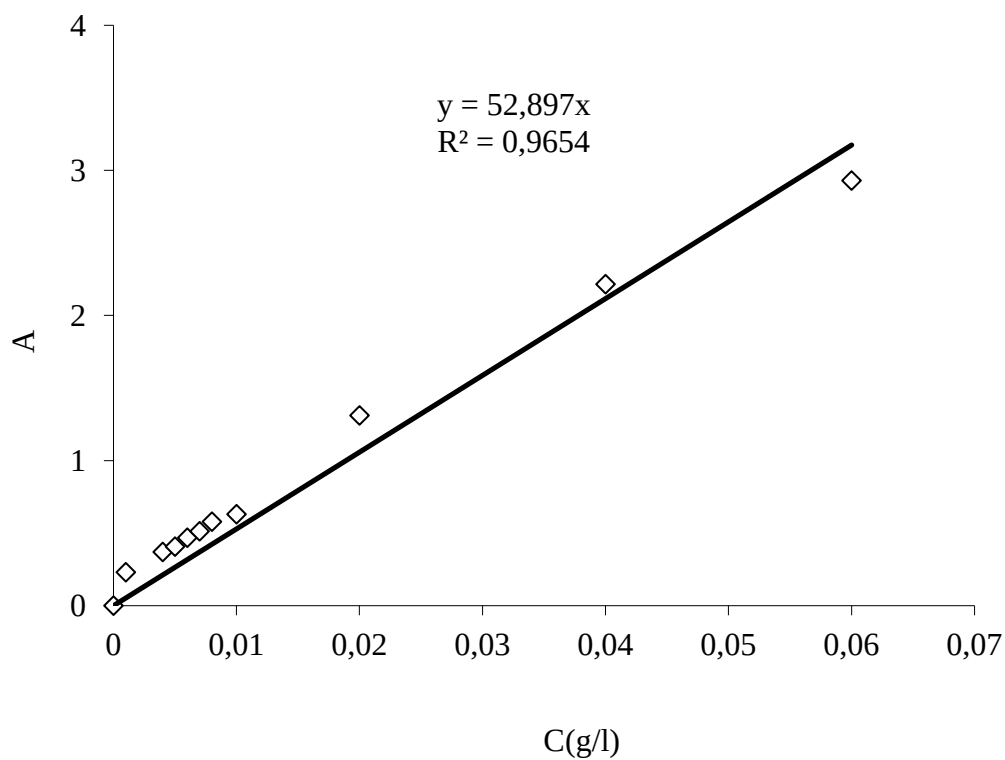


Figure A.1: Variation de l'absorbance des solutions contenant le métronidazole en fonction de la concentration

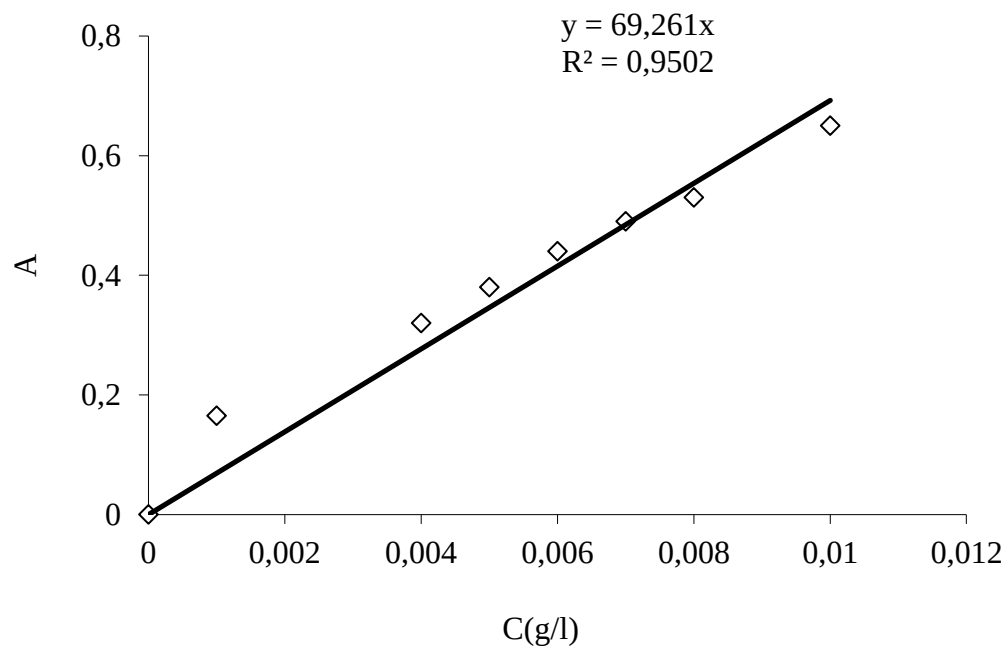


Figure A. 2: Variation de l'absorbance des solutions de kétoprofène en fonction de la concentration

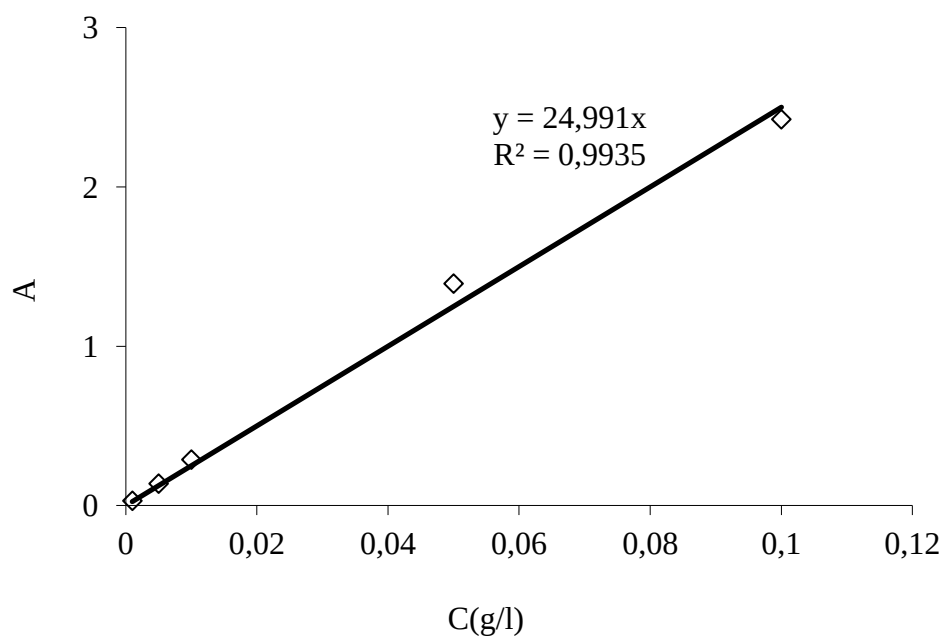


Figure A.3: Variation de l'absorbance des solutions de chloramphénicol en fonction de la concentration

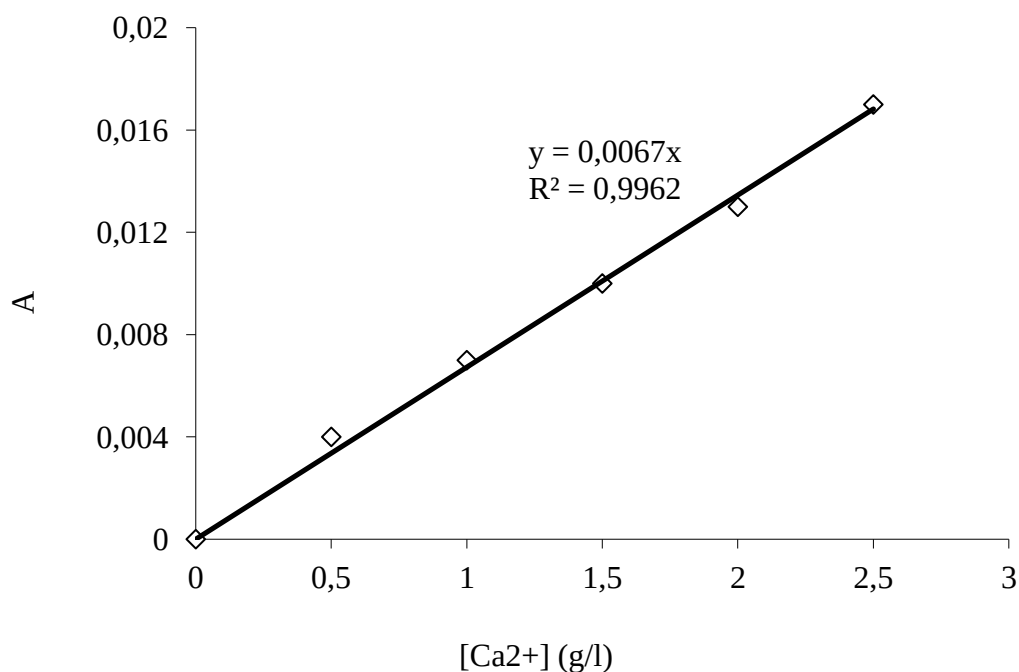


Figure A.4: Variation de l'absorbance des solutions contenant les ions Ca^{2+} en fonction de la concentration

Annexe B

B.1. Analyse par spectrométrie d'absorption atomique

Un spectromètre d'absorption atomique est composé d'une lampe à cathode creuse, d'un atomiseur, d'un nébuliseur, d'un monochromateur et d'un détecteur.

B.1.1.Principe

La spectrométrie atomique est basée sur l'absorption et l'émission d'un rayonnement par les atomes. Lors d'une analyse par absorption atomique, l'échantillon liquide est introduit dans un nébuliseur par l'intermédiaire d'un tube capillaire et transformé en fines gouttelettes, lesquelles sont introduites dans la flamme d'un brûleur. Ce processus de vaporisation des atomes appelé atomisation consiste à transformer les ions en atomes

correspondants. L'atomisation est obtenue à l'aide d'une flamme formée d'un mélange Air-Acétylène ($\text{Air-C}_2\text{H}_2$) ou oxyde nitreux- acétylène ($\text{N}_2\text{O-C}_2\text{H}_2$).

Le rayonnement d'une source lumineuse (une cathode creuse ou une lampe à décharge sans électrode) émet un spectre de l'élément à analyser et l'absorption de ce rayonnement induit une transition électronique de l'état fondamental stable à un état excité. La quantité de rayonnement absorbée dépend de la quantité de l'élément à l'état fondamentale qui est proportionnelle à sa concentration dans l'échantillon. L'absorption d'une longueur d'onde choisie est mesurée par le changement de l'intensité de la lumière frappant le détecteur par la présence ou l'absence de l'élément dans la flamme.

Auteur : Zamoume Ourdia

Directeurs de thèse : P. Sharrock et M.O. Mecherri

Titre : *Etude de systèmes fixateurs à libération prolongée*

Résumé : Nous synthétisons au cours de ce travail des céramiques d'hydroxyapatite et des composites HA/PLLLA poreux. Les résultats d'essais mécaniques ont montré que les céramiques poreuses seules sont fragiles, néanmoins, lorsqu'elles sont renforcées avec de la gélatine et/ou PLLA leur résistance à la rupture et leur module d'élasticité en compression sont similaires à ceux de l'os spongieux. Les propriétés mécaniques des composites poreux dépendent de la quantité d'apatite, elles sont détériorées pour une quantité d'apatite supérieure à 25%. La dégradation in vitro des composites contenant le sel porogène est lente notamment lorsque la quantité d'apatite dans le composite est élevée. La cinétique de dégradation est proportionnelle à la cinétique de repousse osseuse. Nous avons enfin utilisé les céramiques poreuses de synthèse pour étudier leur efficacité à relarguer des médicaments de façon prolongée. Les résultats ont montré que le relargage dépend de la quantité de pores, volume de la molécule et de méthode d'inclusion du principe actif. Les modèles mathématiques classiques ont montré que le relargage est contrôlé par un mécanisme de diffusion de fick.

Mots clés : Hydroxyapatite, Composites HA/PLLA, Propriétés mécaniques, relargage de médicaments

Abstract: We synthesize in this work porous ceramics of hydroxyapatite and composite HA / PLLA. The results of mechanical tests showed that the porous ceramic alone are fragile, however, when reinforced with gelatin and / or PLLA, their compression strength and modulus of elasticity are similar to those of 'spongy bone. The mechanical properties of the porous composite depends on the amount of apatite, they are deteriorated when amount of apatite is greater than 25%. The in vitro degradation of composite with salt is slow especially when the amount of apatite in the composite is high. The kinetics of degradation is proportional to the kinetics of bone growth. Finally, we used porous synthetic ceramics to study their effectiveness in releasing drug for long periods. The results showed that the release rate depends on the amount of pore in the ceramic, volume of the molecule and method of inclusion of the drug. The conventional mathematical models have shown that the release is controlled by a diffusion mechanism.

Key Words: Hydroxyapatite, HA/PLLA Composites, mechanical properties, drug release