

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA-BEJAIA  
FACULTE DE LA TECHNOLOGIE  
DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES

**MEMOIRE DE MAGISTER**

Présenté par

**Sabeha YALA**

Pour l'obtention du diplôme de Magister

En Génie des procédés

Option : Génie des polymères

**Modification de la surface de l'hydroxyapatite par  
greffage de polymère (polypyrrole)**

Soutenu le 07/11/2010

Devant le jury :

|                             |  |            |
|-----------------------------|--|------------|
| M <sup>me</sup> F.AISSANI   | Professeur, université A/MIRA, Béjaia            | Président  |
| M <sup>f</sup> F.REZGUI     | Maître de conférences, université A/MIRA, Béjaia | Examineur  |
| M <sup>f</sup> N.BEZZI      | Maître de conférences, université A/MIRA, Béjaia | Examineur  |
| M <sup>f</sup> H.KHIREDDINE | Professeur, université A/MIRA, Béjaia            | Rapporteur |

Année universitaire 2010-2011

# Remerciements

Les travaux qui ont fait l'objet de cette étude ont été effectués au Laboratoire de Génie de L'environnement (LGE), Université Abderrahmane Mira-Bejaia sous la direction du Professeur **H. KHIREDDINE** à qui je tiens à exprimer ma profonde et sincère gratitude pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, pour m'avoir encadré et pour toutes les connaissances scientifiques et les conseils qu'il m'a apporté. Qu'il trouve ici l'expression de ma très vive reconnaissance pour l'aide permanente qu'il m'a apportée.

Je remercie vivement Monsieur **H. SOUALAH**, pour m'avoir permis d'effectuer certaines expériences au sien de son laboratoire.

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur **F. REZGUI** et Monsieur **N. BEZZI** qui n'ont pas hésité à participer au jury et Madame **F. AISSANI** qui a accepté de présider ce jury.

Je voudrais exprimer toute mon amitié à tous les membres du laboratoire de Génie de L'environnement pour leur gentillesse, le partage des connaissances scientifiques, leur collaboration, leur soutien, l'esprit d'équipe et la joie de vivre qu'ils font rayonner autour d'eux.

Mes remerciements vont à Madame **A. BENAMOR**, Madame **F. BRADAI**, Monsieur **M. MAMMAS**, Monsieur **M. BRAHAMI**, Monsieur **M. KITOUNE**, Monsieur **H. BENIDIRI**, ainsi que les ingénieurs des laboratoires pour leur aide et leur disponibilité.

Pour finir, j'exprime un gigantesque remerciement à ma famille qui a suivi avec intérêt le déroulement de mon travail et qui, à aucun moment n'a douté de mes capacités. Sans leur aide morale et financière ce travail n'aurait pas abouti.

## *Index de tableaux*

|                      |   |    |
|----------------------|---|----|
| <b>Tableau I-1</b>   | Exemples de biomatériaux en fonction de l'interface tissu osseux/implant.....                                   | 7  |
| <b>Tableau I-2</b>   | Propriétés mécaniques de l'os cortical, de l'os trabéculaire, de la dentine et de l'émail dentaire.....         | 9  |
| <b>Tableau I-3</b>   | Composition chimique (en pourcentages massiques) des phases minérales de l'émail, de la dentine et de l'os..... | 12 |
| <b>Tableau I-4</b>   | Différents phosphates de calcium.....   | 14 |
| <b>Tableau I-5</b>   | Exemples de substitutions dans la structure apatitique .....  | 16 |
| <b>Tableau II-1</b>  | Quantités de réactifs utilisés au cours de la préparation des matériaux hybrides HAP-PPy .....                  | 35 |
| <b>Tableau III-1</b> | Valeurs des pertes de masse des composites hybrides HAP/PPy calculées à partir des courbes d'ATG.....           | 59 |
| <b>Tableau III-2</b> | Surfaces spécifiques et rapports molaires des poudres d'HAP modifiées .....                                     | 64 |

# *Index de figures*

|                      |   |    |
|----------------------|---|----|
| <b>Figure I-1</b>    | Aperçu historique d'apparition des biomatériaux .....   | 4  |
| <b>Figure I-2</b>    | Exemple de biomatériaux répertoriés en fonction de leur bioactivité....   | 5  |
| <b>Figure I-3</b>    | Coupe longitudinale schématique d'un os long.....   | 8  |
| <b>Figure I-4</b>    | Localisation des ostéons dans l'os cortical.....  | 9  |
| <b>Figure I-5</b>    | Coupe transversale schématique d'une molaire.....   | 10 |
| <b>Figure I-6</b>    | Principe d'action des cellules osseuses.....  | 11 |
| <b>Figure I-7</b>    | Projection sur le plan de base (001) de la maille de l'HAP selon Young (Young1973).....   | 17 |
| <b>Figure I-8</b>    | Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ en milieu neutre sans catalyseur.....   | 20 |
| <b>Figure I-9</b>    | Mécanisme d'hydrolyse par catalyse acide des alcoxydes métalliques..  | 20 |
| <b>Figure I-10</b>   | Mécanisme d'hydrolyse par catalyse basique des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ .....  | 21 |
| <b>Figure I-11</b>   | Mécanisme d'alcoxolation des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ .....  | 22 |
| <b>Figure I-12</b>   | Mécanisme d'oxolation des alcoxydes métalliques $M(OR)_n$ .....   | 22 |
| <b>Figure I-13</b>   | Ca/P après dissolution en fonction des Ca/P des HAP.....  | 26 |
| <b>Figure I-14</b>   | Représentation de la première étape de la réaction entre le dichlorure phényle phosphonique et les groupements hydroxyles sur la surface de l'hydroxyapatite..... | 30 |
| <b>Figure II-1</b>   | Diagramme schématique des étapes du procédé sol-gel utilisé pour la préparation de la céramique d'HAP.....  | 33 |
| <b>Figure III-1</b>  | Thermogramme TG des os de bovins .....  | 43 |
| <b>Figure III-2</b>  | Spectres infrarouge des os et des os traités .....  | 44 |
| <b>Figure III-3</b>  | Micrographie MEB des os de bovin crus .....   | 45 |
| <b>Figure III-4</b>  | Micrographie MEB des os après traitement .....  | 45 |
| <b>Figure III-5</b>  | Spectre IR de la poudre d'HAP naturelle .....   | 46 |
| <b>Figure III-6</b>  | Spectre IR de la poudre d'HAP synthétique.....  | 47 |
| <b>Figure III-7</b>  | Spectre DRX de la poudre d'HAP naturelle.....   | 48 |
| <b>Figure III-8</b>  | Spectre DRX de la poudre d'HAP synthétique.....   | 48 |
| <b>Figure III-9</b>  | Micrographie MEB des poudres d'HAP :a) naturelle<br>b) synthétique....  | 50 |
| <b>Figure III-10</b> | Schéma réactionnel de polymérisation oxydative du pyrrole utilisant $FeCl_3$ .....  | 53 |

|                      |  |    |
|----------------------|--|----|
| <b>Figure III-11</b> | Spectre DRX du polypyrrole.....  | 53 |
| <b>Figure III-12</b> | Spectre IR du polypyrrole.....   | 54 |
| <b>Figure III-13</b> | Micrographie MEB du polypyrrole.....   | 54 |
| <b>Figure III-14</b> | Spectres DRX des hydroxyapatites naturelles greffées par le polypyrrole (HAPnat-PPy).....                                    | 55 |
| <b>Figure III-15</b> | Spectres DRX des hydroxyapatites synthétiques greffées par le polypyrrole (HAPsyn-PPy).....                                  | 56 |
| <b>Figure III-16</b> | Spectres IR de HAPnat-PPy, comparés au spectre de HAP.....   | 57 |
| <b>Figure III-17</b> | Spectres IR de HAPsyn-PPy, comparés au spectre de HAP.....   | 58 |
| <b>Figure III-18</b> | Courbes ATG/ATD de : a) HAPnat-5Py b) HAPnat-10Py c) HAPnat-15Py.....  | 60 |
| <b>Figure III-19</b> | Courbes ATG/ATD de: a) HAPsyn-5Py b) HAPsyn-10Py c) HAPsyn-15Py.....   | 61 |
| <b>Figure III-20</b> | Micrographies MEB des composites HAP-PPy<br>Colonne a : HAPnat-PPy Colonne b : HAPsyn-PPy.....                               | 63 |
| <b>Figure III-21</b> | Schéma simple de liaisons hydrogène établies entre l'hydrogène du groupement hydroxyle de HAP et l'azote du polypyrrole..... | 65 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Introduction</b> .....   | 1  |
| <b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>  |    |
| I.1. Les biomatériaux.....  | 3  |
| I.1.1. Définition générale des biomatériaux.....  | 3  |
| I.1.2. Les différents types de biomatériaux.....  | 3  |
| I.1.3. Propriétés et classification des biomatériaux.....                                       | 5  |
| I.1.3.1. Biocompatibilité d'un comblement osseux.....   | 5  |
| I.1.3.2. Classification des biomatériaux en fonction de l'interface formée avec les tissus..... | 6  |
| I.1.3.2.1. Biomatériaux inertes.....  | 6  |
| I.1.3.2.2. Biomatériaux poreux.....   | 6  |
| I.1.3.2.3. Biomatériaux résorbables.....  | 6  |
| I.1.3.2.4. Biomatériaux bioactifs.....  | 7  |
| I.1.3.3. Autres propriétés des biomatériaux.....  | 7  |
| I.2. Le tissu osseux.....   | 8  |
| I.2.1. L'os naturel.....  | 8  |
| I.2.2. La dent.....   | 10 |
| I.2.3. Le remodelage osseux.....  | 11 |
| I.2.4. Composition chimique et structure de la phase minérale du tissu osseux.....              | 12 |
| I.3. Les phosphates de calcium.....   | 13 |
| I.3.1. Les phosphates de calcium apatitiques.....   | 14 |
| I.3.2. Substitutions dans la structure apatitique.....  | 15 |
| I.3.3. L'hydroxyapatite (HAP).....  | 16 |
| I.3.3.1. Structure cristallographique de l'hydroxyapatite stœchiométrique.....                  | 17 |
| I.3.3.2. Applications de l'hydroxyapatite.....  | 18 |
| I.3.3.3. Méthodes de synthèse de l'hydroxyapatite.....  | 18 |
| I.3.3.3.1 Synthèse par voie humide.....   | 18 |
| 1) Méthode sol-gel.....   | 19 |
| 2) Synthèse par précipitation.....  | 23 |
| 3) Synthèse hydrothermale.....  | 24 |
| I.3.3.3.2. Synthèse par voie sèche.....   | 24 |
| I.3.3.4. Propriétés de l'hydroxyapatite.....  | 25 |
| I.3.3.5. Modification de la surface de l'hydroxyapatite.....                                    | 28 |
| I.3.3.5.1. Modification de la surface de l'hydroxyapatite par action du chitosan.....           | 28 |

---

|   |    |
|---|----|
| I.3.3.5.2. Modification de la surface de l'hydroxyapatite par action des composés             |    |
| Organophosphoriques.....  | 28 |
| a) Action de l'acide vinyle phosphonique.....   | 28 |
| b) Action de l'acide pyrophosphorique.....  | 29 |
| c) Action de l'acide phosphonique et l'acide phosphinique.....                                | 30 |
| d) Action du dichlorure phényle phosphonique.....   | 30 |
| <b>Chapitre II : Matériels et méthodes</b>  |    |
| II.1. Synthèse d'hydroxyapatite.....  | 32 |
| II.2. Extraction de l'hydroxyapatite naturelle à partir des os de bovins.....                 | 34 |
| a) Préparation des os .....   | 34 |
| b) Extraction de l'hydroxyapatite naturelle.....  | 34 |
| II.3. Synthèse des composites hydroxyapatite-polypyrrole.....                                 | 34 |
| II.4. Techniques d'analyses et de caractérisations utilisées.....                             | 35 |
| <b>Chapitre III : Analyse et caractérisation des produits synthétisés</b>                     |    |
| <b>Première partie : Caractérisation des hydroxyapatites utilisées comme biomatériau</b> 42   |    |
| III.1. Caractérisation des poudres d'hydroxyapatite.....                                      | 46 |
| III.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge.....                                    | 46 |
| III.1.2. Caractérisation par diffraction des rayons X.....                                    | 48 |
| III.1.3. Caractérisation par microscopie électronique à balayage.....                         | 59 |
| <b>Deuxième partie : Caractérisation des matériaux hybrides hydroxyapatite-polypyrrole</b> 52 |    |
| III.2. Caractérisation des matériaux hybrides hydroxyapatite / polypyrrole.....               | 55 |
| III.2.1. Caractérisation par diffraction des rayons X.....                                    | 55 |
| III.2.2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge.....                                    | 57 |
| III.2.3. Caractérisation par analyse thermique (ATG/ATD).....                                 | 59 |
| III.2.4. Caractérisation par microscopie électronique à balayage.....                         | 62 |
| III.2.3. Mesures structurales (méthode BET).....  | 64 |
| <b>Conclusion</b> .....   | 67 |
| <b>Références bibliographiques</b>  |    |

# *Introduction*

## Introduction

Le squelette osseux, qui constitue la charpente du corps humain, peut subir des fractures ou des pertes de substances. Ces pertes, induites par des traumatismes ou par certaines pathologies, peuvent ainsi altérer une ou plusieurs fonctions du tissu osseux. Les chirurgiens tentent de remédier à ces problèmes par une reconstruction ou un remplacement du site osseux endommagé. A ces fins, les matériaux de substitution d'origine synthétique sont de plus en plus sollicités, car ils présentent une sécurité clinique que ne peuvent offrir les greffes osseuses naturelles. Ces derniers doivent être biocompatibles et dotés de propriétés mécaniques et physico-chimiques leur permettant d'éviter tout risque d'intolérance ou de rejet par l'organisme.

Ces dernières années, d'importants progrès ont été réalisés concernant la conception et le développement de nouveaux biomatériaux de substitution osseuse. Les biomatériaux de nouvelle génération sont désormais capables de se lier au tissu osseux et de stimuler son processus de régénération. Chirurgiens, chimistes, biologistes et physiciens travaillent ainsi en étroite collaboration sur cette nouvelle génération de biomatériaux qui permettra à la médecine de continuer à progresser dans le domaine des substituts osseux [1].

Les phosphates de calcium se sont imposés depuis une vingtaine d'années dans le domaine des biomatériaux à usage orthopédique et ont montré des propriétés intéressantes de bioactivité et d'ostéoconduction. Parmi les phosphates de calcium, les apatites jouent un rôle primordial dans les processus biologiques puisqu'elles constituent la partie minérale des tissus calcifiés des vertébrés. Ces composés possèdent de nombreuses propriétés chimiques permettant aux tissus de s'adapter à leur fonction et peuvent ainsi conférer aux biomatériaux des caractéristiques intéressantes [2].

Parmi les apatites, l'hydroxyapatite (HAP) est le principale constituant minéral de l'os. Elle présente plusieurs avantages comme sa structure cristalline proche de celle de l'os humain et sa biocompatibilité. Elle est tolérée aussi en tant que matériau de comblement et de revêtement des prothèses métalliques. L'ensemble des travaux effectués a permis de mettre en évidence l'hydroxyapatite comme substance, qui lors de son utilisation en tant qu'implant, n'entraîne pas de réponses cellulaires inflammatoires, ni de réactions pathologiques [3].

Le greffage des polymères sur la surface de l'hydroxyapatite a différents objectifs :

- Soit le polymère peut être une matrice pour l'incorporation de particules métalliques servant d'antibactérien, dans le but de la stabilisation de la croissance des nanoparticules et d'éviter le processus d'agglomération. Ces nanoparticules greffées sur le polymère permettent d'améliorer et de stabiliser sa conductivité.

- Soit il permet d'améliorer ses propriétés physiques comme la surface spécifique et la porosité ce qui rend la poudre d'hydroxyapatite dont la surface est modifiée plus réactive est plus osteoconductrice. En effet, pour certaines applications médicales, la porosité est une propriété recherchée afin de permettre une cohésion et une colonisation de l'implant par l'os.

L'objet de ce mémoire est la synthèse et la caractérisation de biomatériaux hybrides hydroxyapatite/polypyrrole destinés à la fixation d'antibactériens. Ainsi, le présent travail est composé de trois chapitres : La synthèse bibliographique, qui constitue le premier chapitre de ce manuscrit. Au cours de ce chapitre nous rapportons plusieurs notions liées aux biomatériaux, et nous nous intéressons ensuite à l'hydroxyapatite qui est l'objet de ce présent travail.

Les différentes techniques expérimentales utilisées au cours de notre travail sont décrites dans le second chapitre.

Le troisième chapitre de ce manuscrit est scindé en deux parties. La première partie est consacrée à l'élaboration des poudres d'HAP synthétique et naturelle et leur caractérisation physico-chimique par des techniques d'analyse variées et cohérentes pour mieux comprendre les propriétés structurales et morphologiques des matériaux préparés.

La modification de la surface d'hydroxyapatite par le polypyrrole constitue la deuxième partie de ce chapitre. Nous avons essayé de préparer des composites hybrides hydroxyapatite/polypyrrole en fonction de différents taux de polypyrrole. Les matériaux hybrides synthétisés ont été caractérisés par différentes techniques physico-chimiques adéquates qui sont : la diffraction des rayons X (DRX), la spectroscopie infrarouge (IR), l'analyse thermique (ATG et ATD), la mesure de la surface spécifique (BET) et la microscopie électronique à balayage (MEB).

Enfin, nous terminons la rédaction du présent mémoire par une conclusion et quelques perspectives.

# *Chapitre I*

## *Synthèse bibliographique*

# Chapitre I

## Synthèse bibliographique

### I.1. LES BIOMATERIAUX

Le vieillissement régulier de la population, le refus de l'homme d'accepter la douleur ou l' handicap entraînent la croissance exponentielle des besoins en biomatériaux dans tous les domaines de la santé. En France, 3,2 millions de personnes sont porteuses d'un biomatériau (toutes sortes confondues) ; la préservation de l'intégrité corporelle et de l'autonomie des personnes est un enjeu majeur de notre société. Plusieurs axes de recherche se mettent au point pour concevoir et développer de nouveaux matériaux destinés à remplir des tâches, que le corps n'est plus capable d'assurer. Ces matériaux trouvent ainsi des applications aussi bien en chirurgie cardiaque (valves cardiaques, stents), en ophtalmologie (lentilles de contact) qu'en chirurgie orthopédique, maxillo-faciale ou dentaire (prothèses, comblement osseux, substitution) [4].

#### I.1.1. Définition générale des biomatériaux

Les biomatériaux ne se définissent pas par leur nature mais par l'usage auquel on les destine. Il est difficile de leur donner une définition totalement satisfaisante de part leur grande variété d'application. Néanmoins, la Conférence du Consensus, réunie à Chester à l'initiative de la Société Européenne des Biomateriaux en mars 1986, a proposée de définir un biomatériau comme « *un matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical et conçu pour interagir avec des systèmes biologiques* » [4].

#### I.1.2. Les différents types de biomatériaux

La nature (métaux, greffes d'origine biologique, céramique,...), les applications biomédicales (prothèses, revêtements prothétiques, comblement de défauts osseux,...) et les propriétés des biomatériaux (stabilité à long terme de l'implant, dégradation contrôlée,...) sont très diverses [5]. Il existe donc une grande diversité de biomatériaux que l'on peut classer en quatre grandes catégories suivant leur nature [6]:

##### 1. Biomateriaux métalliques

- Alliages métalliques (316L, TiAl6V4, CrCo3,...)
- Métaux purs (Au, Pt, Ti, Ta, W,...)
- Composés intermétalliques (Ag-Sn-Ag,...)

## 2. Biomatériaux polymères

- Elastomères (silicones, polyuréthane,...)
- Biorésorbables (acide polylactique et polyglycolique,...)

## 3. Biomatériaux naturels

- D'origine animale (allogreffes, xénogreffes,...)
- D'origine végétale (cellulose,...)

## 4. Biomatériaux céramiques

- Céramiques bioinertes (oxydes, carbures, carbone,...)
- Céramiques bioactives (hydroxyapatite, verres bioactifs, sels de calcium, vitrocéramiques...)

Historiquement les premiers biomatériaux sont apparus au XVI<sup>ème</sup> siècle. Il s'agissait de cuir bouilli, de bois, de métaux ou encore d'or ou de platine. Ensuite, au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle, les premières greffes naturelles sont tentées afin d'éviter une éventuelle amputation des membres. L'arrivée du pétrole permet le développement des polymères au début du XX<sup>ème</sup> siècle. Puis avec le développement des techniques d'élaboration de matériaux, les alliages et les céramiques entre autre apparaissent ces dernières années. La figure ci-dessous montre l'apparition de quelques biomatériaux au cours du temps.

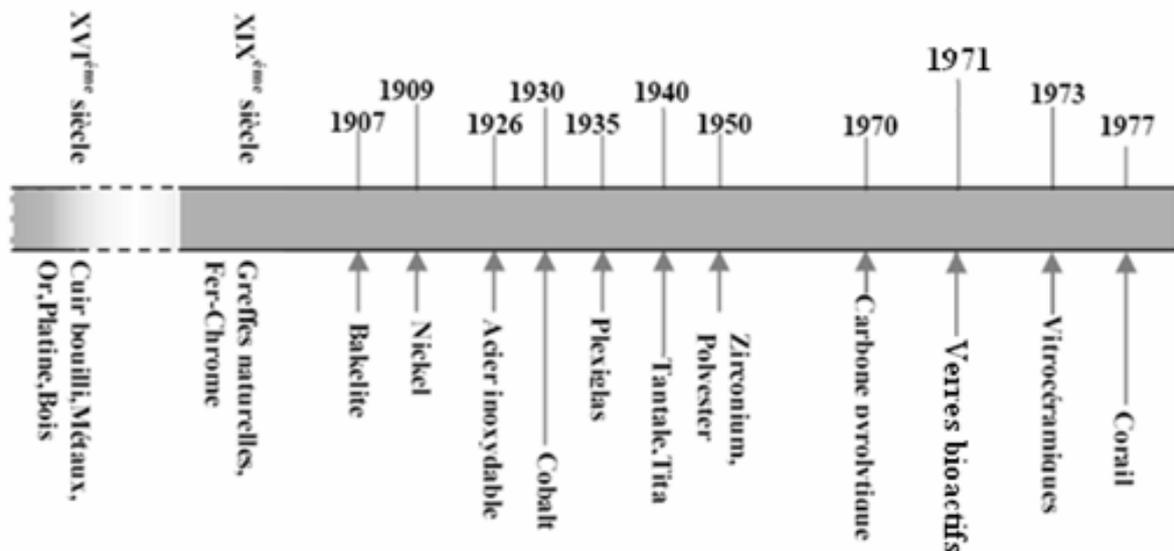


Figure I-1: Aperçu historique d'apparition des biomatériaux

Certains matériaux ont tenu une place de choix mais leurs limites sont rapidement apparues. Les prothèses métalliques entraînent des complications dues à l'intolérance des débris d'usure métallique. Les plastiques (polyéthylène,...), qui sont la base des surfaces de glissement des prothèses articulaires, tendent à se déformer. La durée de vie de l'implant est ainsi limitée. Les ciments de type méthacrylate, qui servent à fixer les prothèses, peuvent entraîner des relargages toxiques.

Les chirurgiens dentaire et orthopédique s'orientent depuis vers les matériaux d'origine synthétique, dont les plus performants sont les céramiques phosphocalciques et les verres bioactifs [6]. Ces biomatériaux sont principalement utilisés comme revêtement prothétique ou pour le comblement de pertes osseuses [7].

Les biomatériaux sont soit classés en fonction de leur nature ou en fonction de leurs propriétés, notamment leur bioactivité comme le montre la figure I-2 [6].

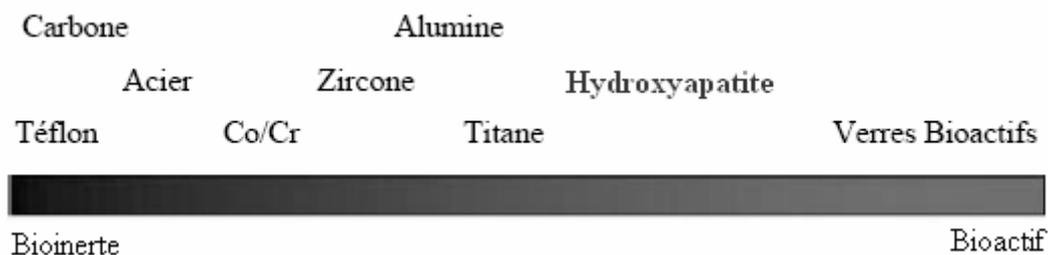


Figure I-2: Exemple de biomatériaux répertoriés en fonction de leur bioactivité

### I.1.3. Propriétés et classifications des biomatériaux

#### I.1.3.1. Biocompatibilité de comblement osseux

La biocompatibilité est la propriété essentielle que doit posséder tout matériau utilisé comme biomatériau de comblement osseux. La notion de biocompatibilité a longtemps été réduite à l'absence de processus de dégradation et de rejet du biomatériau implanté. Aujourd'hui, elle doit permettre d'apprécier la sûreté et l'efficacité à long terme d'un biomatériau. Une première proposition en 1987 définit la biocompatibilité comme "*la capacité d'un matériau à être utilisé avec une réponse appropriée de l'hôte dans une application spécifique*" [8]. Une définition plus complète est ensuite proposée en 1998 et définit la biocompatibilité comme "*L'ensemble des interrelations entre le matériau et le milieu environnant, et leurs conséquences biologiques locales ou générales, immédiates ou différées, réversibles ou définitives*" [9].

Ainsi, l'étude de la biocompatibilité d'un matériau consiste en la compréhension globale des mécanismes interactifs entre le matériau et le milieu biologique environnant. Biocompatible

signifie d'une part que le matériau n'est pas à l'origine de phénomènes locaux ou systémiques néfastes pour la santé du receveur et d'autre part que les tissus receveurs et les liquides interstitiels ne sont pas susceptibles d'altérer le matériau (sauf lorsque cela est souhaité) au détriment de ses propriétés mécaniques, de ses qualités intrinsèques générales ou au risque de générer des produits de dégradation ou de corrosion toxiques [4].

### **I.1.3.2. Classification des biomatériaux en fonction de l'interface formée avec les tissus**

L'intégration d'un matériau de comblement osseux peut être corrélée aux différents phénomènes qui se produisent à l'interface tissu osseux/implant. En effet, aucun matériau implanté dans un organisme vivant n'est totalement inerte: une réponse des tissus vivants est toujours observée [10]. Ainsi, en fonction des différentes réponses observées, Larry Hench a proposé une classification des substituts osseux en quatre catégories [11].

#### **I.1.3.2.1. Biomatériaux inertes**

La réponse tissulaire à un implant inerte ou biologiquement inactif, est la formation d'une capsule fibreuse non-adhérente. Aucune réaction inflammatoire n'est observée, mais aucune liaison ne se développe entre les tissus osseux et l'implant. L'épaisseur de cette couche fibreuse protectrice dépend du type de biomatériau inerte, du lieu d'implantation ou encore des contraintes mécaniques. La fixation observée est morphologique car la matrice osseuse s'accroche aux irrégularités de surface du matériau. Cependant, à long terme, l'interface tissu osseux/implant finit par se détériorer dans la plupart des cas et une intervention chirurgicale est nécessaire pour retirer l'implant (problème rencontré pour les prothèses de hanches par exemple).

#### **I.1.3.2.2. Biomatériaux poreux**

Les biomatériaux poreux interagissent avec les tissus osseux, par l'intermédiaire d'une fixation biologique. Des liaisons sont créées à l'interface tissu osseux/implant par colonisation des cellules osseuses et donc croissance de tissu osseux à l'intérieur des pores. Cependant, une fixation biologique correcte nécessite un diamètre de pores supérieur à 100  $\mu\text{m}$ . Les biomatériaux poreux présentent de ce fait des propriétés mécaniques plus faibles que les matériaux massifs, ce qui empêche leur utilisation dans les zones sous charge (soumises à de fortes contraintes mécaniques).

#### **I.1.3.2.3. Biomatériaux résorbables**

Les biomatériaux résorbables sont une solution alternative aux problèmes rencontrés lors des implantations à long terme en permettant la régénération des tissus osseux. En effet, ce type de biomatériau, une fois implanté, se dégrade suite aux activités enzymatiques, cellulaires ou encore bactériennes. Sa disparition s'effectue au profit d'un remplacement à

terme par les tissus osseux. Les produits de dégradation du matériau, évacués par voie rénale ou métabolisés, ne doivent présenter aucune toxicité. Néanmoins, il est nécessaire que la cinétique de résorption de ces matériaux soit proche de la cinétique d'ossification. Cette dernière condition est particulièrement difficile à remplir et nécessite une étude approfondie, préalable à leur implantation.

#### **I.1.3.2.4. Biomatériaux bioactifs**

Les matériaux bioactifs permettent quant à eux l'obtention d'une interface tissu osseux/implant stable, appelée fixation bioactive. Quand un matériau bioactif est implanté dans le corps, une série de réactions biophysiques et biochimiques s'opère à l'interface tissu osseux/implant. Ces réactions aboutissent à la formation de liaisons chimiques fortes entre l'implant et le tissu osseux [12]. L'hydroxyapatite, qui fait l'objet de ce travail, appartient à cette dernière catégorie de biomatériaux.

Tableau I-1 : Exemples de biomatériaux en fonction de l'interface tissu osseux/implant [13]

| Type de biomatériau | Exemples   |
|---------------------|--|
| Inerte              | Métaux et alliages, notamment à base de titane<br>Alumine, zircone (PSZ), polyethylene |
| Poreux              | Hydroxyapatite, carbonate de calcium   |
| Résorbable          | Phosphate tri-calcique, acide polylactique<br>Sulfate de calcium                       |
| Bioactif            | Verres bioactifs, hydroxyapatite   |

#### **I.1.3.3. Autres propriétés des biomatériaux**

En matière de tissu osseux, un biomatériau peut posséder également des propriétés d'ostéoconduction, d'ostéoinduction ou d'ostéoformation.

L'ostéoconduction est la propriété passive d'un matériau à recevoir la repousse osseuse, par invasion vasculaire et cellulaire à partir du tissu osseux receveur au contact de ce matériau. La fixation interfaciale s'effectue par la croissance du tissu dans les pores de l'implant poreux. Dans ce cas, le type d'attache est appelé fixation biologique.

L'ostéoinduction correspond à la capacité d'induire une différenciation cellulaire pour synthétiser une matrice osseuse minéralisable.

L'ostéof ormation correspond à la formation de la matrice osseuse par des cellules ostéof ormatri ces que sont les ostéoblastes (cellule qui fabrique du collagène et forme autour d'elle une matrice qui se calcifie ensuite) [6].

## I.2. Le tissu osseux

Le tissu osseux naturel est assimilable à un matériau composite constitué de fibres organiques (le collagène) inscrites dans une matrice minérale qui a été identifiée comme étant un phosphate de calcium apatitique poly-substitué [14]. La répartition massique des deux phases dans le tissu est variable suivant la partie du corps considérée et a ainsi amené à distinguer deux types de tissus osseux : l'os et la dent. Une autre particularité des tissus osseux réside dans leur aptitude à constamment évoluer au cours de leur existence afin de s'adapter le mieux possible aux contraintes auxquelles ils sont soumis (mécaniques ou autres). Ce phénomène, engendré par l'activité cellulaire, est appelé « remodelage osseux ».

### I.2.1. L'os naturel

La composition massique moyenne de l'os naturel est la suivante : 60% de phase minérale, 15% de phase organique et 25% d'eau. La résistance et la légèreté de l'os s'expliquent par son architecture associant deux types de macrostructures osseuses.

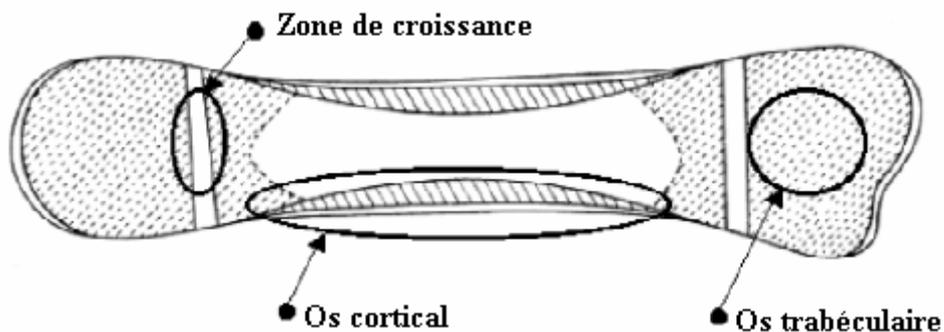


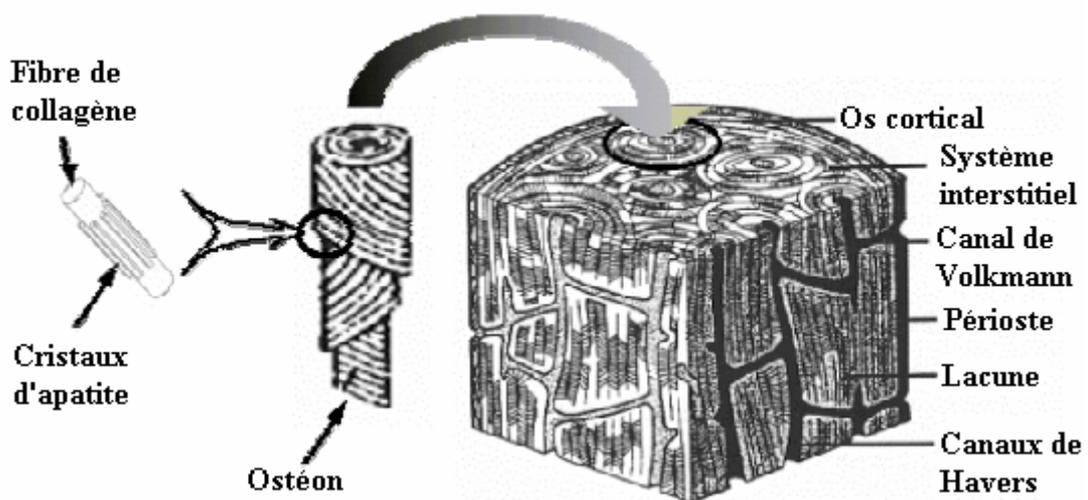
Figure I-3 : Coupe longitudinale schématique d'un os long [15].

La résistance aux contraintes mécaniques est assurée par un os dense, appelé os cortical, localisé en surface du tissu (Figure I-3).

**Tableau I-2** : Propriétés mécaniques de l'os cortical, de l'os trabéculaire, de la dentine et de l'émail dentaire.

|                 | Résistance à la rupture (MPa) |         |          | Module d'élasticité (MPa) |              |           |
|-----------------|-------------------------------|---------|----------|---------------------------|--------------|-----------|
|                 | Compression                   | Tension | Flexion  | Référence                 | Compression  | Référence |
| Os cortical     | 167                           | 122     | 168 ± 11 | (16)                      | 15450        | (20)      |
| Os trabéculaire | 9,1 ± 1,3                     |         |          | (17)                      | 84 ± 14      | (17)      |
| Dentine         | 297                           |         |          | (18)                      | 17500 ± 1500 | (18)      |
| Email           | 382 ± 4                       |         |          | (19)                      | 81000 ± 3000 | (19)      |

Sa microstructure peut être décrite comme un empilement lamellaire compact d'« unités de construction » appelées ostéons (Figure I-4).



**Figure I-4** : Localisation des ostéons dans l'os cortical

L'ostéon est un canal neurovasculaire dont la paroi est formée de plusieurs couches concentriques de fibres de collagènes sur lesquelles se développent les cristaux d'apatites. Les différentes couches ont une épaisseur comprise entre 3 et 7  $\mu\text{m}$  [21]. L'os cortical représente environ 80% de la masse osseuse chez l'adulte, mais, de par sa structure dense et compacte, il n'intervient que très peu dans les échanges métaboliques. Cette deuxième fonction du tissu osseux est assurée par l'os trabéculaire (Figure I-4). Ce dernier occupe la part la plus

volumineuse du tissu mais ne représente que 20% de sa masse. Sa structure macroporeuse tridimensionnelle offre une surface d'échange métabolique importante [22].

### I.2.2. La dent

Les dents ont une même structure de base. Outre la pulpe dentaire qui est un tissu mou très innervé et vascularisé, la dent se compose de deux tissus osseux distincts : la dentine et l'émail (Figure I-5).

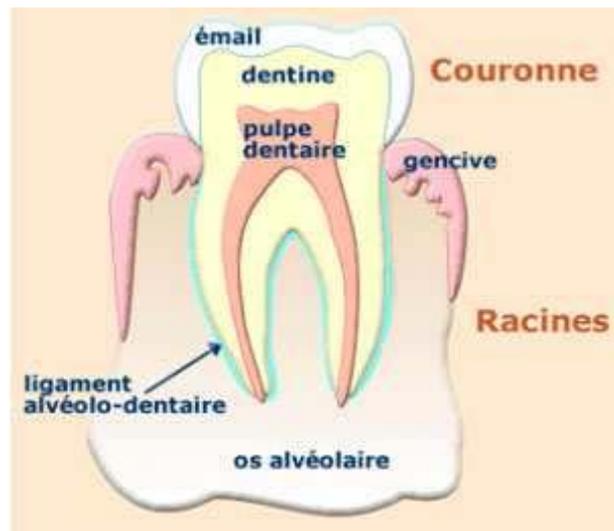


Figure I-5 : Coupe transversale schématique d'une molaire

La dentine (ou ivoire) recouvre et protège la pulpe dentaire. Elle se compose en masse de 75% de phase minérale, de 20% de phase organique et de 5% d'eau. C'est le deuxième tissu le plus dur de l'organisme. C'est un tissu mécaniquement isotrope ; son module d'élasticité est comparable à celui de l'os cortical et sa résistance en compression légèrement supérieure (Tableau I-2).

L'émail dentaire recouvre la dentine au niveau de la couronne. C'est un tissu osseux quasiment minéral. Il ne contient que 0,5 % en masse de phase organique et 2% d'eau. Il est le tissu le plus dur de l'organisme avec un module d'élasticité et une contrainte à rupture supérieurs à ceux de la dentine.

La microstructure de l'émail dentaire correspond à l'empilement compact de "colonnes" de 3 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre sur 50 à 150  $\mu\text{m}$  de hauteur constituées de cristallites lamellaires d'apatites. Contrairement à tous les autres tissus osseux, l'émail ne contient pas de collagène et ne se régénère pas une fois endommagé [22].

### I.2.3. Le remodelage osseux

Durant la vie, le tissu osseux subit un remodelage continu. La finalité de ce remodelage est, d'une part, d'assurer la réparation d'infimes dégâts du squelette et, d'autre part, de contrôler le taux de calcium relargué dans l'organisme par échange métabolique. Le remodelage est dû à l'action couplée de deux cellules osseuses distinctes : les ostéoclastes et les ostéoblastes ; les premières résorbent le tissu et les secondes le reforment. La figure 6 présente une suite chronologique de schémas retraçant le principe d'action des cellules mises en jeu lors de la résorption et le remplacement d'une unité de remodelage.

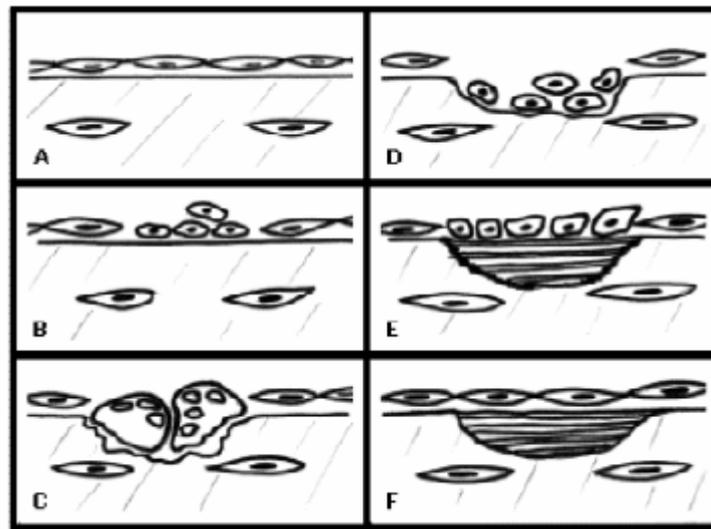


Figure I-6 : Principe d'action des cellules osseuses [21].

Au « repos », la surface de l'os est recouverte de cellules dites bordantes de forme allongées et très fines (A) (Figure I-6). Au cours de la phase d'activation (B), des cellules mononucléées, percent le lit de cellules bordantes et se groupent sur une surface minéralisée du tissu. La phase de résorption (C) est caractérisée par l'excavation d'un petit volume de tissu osseux par les ostéoclastes nés de la fusion des cellules mononucléées. Les ostéoclastes sont des cellules polynucléées qui, en libérant des protons, résorbent le tissu minéralisé par dissolution. Après résorption, des cellules mononucléées préparent la surface de la lacune (D) à l'arrivée des ostéoblastes (cellules mononucléées d'environ 30  $\mu\text{m}$  de diamètre). Ces dernières engendrent la formation d'un jeune tissu minéralisé (E). Le processus se poursuit alors jusqu'à ce que l'os jeune ait entièrement comblé la lacune (F).

### I.2.4. Composition chimique et structure de la phase minérale du tissu osseux

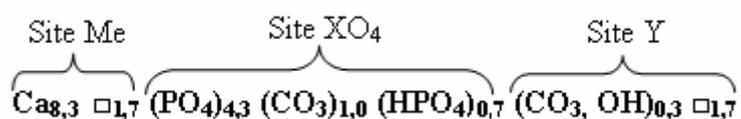
Le tableau I-3 présente les compositions chimiques élémentaires des phases minérales correspondant aux trois tissus osseux présentés précédemment.

Tableau I-3 : Composition chimique (en pourcentages massiques) des phases minérales de l'émail, de la dentine et de l'os [23].

| Élément              | Os   | Dentine | Email |
|----------------------|------|---------|-------|
| Ca                   | 36,6 | 40,3    | 37,6  |
| P                    | 17,1 | 18,6    | 18,3  |
| CO <sub>2</sub>      | 4,8  | 4,8     | 3,0   |
| Na                   | 1,0  | 0,1     | 0,7   |
| K                    | 0,07 | 0,07    | 0,05  |
| Mg                   | 0,6  | 1,1     | 0,2   |
| Sr                   | 0,05 | 0,04    | 0,03  |
| Cl                   | 0,1  | 0,27    | 0,4   |
| F                    | 0,1  | 0,07    | 0,01  |
| Rapport molaire Ca/P | 1,65 | 1,67    | 1,59  |

Les données présentées dans le tableau I-3 montrent les nombreux minéraux que contiennent les phases minérales des tissus osseux. Les quatre éléments qui y sont prépondérants sont le calcium, le phosphore (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), le carbone (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) et l'oxygène (O<sup>2-</sup>, OH<sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Les teneurs en sodium, magnésium et chlore varient de manière importante suivant le tissu considéré. Les autres éléments, tels que le fluor, le strontium et le potassium, font office de traces.

Legros, par des analyses structurales et chimiques de la phase minérale de l'os périostique animal (comparable à l'os cortical) a pu décrire ce dernier par le modèle suivant [15,24]:



Cette formule correspond à celle d'une apatite phosphocalcique poly-substituée dans laquelle le calcium s'inscrit dans les sites Me de la structure. La non stœchiométrie, illustrée par la présence de lacunes (notées  $\square_x$ ) sur les sites Me et Y, est engendrée par la poly

substitution des sites  $XO_4$  par des espèces de valences différentes. En effet, ces sites sont occupés à plus de 70% (molaire) par des ions phosphate trivalents ; les 30% restant étant comblés soit par des ions carbonate, soit par des ions hydrogénophosphate, tous deux bivalents. Les sites Y sont également principalement occupés par deux ions de valences différentes : carbonate et hydroxyde.

Cependant, comme le mettent en évidence les données présentées ci-dessus (Tableau I-3), chaque tissu possède sa propre composition chimique et cette dernière peut évoluer au sein d'un même tissu. Il a également été montré que les différents teneurs ioniques au sein des tissus osseux évoluent avec l'âge du sujet [15]. Dès lors, les hétérogénéités microstructurales et chimiques dont font preuve les phases minérales des tissus osseux rendent leur modélisation, et à fortiori, leur synthèse exacte utopique.

Par ailleurs, les possibilités de reconstruction osseuse chez l'homme sont limitées et les pertes de tissu, qu'elles soient naturelles ou conséquence d'une thérapie curatrice, soulèvent le problème de leur comblement. La chirurgie orthopédique recourt alors à la greffe osseuse. Toutefois, les difficultés et les complications de prélèvement liées aux greffes autologues d'une part, et les risques potentiels de transmissions virales soulevés par les allogreffes et xéno-greffes d'autre part, ont amené à envisager l'implantation de substituts osseux synthétiques. L'exemple le plus fréquent ces dernières années est l'hydroxyapatite de formule  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ .

### **I.3. Les phosphates de calcium**

Les phosphates de calcium constituent la phase minérale majeure des tissus durs des vertébrés. Dès 1926, De Jong [25], en utilisant la diffraction des rayons X, a montré l'analogie du minéral osseux avec les minéraux de phosphate de calcium possédant une structure apatitique.

Pendant plus de vingt ans, les phosphates de calcium de synthèse, choisis parmi les biomatériaux existants, ont fait l'objet de plusieurs travaux fondamentaux qui ont débouché sur des applications biologiques et cliniques [26-30]. Ils sont parmi les plus utilisés en chirurgie osseuse ou dentaire lorsque des apports de matériaux de comblement sont nécessaires [31-40].

En effet, leurs compositions chimiques sont proches de celles du tissu dur des os et des dents, leurs propriétés de biocompatibilité et de bioactivité les rendent utilisables comme substitut osseux permettant un comblement lors de défaut et une libération de principe actif [41].

Les propriétés de dissolution de ces phosphates de calcium dépendent de leurs caractéristiques physico - chimiques, en particulier le rapport molaire Ca/P [42], de la structure cristallographique et de la surface spécifique. Ainsi, en fonction du rapport molaire Ca/P, nous pouvons définir plusieurs familles d'orthophosphate de calcium.

Tableau I-4 : Différents phosphates de calcium [23].

| Symbole     | Nom                                 | Formule  | Ca/P |
|-------------|-------------------------------------|--|------|
| TTCP        | Phosphate tétracalcique             | $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}_2$                     | 2,00 |
| HAP         | Hydroxyapatite                      | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$               | 1,67 |
| $\beta$ TCP | Phosphate tricalcique anhydre       | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$                               | 1,50 |
| OCP         | Phosphate octocalcique              | $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6,5\text{H}_2\text{O}$ | 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 monocalcique anhydre      | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$                       | 0,50 |

### I.3.1. Les phosphates de calcium apatitiques

Parmi ces phosphates de calcium, les apatites constituent une famille de composés ioniques décrite par la formule chimique  $\text{Me}_{10}(\text{XO}_4)_6(\text{Y})_2$  dans laquelle Me est un métal bivalent ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ...),  $\text{XO}_4$  un anion trivalent ( $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{AsO}_4^{3-}$ ,  $\text{VO}_4^{3-}$  ...) et Y un anion monovalent ( $\text{F}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{OH}^-$  ...). Les apatites cristallisent généralement dans le système hexagonal [43,44]. Une particularité de cette structure réside dans sa capacité à former des solutions solides et à accepter un grand nombre de substituants anioniques et cationiques [45-48].

Ainsi, les cations bivalents ( $\text{Me}^{2+}$ ) peuvent être remplacés par d'autres cations bivalents, mais également par des cations monovalents ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) ou trivalents ( $\text{La}^{3+}$ ,  $\text{Eu}^{3+}$ ,  $\text{Ga}^{3+}$  ...) [49-51].

Les anions  $\text{XO}_4^{3-}$  peuvent également être substitués par des anions bivalents ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$  ...) ou tétravalents ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) [47, 48,52].

Enfin, les groupements  $\text{Y}^-$ , peuvent aussi être substitués par des ions bivalents ( $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{O}^{2-}$ ,  $\text{S}^{2-}$  ...) et / ou par des lacunes [52,53]. Les mécanismes de compensation de charges mis en

jeu lorsque des ions de valences différentes coexistent sur un même site, impliquent des modifications structurales et la création de lacunes cationiques (sites Me) et / ou anioniques (sites Y). Aucune apatite possédant des lacunes sur les sites  $XO_4$  n'a cependant été observée.

### **I.3.2. Substitutions dans la structure apatitique**

La capacité de la structure apatitique à accueillir un grand nombre d'ions différents dans chaque site de son réseau permet d'envisager des matériaux pour de nombreuses applications dans des domaines variés, de la médecine au nucléaire, en passant par la biologie et la géologie. Si l'on considère l'hydroxyapatite phosphocalcique, chaque groupement ionique peut être remplacé en substitution par un autre groupement ionique de même valence ou de valence différente. Les sites hydroxyde (OH) et phosphate ( $PO_4$ ) de l'hydroxyapatite sont notés respectivement sites A et B. Les exemples de substitutions présentés dans le tableau I-5 sont en rapport avec les éléments présents dans la phase minérale de l'os. L'introduction de tels ions est donc susceptible d'influencer la réponse biologique du matériau.

Tableau I-5: Exemples de substitutions dans la structure apatitique

| Substitutions                               | Formules chimiques théoriques   | Notations     |
|---|---|---------------|
| <b>Site Ca<sup>2+</sup></b>                 |   |               |
| Mg <sup>2+</sup>                            | Ca <sub>10-x</sub> Mg <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>  | Mg-HA         |
| Zn <sup>2+</sup>                            | Ca <sub>10-x</sub> Zn <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>  | Zn-HA         |
| Sr <sup>2+</sup>                            | Ca <sub>10-x</sub> Sr <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>  | Sr-HA         |
| Ag <sup>+</sup>                             | Ca <sub>10-x</sub> Ag <sub>x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-x</sub>  | Ag-HA         |
| <b>Site B (PO<sub>4</sub>)<sup>3-</sup></b> |   |               |
| CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>               | Ca <sub>10-x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>  | C-HA type B   |
| SiO <sub>4</sub> <sup>4-</sup>              | Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (SiO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>   | Si-HA         |
| HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>              | Ca <sub>10-x</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (HPO <sub>4</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x</sub>   |               |
| <b>Site A (OH<sup>-</sup>)</b>              |   |               |
| F <sup>-</sup>                              | Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-2x</sub> F <sub>2x</sub>   | F-HA          |
| Cl <sup>-</sup>                             | Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-2x</sub> Cl <sub>2x</sub>  | Cl-HA         |
| CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>               | Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2-2x</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub>   | C-HA type A   |
| <b>Mixte AB</b>                             | Ca <sub>10-x+u</sub> □ <sub>x-u</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6-x</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>x</sub> (OH) <sub>2-x+2u-2y</sub> (CO <sub>3</sub> ) <sub>y</sub> □ <sub>x-2u+y</sub> | C-HA type A/B |

D'une manière générale, l'introduction de nouveaux groupements ioniques dans la structure apatitique engendre une baisse de la cristallinité, une diminution de la stabilité thermique et une augmentation de la solubilité. Les apatites présentées ci-après ne dérogent pas à cette règle, sauf dans le cas où les ions fluor (F<sup>-</sup>) viennent substituer les ions hydroxyde (OH<sup>-</sup>). En effet, cette substitution tend à réduire la solubilité du matériau [54].

### I.3.3. L'hydroxyapatite (HAP)

Étant le composé minérale majoritaire des os et structurellement similaire à l'os ; l'HAP est la prospective des biomatériaux inorganiques pour la régénération osseuse. Les céramiques d'HAP sont hautement biocompatibles avec le tissu osseux et possèdent un haut potentiel ostéogénique [55].

L'hydroxyapatite phosphocalcique (HAP) de formule  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  appartient à la famille des apatites ainsi qu'à celle des phosphates de calcium, son rapport atomique théorique est 10/6 soit environ 1,67 et sa densité théorique est de 3,156. Étant le principal constituant inorganique des os et des dents, l'HAP a largement été étudiée durant ces dernières décennies [56].

### I.3.3.1. Structure cristallographique de l'hydroxyapatite stœchiométrique

L'hydroxyapatite phosphocalcique appartient à la famille cristallographique des composés isomorphes possédant tous la structure apatitique (hexagonale).

L'HAP cristallise dans le système hexagonal (groupe spatial =  $\text{P6}_3/\text{m}$ ) avec les paramètres cristallographiques suivants :  $a = 9,418 \text{ \AA}$ ,  $c = 6,881 \text{ \AA}$ ,  $\beta = 120^\circ$ . La maille cristalline contient un motif  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . Sa structure peut être décrite en considérant un empilement hexagonal de groupements  $\text{PO}_4^{3-}$  qui laisse apparaître deux types de tunnels, parallèles à l'axe  $c$  (Figure 7). Le premier coïncide avec l'axe ternaire de la structure. Ces tunnels sont occupés par des ions calcium notés Ca(I). Le second type de tunnel, dont l'axe coïncide avec l'axe sénaire hélicoïdal du réseau, est bordé par des atomes d'oxygène et les autres ions calcium, notés Ca(II), et est occupé par les ions  $\text{OH}^-$ . La taille de ce type de tunnel ( $3 \text{ \AA}$  pour l'HAP) confère aux apatites des propriétés d'échangeurs d'ions et d'accepteurs de petites molécules ( $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , glycine) [59].

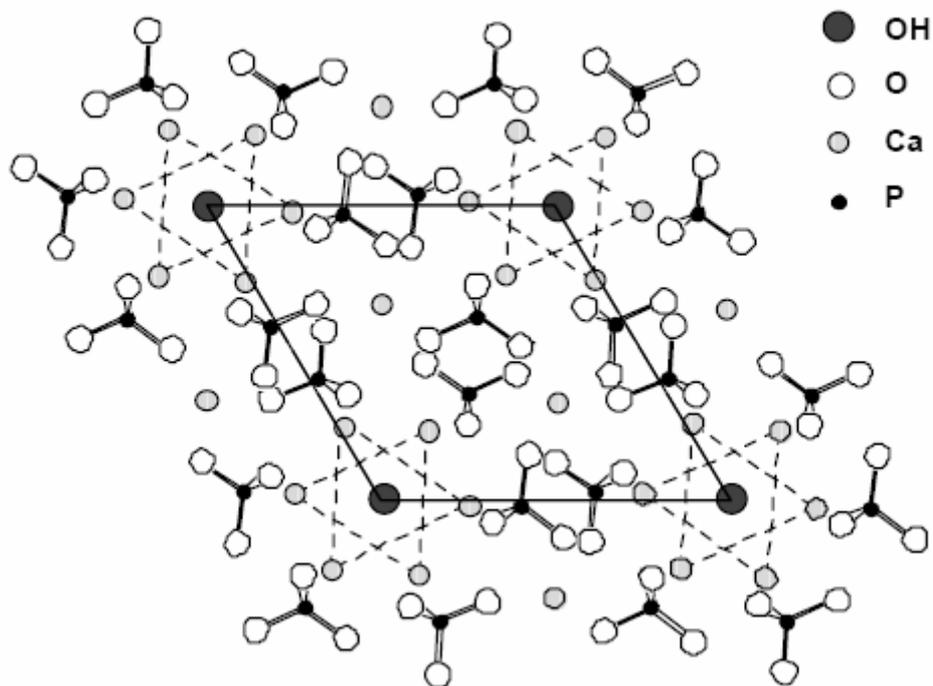


Figure I-7: Projection sur le plan de base (001) de la maille de l'HAP selon Young (Young 1973)

### **I.3.3.2. Applications de l'hydroxyapatite**

En raison de ses propriétés de bioactivité et de biocompatibilité, l'HAP est largement utilisé dans le domaine médical et dentaire [58-63].

L'HAP synthétique est également utilisé couramment comme phase stationnaire dans les colonnes chromatographiques pour la séparation de diverses molécules telles que la vitamine D<sub>3</sub> et ses composés dérivés [64] et les protéines dont l'adsorption sur l'HAP met en jeu des interactions entre, d'un côté, les résidus carboxyliques et les résidus basiques à la surface des protéines avec, de l'autre côté, respectivement les ions Ca<sup>2+</sup> et les ions PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> de l'hydroxyapatite [65-67].

Dans le domaine de la catalyse hétérogène, l'HAP joue aussi un rôle important comme support catalytique en synthèse organique [68-70] ou en catalyse asymétrique pour l'obtention de composés énantiomères purs [71]. Elle est également utilisée comme catalyseur dans l'industrie des polymères pour la déshydrogénation et la déshydratation des alcools primaires, ainsi que dans l'industrie des sucres [72].

### **I.3.3.3. Méthodes de synthèse de l'hydroxyapatite**

Ces dernières années, l'hydroxyapatite synthétique a acquis un très grand intérêt en raison de sa composition chimique similaire au minéral naturel phosphate de calcium présent dans un tissu biologique dur.

Considérons les nombreuses applications des phosphates de calcium dans le domaine biomédical ; plusieurs techniques de synthèse d'hydroxyapatite ont été développées [73]. Les deux principales voies pour la préparation de la poudre d'hydroxyapatite sont la voie humide et la voie sèche [74].

#### **I.3.3.3.1 Synthèse par voie humide**

La synthèse chimique par voie humide est la méthode la plus utilisée. Cependant cette méthode a quelques inconvénients, principalement la difficulté de maintenir le pH au dessus de 9 pour éviter la formation d'hydroxyapatite déficiente en calcium qui se décompose facilement en phosphate tricalcique lors du frittage [73]. La méthode de synthèse par voie humide fait appel à la précipitation à partir de solutions aqueuses ou à l'hydrolyse d'un phosphate de calcium. Généralement elle permet d'obtenir de fines particules (poudre) d'HAP de grande surface spécifique. Cependant, les hydroxyapatites obtenues par ce processus de synthèse ne sont pas toujours stœchiométriques et ont une basse cristallinité dont le degré dépend d'ailleurs de plusieurs paramètres tels que le pH, la température et le temps de vieillissement des solutions ainsi que la nature et la concentration des réactifs mis en jeu [75].

### 1) Méthode sol-gel

Le procédé sol-gel est une méthode élective pour la préparation de poudres très pures grâce à la possibilité d'un contrôle strict des paramètres du process. Cette méthode offre un mélange moléculaire du calcium et du phosphore qui est capable d'améliorer l'homogénéité chimique.

Le produit dérivant du procédé sol-gel est caractérisé par une nano taille des particules primaires ceci est un paramètre très important pour améliorer le contact et la stabilité à l'interface os artificiel /os naturel. En outre la forte réactivité de la poudre résultant du procédé sol-gel permet une réduction de la température du procès et de tous phénomènes de dégradation se produisant lors du frittage.

Les facteurs majeurs limitant le procédé sol-gel sont liés à l'hydrolyse des phosphates et au coût élevé des précurseurs [73].

Le procédé sol - gel est basé sur la polymérisation de précurseurs organométalliques de type alcoxydes  $M(OR)_n$ . Après une hydrolyse contrôlée de cet alcoxyde en solution, la condensation des monomères conduit à des ponts oxo puis à un oxyde organique. La polymérisation progressive de ces précurseurs forme des oligomères puis des polymères en augmentant ainsi la viscosité. Ces solutions polymériques conduisent à des gels qui permettent une mise en forme aisée des matériaux (films denses et transparents, poudres ultra-fines, céramiques, ...) avec de nombreuses applications technologiques [76-78].

Le mécanisme réactionnel du procédé sol-gel se décompose en deux étapes [79,80]:

- L'hydrolyse qui correspond à la réaction d'activation.
- La condensation - polymérisation qui est l'étape de croissance des chaînes.

Afin d'obtenir une vitesse de réaction appropriée, on ajoute à la formulation un catalyseur ou, au contraire, un inhibiteur de réaction.

#### a) L'hydrolyse

Il s'agit d'une réaction entre une molécule d'eau et un alcoxyde, permettant l'apparition d'une molécule d'alcool. Pour que les alcoxydes puissent condenser à température ambiante, l'hydrolyse des groupes OR s'effectue par un processus réactionnel équilibré, en condition neutre (Figure I-8).

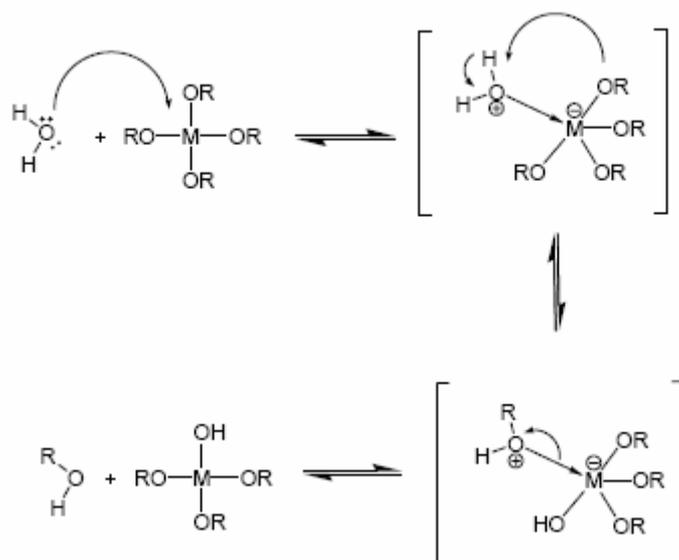


Figure I-8: Mécanisme d'hydrolyse des alcoxydes métalliques  $M(OR)_n$  en milieu neutre sans catalyseur.

La réaction d'hydrolyse est facilitée par l'ajout d'un catalyseur, acide ou basique, de nature organique ou inorganique (Figure I-9).

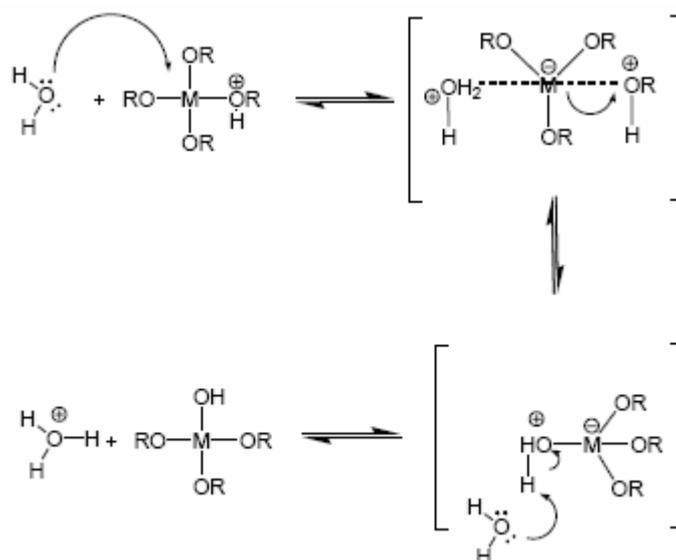


Figure I-9: Mécanisme d'hydrolyse par catalyse acide des alcoxydes métalliques

Pour les catalyses basiques [81,82], l'ion hydroxyde remplace l'eau comme agent nucléophile car il est bien plus réactif, la première étape se retrouve accélérée (Figure I-10).

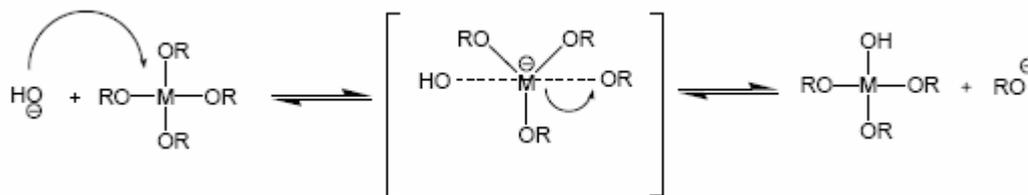


Figure I-10: Mécanisme d'hydrolyse par catalyse basique des alcoxydes métalliques  $M(OR)_n$

Dans le cas des catalyses acides, l'intermédiaire réactionnel étant chargé positivement, plus les groupes alcoxydes sont remplacés par des groupes hydroxydes, moins l'intermédiaire réactionnel devient stable et plus la vitesse de la réaction d'hydrolyse diminue. Au contraire pour les catalyses basiques, l'intermédiaire réactionnel étant chargé négativement, plus il y a de groupements hydroxydes, plus l'intermédiaire réactionnel est stable et plus les réactions d'hydrolyse successives seront rapides.

### b) La condensation

Une condition à la condensation est généralement l'hydrolyse au moins partielle des précurseurs [83]. Cette hydrolyse génère un groupe hydroxyle bien meilleur nucléophile que le groupe alcoxyde. Il s'ensuit que le groupe hydroxyle réagit par substitution nucléophile avec un mécanisme analogue à l'hydrolyse. Il va se former un pont « métalloxane » (M-O-M) avec une augmentation provisoire de la coordinence du métal. Deux mécanismes entrent en concurrence: l'alcoxolation et l'oxolation.

#### 1) L'alcoxolation

Cette réaction se produit entre deux alcoxydes métalliques dont l'un seulement a été partiellement hydrolysé. Cette réaction est favorisée lorsque le rapport molaire  $H_2O$ /alcoxyde de la formulation de départ est inférieur à l'unité. Son mécanisme réactionnel est semblable à celui d'hydrolyse.

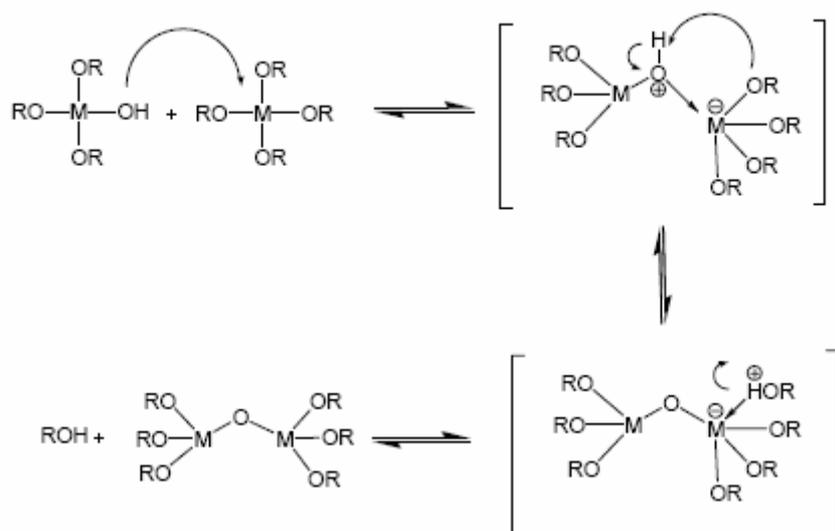


Figure I-11: Mécanisme d'alcoxolation des alcoxydes métalliques  $M(OR)_n$

## 2) L'oxolation

Ce mécanisme se produit entre deux alcoxydes partiellement hydrolysés. Le mécanisme reste le même, si ce n'est que le groupe partant est une molécule d'eau.

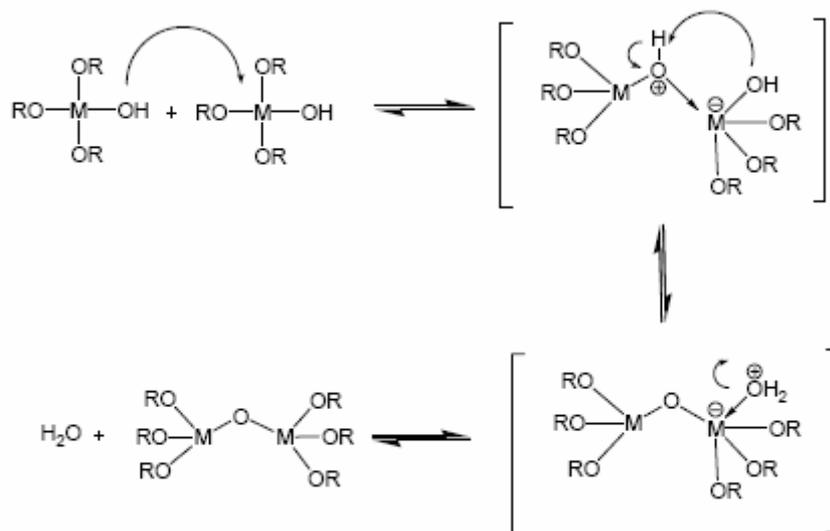


Figure I-12: Mécanisme d'oxolation des alcoxydes métalliques  $M(OR)_n$

Les groupes  $-OH$  générés au cours de l'hydrolyse sont de bons nucléophiles et vont au cours de la condensation, entraîner la création des ponts métaloxane  $M-O-M$  : Tout comme l'hydrolyse, la condensation modifie la sphère de coordination du métal, mais n'augmente cependant pas sa coordinance. Ces mécanismes dépendent naturellement de la concentration en catalyseur et des contraintes stériques inhérentes à la nature de l'alcoxyde.

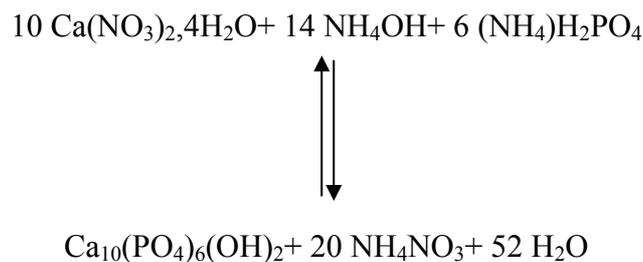
Lorsque ces deux réactions sont achevées, on obtient un gel. La transformation de la solution en un amas polymérique solide est alors généralement appelée la transition sol-gel.

## 2) Synthèse par précipitation

La précipitation est la technique de synthèse de Ca-HA la plus utilisée, certainement grâce aux faibles coûts engendrés. Il existe deux approches de synthèse: la précipitation par double décomposition et la méthode de précipitation par neutralisation de l'acide orthophosphorique [84].

### a) Synthèse par double décomposition

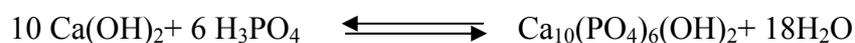
Une solution de sel de phosphates [85, 86] est ajoutée à une solution de sel de calcium. Le pH et la température sont régulés. Jarcho et al. [87] ont utilisé du nitrate de calcium  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , du dihydrogénophosphate d'ammonium ( $\text{NH}_4 \text{H}_2 \text{PO}_4$ ) et de l'ammoniaque concentré pour porter le pH des solutions initiales entre 11 et 12. Dans ce cas, l'équation de la réaction de précipitation est :



Le mélange réactionnel peut être porté à ébullition afin d'éliminer par évaporation le nitrate d'ammonium formé.

### b) Synthèse par neutralisation de l'acide orthophosphorique

Il s'agit d'une méthode de neutralisation de l'acide orthophosphorique par l'hydroxyde de calcium (chaux éteinte) selon la réaction :



L'hydroxyde de calcium est peu soluble dans l'eau, la spéciation de l'acide orthophosphorique montre qu'il dépend du pH. La précipitation dépend de la dissolution de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , de la diffusion des ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{OH}^-$  ainsi que de l'hydrolyse de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  : ceci rend donc complexe le contrôle de la réaction afin d'obtenir des poudres de caractéristiques désirées [88, 89].

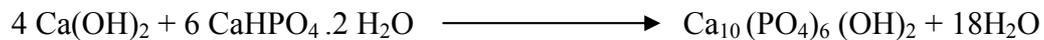
Cependant, cette méthode reste intéressante en vue d'une application industrielle car l'unique sous-produit est l'eau.

Osaka et al. [90] ont utilisé cette méthode afin d'étudier l'effet de la température de réaction, du rapport atomique initial Ca/P, de la vitesse d'ajout des réactifs sur les propriétés des poudres obtenues. Une addition trop rapide de l'acide dans la solution de calcium entraîne la formation d'un précipité déficient en calcium qui se révèle, après traitement thermique, un précurseur du TCP.

### 3) Synthèse hydrothermale

La méthode hydrothermale permet de préparer des cristaux bien cristallisés, homogènes en forme et en taille et une composition contrôlée et non agglomérés et qui peut être achevée à basse température. La méthode hydrothermale fut d'abord utilisée pour la formation d'HAP directement à partir des coraux qui est un carbonate de calcium naturel à structure aragonite par Della Roy [75].

Le protocole de synthèse hydrothermale fait appel à des pressions supérieures à la pression atmosphérique permettant ainsi une élévation de la température du mélange réactionnel au-dessous de 100°C en conservant l'eau à l'état liquide. Ce procédé est utilisé afin de produire de fines poudres homogènes. Les réactifs de synthèse utilisés sont variables, Jingbing et coll. [91] utilisent par exemple de la chaux éteinte et de l'hydrogénophosphate de calcium selon la réaction :

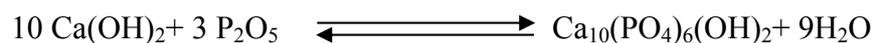


L'utilisation de hautes pressions et de températures élevées entraîne un coût considérable et semble par conséquent peu appropriée pour une application industrielle.

#### I.3.3.3.2 Synthèse par voie sèche

La méthode par voie sèche a le grand avantage d'obtenir une composition stœchiométrique (Ca/P = 1,67) en comparaison avec la méthode par voie humide [75].

Il s'agit d'une réaction entre des composés solides pouvant être réalisée à haute température ou encore par broyage [92]. Il existe différents protocoles employant par exemple les couples de réactifs  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}/\text{Ca(OH)}_2$ , ou  $\text{CaHPO}_4/\text{Ca(OH)}_2$  ou encore  $\text{Ca(OH)}_2/\text{P}_2\text{O}_5$ . Dans le cas du dernier couple, la réaction s'écrit :



Ces méthodes permettent d'obtenir des produits de grande pureté, cependant, le coût énergétique reste élevé et ce mode de synthèse ne peut être actuellement envisagé que dans le cas d'une production de produits à haute valeur ajoutée tels que les biomatériaux utilisés pour les prothèses.

#### I.3.3.4. Propriétés de l'hydroxyapatite

La composition de la poudre d'HAP dépend fortement de la température et du temps de frittage. Après synthèse de la poudre d'hydroxyapatite par voie sol-gel à partir du système  $P_2O_5$  et  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  Fathi et col [93] ont varié le temps de frittage de 1h jusqu'à 6h pour les températures de frittage  $600^\circ C$  et  $700^\circ C$ . Ils ont remarqué que le degré de cristallinité de la poudre d'HAP et la taille des particules augmentent quand la température de frittage augmente de  $600^\circ C$  à  $700^\circ C$  et que le frittage à  $700^\circ C$  provoque la décomposition de l'HAP en  $\beta$  TCP et CaO selon la réaction :



En étudiant l'influence du rapport molaire Ca/P sur les propriétés structurales et morphologiques des gels et des nano cristaux d'HAP; A.BIGI et col [94] ont abouti aux résultats suivants :

- a) Le degré de cristallinité de la poudre dont son rapport molaire Ca/P=1 apparait inférieur à ceux des poudres dont Ca/P=1,67 et 2,55.
- b) Le traitement thermique à des températures supérieures à  $300^\circ C$  provoque la formation de phases secondaires comme le pyrophosphate de calcium et le carbonates de calcium pour les gels dont Ca/P= 1 et 2,55.
- c) L'HAP est la seule phase cristalline obtenue après traitement thermique à  $300^\circ C$  quelque soit le rapport molaire Ca/P, la température de séchage et le milieu de précipitation.
- d) Le traitement thermique à  $500^\circ C$  est suffisant pour provoquer des phases secondaires qui sont le pyrophosphate de calcium pour les gels dont Ca/P=1, le pyrophosphate de calcium et la calcite pour les gels dont Ca/P=2,55.
- e) Le milieu de précipitation affecte peu les propriétés structurales des produits tandis que le rôle principal est joué par le rapport molaire Ca/P.
- f) La morphologie des poudres est fortement liée au rapport molaire Ca/P car pour des Ca/P=1, la poudre est constituée de cristaux de 20-40nm de longueur et une largeur <10nm par contre pour des Ca/P=1,67 les particules sont rondes.

Dans le but d'étudier les caractéristiques de dissolution de différentes hydroxyapatites déficientes en calcium synthétisées par précipitation par variation des paramètres de synthèse tels que : température, pH, temps de digestion, vitesse d'addition des réactifs et leur concentration. E.Mavropoulos et collaborateurs [95] ont tiré les conclusions suivantes :

- a) Le comportement de dissolution des HAP déficientes en calcium dépend fortement du rapport molaire Ca/P car leur dissolution est activée en diminuant le rapport molaire Ca/P ; cependant l'équilibre de dissolution n'est pas atteint jusqu'à 7 jours.
- b) Après le test de dissolution dans l'eau Milli Q ; les concentrations en calcium et en phosphore augmentent avec la diminution de Ca/P, ce comportement peut être attribué aux défauts dans la structure cristalline causée par la déficience en ions calcium.
- c) Les Ca/P après dissolution des HAP déficientes en calcium comparés à ceux des HAP riches en calcium et celui de l'HAP stœchiométrique représenté sur la figure 13 a révélé :

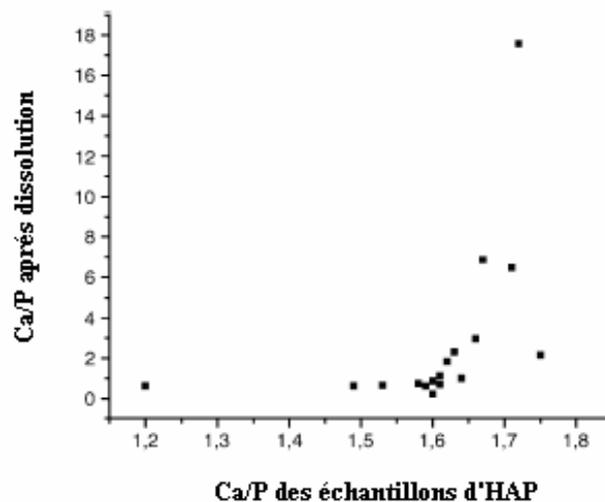


Figure I-13: Ca/P après dissolution en fonction des Ca/P des HAP

- Pour des Ca/P faibles, ces derniers restent constants après dissolution.
- Pour des Ca/P > 1,64, ces derniers augmentent rapidement après dissolution.

E.Mavropoulos et ses collaborateurs ont expliqué le mécanisme de dissolution qui est en accord avec le modèle chimique ainsi :

Le premier stade de dissolution consiste au détachement des cations  $\text{Ca}^{2+}$  de la surface de l'HAP déficiente en calcium, au moment où les ions calcium et les groupements phosphates voisins sont aussi détachés.

- d) L'efficacité de dissolution dépend de la surface spécifique de l'HAP.
- e) La taille des cristaux n'influe pas sur la dissolution des HAP.

Afin de se rapprocher encore de la partie minérale de l'os qui contient de nombreux substitués ioniques, des dopages de l'hydroxyapatite de synthèse avec des éléments métalliques ont été effectués. De nombreuses études ont été menées concernant l'influence de divers ions comme le fluor [96], le strontium [97] ou des groupements comme les carbonates [98] ou les silicates [99]. Quelques travaux antérieurs ont mis en évidence l'intérêt du silicium dans la prolifération des cellules osseuses [100], le zinc et le manganèse dans la capacité à favoriser la résorption et l'ossification [101].

### **I.3.3.5. Modification de la surface de l'hydroxyapatite**

La modification de surface est un moyen d'obtenir des matériaux ayant des propriétés spécifiques. La modification de la surface de l'hydroxyapatite apparaît très intéressante grâce au rôle joué par ce minéral dans les biomatériaux ou comme support pour catalyseurs [102].

Les groupements les plus abondants sur la surface d'HAP sont P-OH donc plusieurs substances organiques et inorganiques peuvent être introduites sur la surface d'HAP en utilisant les groupements P-OH [103].

Dans ce qui suit nous présentons quelques exemples relatifs à la modification de la surface de l'hydroxyapatite.

#### **I.3.3.5.1. Modification de la surface de l'hydroxyapatite par action du chitosan**

Pour évaluer l'influence du chitosan sur la surface d'HAP Wilson et coll [104] ont fait vieillir les particules d'HAP dans des solutions de gels d'acétates de chitosan.

Le chitosan exerce de fortes interactions d'adsorption avec l'hydroxyapatite et active la stabilité colloïdale des nano composites chitosan/hydroxyapatite.

La surface spécifique augmente de  $85\text{m}^2/\text{g}$  à  $160\text{m}^2/\text{g}$  pour l'HAP vieilli dans 1,5 % de solution de gel d'acétate de chitosan.

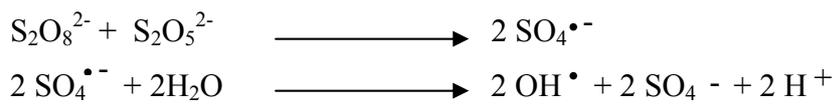
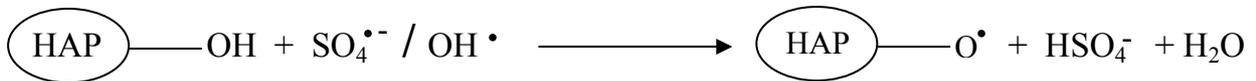
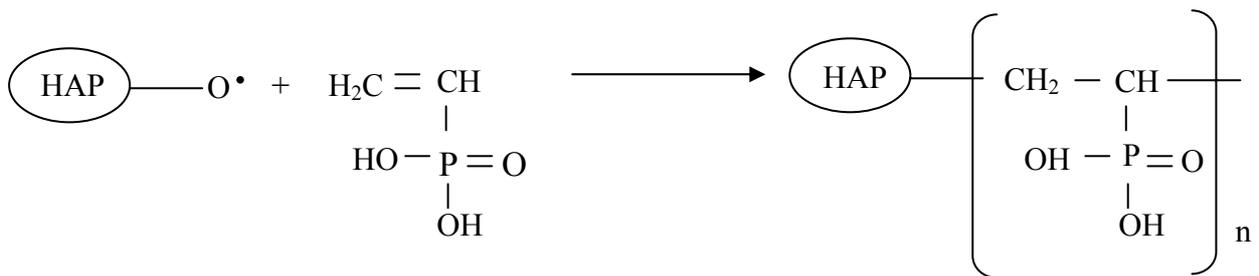
#### **I.3.3.5.2. Modification de la surface de l'hydroxyapatite par action des composés organophosphoriques**

Au cours des dix dernières années, les composés organophosphorés tels que les phosphonates [102], les phosphinates [105] et les alkylphosphates [106] ont attiré l'intérêt croissant dû à leur affinité élevée vis à vis des surfaces d'oxydes de métaux. Dans ce paragraphe, nous allons citer quelques exemples indiquant la modification de la surface d l'hydroxyapatite par action des composés organophosphorés.

##### **a) Action de l'acide vinyle phosphonique**

Hyung et coll [103] ont modifiés la surface de l'hydroxyapatite sous l'action de l'acide vinyle phosphonique  $\text{C}_2\text{H}_5\text{PO}_3$  (noté AVP) en utilisant un système initiateur redox méta bisulfite de sodium / persulfates de potassium ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  /  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ) en milieu aqueux.

Ainsi le mécanisme de greffage par polymérisation de radicaux libres d'AVP proposé est selon le schéma réactionnel suivant :

**1<sup>ère</sup> étape : décomposition des persulfates en solution aqueuse****2<sup>ème</sup> étape: formation du radical sur la surface d'HAP****3<sup>ème</sup> étape: greffage par polymérisation de l'AVP sur la surface d'HAP**

La réaction de modification est spécifique à la surface, elle n'a pas induit de modification dans la structure cristalline des particules d'hydroxyapatite.

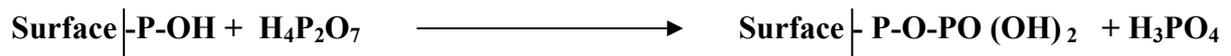
En augmentant la quantité d'AVP le rapport molaire Ca/P diminue de 1,67 à 1,36 et la surface spécifique augmente indiquant que la surface additionnelle des groupements P-OH par modification contribue à la bonne dispersion des nano particules d'hydroxyapatite et à l'amélioration de la stabilité colloïdale.

**b) Action de l'acide pyrophosphorique**

Tanaka et coll [107] ont étudié aussi la modification de la surface de l'hydroxyapatite suite à l'action de l'acide pyrophosphorique  $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$  (noté PP) en milieu organique. Ils ont montré que la surface de l'hydroxyapatite peut être modifiée par action de cet acide sans que sa structure cristalline et la morphologie des particules soient affectées. Ils ont montré que la teneur des ions  $\text{PO}_4^{3-}$  dans l'hydroxyapatite augmente avec l'augmentation de la concentration de PP ce qui se traduit par la diminution du rapport molaire Ca/P de 1,62 à 1,35.

La surface spécifique d'hydroxyapatite modifiée diminue en fonction de l'augmentation de la concentration en PP.

En effet, un mécanisme de la réaction de l'acide PP avec le groupement P-OH de l'hydroxyapatite par addition d'un autre groupement P-OH à la surface de l'hydroxyapatite a été proposé selon le schéma suivant :



Le traitement à haute température ( $T=850^\circ\text{C}$ ) de l'hydroxyapatite traité par l'acide pyrophosphorique conduit à la formation d'une autre phase  $\beta$  TCP

### c) Action de l'acide phosphonique et l'acide phosphinique

En milieu aqueux El Hammari et coll [108] ont modifié la surface d'HAP par greffage de deux phosphonates portant des cycles aromatiques à savoir les acides phénylphosphonique  $\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}(\text{OH})_2$  (noté PPOH) et phénylphosphinique  $\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}(\text{OH})\text{H}$  (noté PPH).

L'HAP et PP-HAP agissent comme des adsorbants méso poreux, leur surface spécifique et le diamètre des pores sont fonction de la concentration en PP.

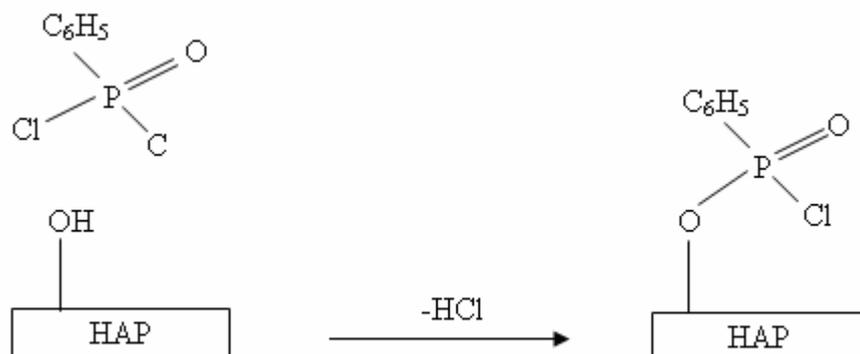
Une seconde phase attribuée à  $\beta$  TCP apparaît quand l'HAP est traitée avec 20 % de PPOH et calcinée à  $800^\circ\text{C}$ .

Le matériau de plus grande surface spécifique est obtenu par greffage du groupement phosphonate  $\text{C}_6\text{H}_5\text{PO}_3\text{H}_2$  qui présente une surface spécifique de  $284 \text{ m}^2/\text{g}$ .

### d) Action du dichlorure phényle phosphonique

La réaction entre le dichlorure phényle phosphonique ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$ ) et l'HAP et FAP synthétique a été étudiée par A. Aissa et coll [102].

L'analyse par diffraction des rayons X a montré que la structure apatitique est conservée après réaction, par contre pas de réaction enregistrée pour la FAP. À partir des résultats obtenus pour ces deux apatites ; un mécanisme a été proposé pour la formation de la liaison covalente P-O-P entre  $\text{C}_6\text{H}_5\text{P}(\text{O})\text{Cl}_2$  et les ions  $\text{HPO}_4^-$  et/ou  $\text{OH}^-$  de l'HAP schématisé sur la figure I-14.



**Figure I-14:** Représentation de la première étape de la réaction entre le dichlorure phényle phosphonique et les groupements hydroxyles sur la surface de l'hydroxyapatite.

La présence des polyphosphonates peut être expliquée par l'hydrolyse partielle des chlorures du dichlorure phényle phosphonique  $C_6H_5P(O)Cl_2$  par le processus réactionnel dû à la présence d'eau résiduelle sur la surface de l'apatite selon le schéma réactionnel suivant :



Le produit de calcination à hautes températures ( $> 1000^\circ C$ ) consiste en  $Ca_3(PO_4)_2$  et  $Ca_2P_2O_7$ , ce résultats est en concordance avec les rapports molaires Ca/P 1,4 et 1,45 pour l'HAP traitée avec 0,9 et 1,8 g de  $C_6H_5P(O)Cl_2$  respectivement.

# Chapitre II

## Matériels & méthodes

## Chapitre II

### Matériels & méthodes

*Au cours de ce chapitre nous décrivons les protocoles expérimentaux de synthèse de l'hydroxyapatite et des composites hydroxyapatite/polypyrrole, ainsi que les appareils et dispositifs utilisés pour les différentes analyses et caractérisations.*

#### II.1. Synthèse d'hydroxyapatite

##### a) Réactifs utilisés

- Nitrates de calcium tétrahydraté  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (Fluka, pureté :  $\geq 98\%$ )
- Pentoxyde de phosphore  $\text{P}_2\text{O}_5$  (Prolabo, pureté : 99%)
- Ethanol  $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$  (BIOCHEM chemopharma, pureté: 99%)

##### b) Protocole expérimental

Le procédé sol-gel utilisé dans ce travail pour synthétiser la poudre d'hydroxyapatite est celui rapporté par M.H Fathi [93].

Dans un premier temps nous préparons séparément deux solutions nommées A et B.

**Solution (A)** :39,437 g de nitrates de calcium sont dissous dans 100 mL d'éthanol. La solution est vigoureusement agitée à température ambiante pendant 2 h.

**Solution (B)** :9,097 g de pentoxyde de phosphore sont dissouts dans 100 mL d'éthanol, la solution ainsi obtenue est vigoureusement agitée à température ambiante pendant 24 h.

Les deux solutions A et B sont ensuite mélangées à température ambiante et agitées pendant 24 h. Le gel obtenu est séché à l'étuve à 80 °C pendant 24 h. La poudre d'hydroxyapatite est obtenue après calcination du xérogel à 600 °C pendant 5 h.

L'ensemble des étapes de synthèse de l'hydroxyapatite sont schématisées ci-dessous.

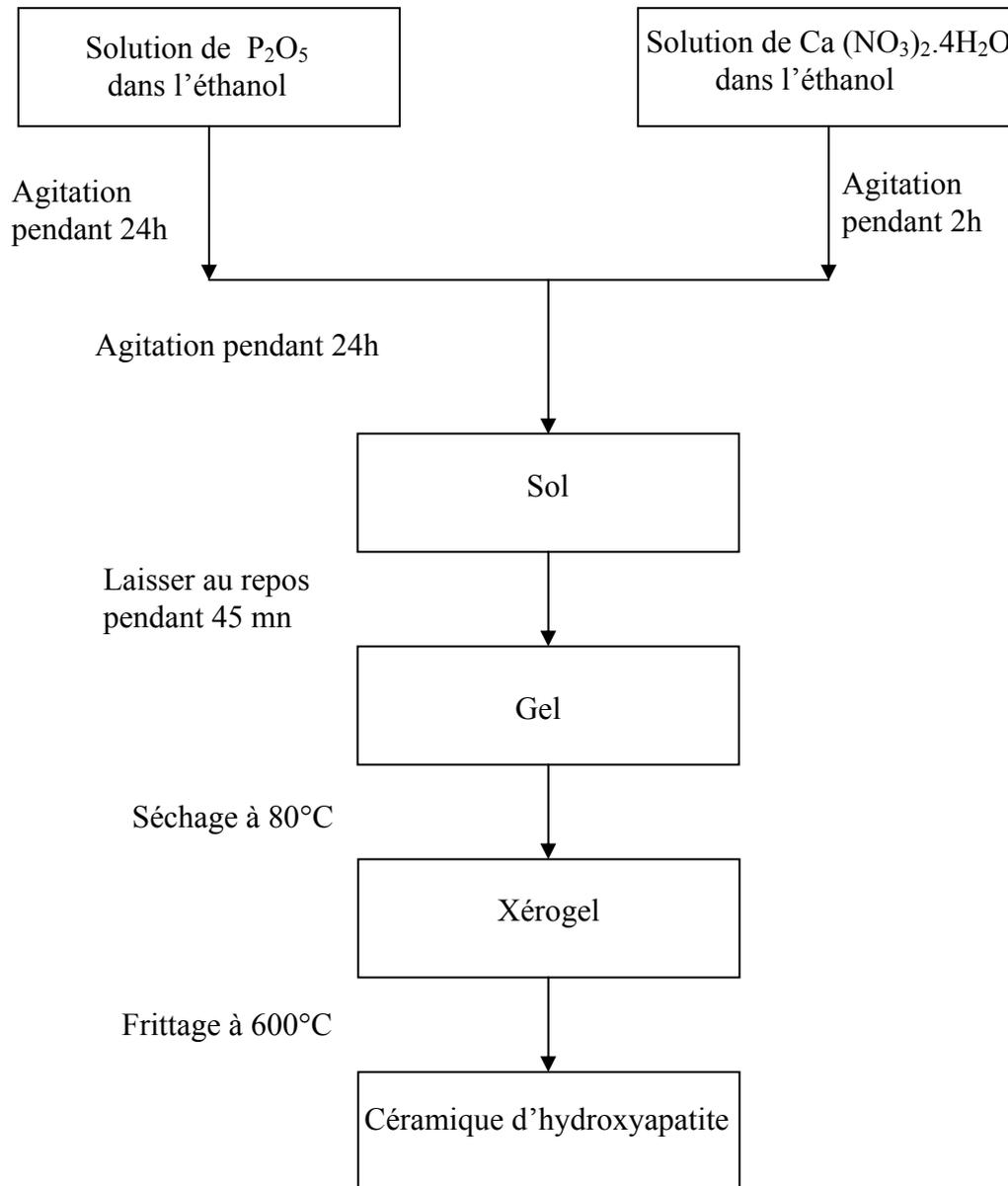


Figure II-1: Diagramme schématisé des étapes du procédé sol-gel utilisé pour la préparation de la céramique d'HAP

## II.2. Extraction de l'hydroxyapatite naturelle à partir des os de bovins

### a) Préparation des os

La poudre d'HAP d'origine biologique utilisée dans le présent travail a été extraite à partir des os de bovins. Les os ont été nettoyés des impuretés adhérentes et macroscopiques et des substances comprenant les ligaments et les tissus collés sur les os, ils ont été dégraissés et nettoyés à ébullition suivie d'un séchage à l'ambient, Les os sont ensuite réduits en poudre à l'aide d'un mortier.

### b) Extraction de l'hydroxyapatite naturelle

Les os ont été calcinés à 750 °C avec une vitesse de chauffe de 10 °C/min, la température est maintenue pendant 5 h pour éliminer complètement la phase organique. La poudre ainsi obtenue est une hydroxyapatite naturelle.

## II.3. Synthèse des composites hydroxyapatite-polypyrrole

### a) Réactifs utilisés

- Trichlorure de fer (Fluka, pureté :  $\geq 98\%$ )
- Pyrrole (Alfa Aesar, pureté :  $\geq 98\%$ )

### b) Protocole expérimental

Le pyrrole a été purifié par distillation avant son utilisation, et conservé à basses températures et à l'abri de la lumière.

Nous avons réalisé le greffage du polypyrrole sur la surface d'hydroxyapatite comme suit : Une masse de 2,5 g de poudre d'hydroxyapatite est introduite dans un Erlen Meyer contenant 25 mL d'une solution de pyrrole, le mélange est vieilli pendant 12 h. Celui-ci est dosé avec 25 mL d'une solution de trichlorure de fer. La réaction de modification se déroule pendant 4 h. Le mélange est ensuite filtré puis rincé à l'eau distillée. Le solide ainsi collecté est séché à 60 °C dans une étuve. Nous avons synthétisé des composites hybrides hydroxyapatite-polypyrrole par traitement de la poudre d'HAP par différents taux de pyrrole (5,10 et 15 % en masse). Les quantités des réactifs utilisées sont indiquées dans le tableau II-1.

Le polypyrrole a été synthétisé à partir des réactifs cités ci-dessus selon le protocole expérimental suivant :

Dans un ballon de chauffe on met 300 mL d'eau mélangée avec 19,6 g de  $\text{FeCl}_3$ , le mélange est mis sous agitation dans une installation sous reflux à 22 °C. 2,1 mL de pyrrole préalablement distillé sont ajoutés en une seule portion au mélange précédent, le mélange acquiert une couleur noire instantanément. La réaction de polymérisation se déroule pendant 1 h. À la fin de la réaction le précipité récupéré est lavé avec de l'eau distillée puis séché.

Tableau II-1 : Quantités des réactifs utilisés au cours de la préparation des matériaux hybrides

## HAP-PPy

| % en masse du pyrrole | C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N (g) | FeCl <sub>3</sub> (g) | HAP (g) |
|-----------------------|-------------------------------------|-----------------------|---------|
| 5                     | 0,131                               | 0,791                 | 2,5     |
| 10                    | 0,278                               | 1,622                 | 2,5     |
| 15                    | 0,441                               | 2,636                 | 2,5     |

## II.4. Techniques d'analyses et de caractérisation utilisées

- **Spectroscopie infrarouge (IR) :** Les spectres IR que nous présentons dans ce travail ont été obtenus à l'aide d'un spectromètre IRAffinity-1 SHIMADZU.

Le domaine infrarouge est caractérisé par des radiations dont le nombre d'onde est compris entre 10 et 12500 cm<sup>-1</sup>. Il peut être divisé en trois régions :

- ❖ Proche infrarouge : 12500 cm<sup>-1</sup>-4000 cm<sup>-1</sup>
- ❖ Infrarouge moyen : 4000 cm<sup>-1</sup>-400 cm<sup>-1</sup>
- ❖ Infrarouge lointain : 10 cm<sup>-1</sup>-400 cm<sup>-1</sup>

Les énergies sollicitées par les radiations IR sont celles correspondant aux énergies de rotation et de vibration des liaisons interatomiques des molécules. Les transitions entre les niveaux rotationnels sont observées dans l'IR lointain et celles entre les niveaux de vibration, entre 400-10000 cm<sup>-1</sup>. Néanmoins, le spectre d'absorption IR de la plupart des molécules organiques est observé dans le domaine de l'infrarouge moyen. L'interaction entre un rayonnement IR et une molécule a lieu lorsque celle-ci renferme des liaisons polaires. On distingue deux principaux types de vibration, l'élongation (stretching) entre 4000 et 2000 cm<sup>-1</sup> et la déformation (bending) entre 2000 et 1500 cm<sup>-1</sup>. Pour chaque type, on dénombre plusieurs modes vibrationnels, comme le montre la figure ci-dessous.

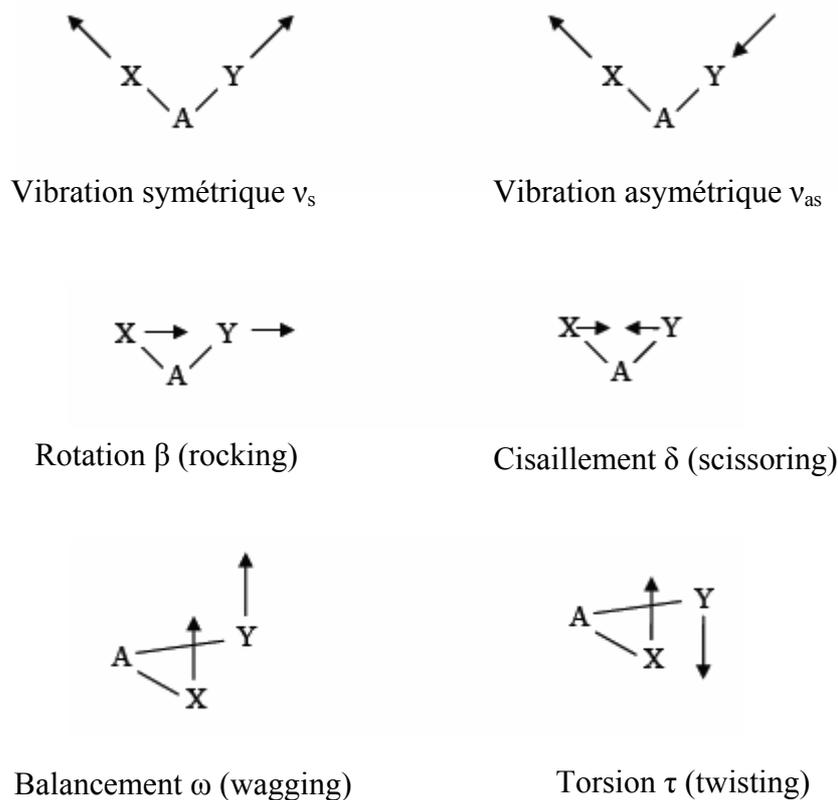


Figure 2 : Les différents modes de vibration

Les bandes de vibration dues à l'élongation ont lieu à des fréquences plus élevées (4000-2000  $\text{cm}^{-1}$ ) que celles dues à la déformation (2000-1500  $\text{cm}^{-1}$ ). En effet, l'étirement d'une liaison chimique nécessite plus d'énergie que la déformation. Dans la zone du proche infrarouge, les absorptions ne sont pas dues aux vibrations fondamentales des molécules, mais aux vibrations harmoniques et aux vibrations de combinaison.

Au sein d'une molécule, chaque liaison vibre en permanence à une fréquence qui dépend de la nature des atomes et de la liaison. Mais en IR on n'observe que les vibrations impliquant une variation du moment dipolaire de la molécule. Par conséquent, on obtient des bandes intenses lors de la vibration de liaisons polarisées, alors que dans le cas de liaisons non polarisées les bandes de vibration ne sont que peu ou pas visibles.

La position de la bande d'absorption dépend de la masse des atomes formant la liaison et de la force de celle-ci : pour des petits atomes et une forte liaison, la bande d'absorption se situe dans le domaine des fréquences élevées. L'intensité de la bande dépend de la présence de plusieurs groupes du même type ainsi que de la valeur et de la variation du moment

dipolaire : plus il y a de groupes du même type et plus la liaison est polarisée, plus forte sera l'intensité de la bande.

- **Diffraction de rayons X (DRX) :** L'appareil utilisé pour la caractérisation par DRX des échantillons d'HAP et ses composites est un diffractomètre Epert prof panalytical type MPD/système vertical  $\theta/\theta$  PDS //pass x accélérateur (detector) plate forme (Bracket) (sample-stage).

La diffraction des rayons X est une méthode utilisée dans le but d'accéder à des informations qualitatives et quantitatives sur l'arrangement atomique des matériaux étudiés.

Le principe de la DRX est basé sur la réflexion d'un faisceau monochromatique de rayons X par le réseau cristallin d'un échantillon de matière. L'identification des phases ainsi que l'évaluation des paramètres de mailles, voire la détermination de la structure cristalline, sont autant d'informations accessibles par cette méthode.

L'identification des phases cristallines par diffraction des rayons X est rendue possible grâce à la périodicité de l'arrangement atomique au sein des cristaux qui est unique d'une phase à l'autre. Ces périodicités sont dues à un empilement de plans identiques dans un cristal et sont décrites par des longueurs correspondant aux distances entre les plans d'empilement. Cette distance entre les plans réticulaires est nommée distance inter-réticulaire et est notée  $d_{hkl}$ , où les indices de Miller  $hkl$  désignent la direction considérée dans le cristal.

Si l'on considère un ensemble de plans réticulaires ( $hkl$ ) équidistants de  $d_{hkl}$ , il y a interaction rayonnement - matière et donc diffraction selon la loi de Bragg, c'est-à-dire :

$$2d_{hkl} \sin\theta = n\lambda$$

Ainsi, pour une certaine valeur de  $d_{hkl}$ , de  $n$  l'ordre à la réflexion et sous un rayonnement X incident monochromatique (longueur d'onde  $\lambda$  unique), des intensités diffractées ne peuvent être observées que sous des angles  $2\theta$  bien définis qui représentent un cône de diffraction entre le rayon diffracté et le rayon incident (la figure 1).

L'identification des phases présentes dans un échantillon se fait par comparaison de son diagramme de DRX (positions et intensités des raies diffractées) avec des diagrammes de phases connues [114,115].

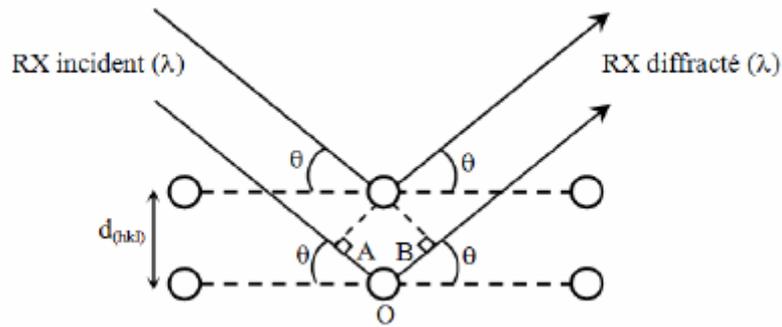


Figure 1 : principe de la diffraction des rayons X

- **Microscopie électronique à balayage (MEB) :** La morphologie de surface est étudiée à l'aide d'un microscope électronique de type FTI QANTA 200 équipé d'une énergie dispersive X-ray (EDX).

La microscopie électronique à balayage permet l'étude de la surface d'un échantillon massif. Lorsqu'un échantillon est bombardé par des électrons primaires de faible énergie, la pénétration de ces derniers est peu importante et est limitée à un petit volume. Dans ce volume, les électrons subissent des pertes énergétiques et provoquent l'excitation d'autres électrons, ceux-ci de faible énergie sont appelés électrons secondaires. Ces électrons permettent l'observation de la surface, laquelle donne l'impression d'une vue en trois dimensions. Lorsque l'énergie des électrons primaires est grande, d'autres électrons peuvent être arrachés du matériau. Ce sont des électrons rétrodiffusés qui possèdent une grande énergie (50 keV), cette méthode donne une information sur la densité de l'échantillon. Plus les éléments étudiés sont lourds, plus la quantité des électrons renvoyés est importante. À l'écran, ce phénomène se traduit par une intensité de lumière plus importante dans les zones les plus denses, c'est à dire où les éléments sont les plus lourds. Cette densité est proportionnelle à une coloration entre niveaux de gris. L'émission d'électrons se fait grâce à un filament de tungstène.

La plupart des microscopes électroniques actuels sont couplés à un système d'analyse élémentaire [116].

Une très petite surface, de l'ordre de  $1\mu\text{m}^2$ , de l'échantillon à analyser est irradiée par un faisceau d'électrons fortement accélérés. Les rayons X produits sont ensuite analysés à l'aide d'un spectromètre. La comparaison des intensités des rayons X caractéristiques de chaque

élément composant l'échantillon à celles émises par des éléments témoins permet de quantifier la composition chimique du matériau en tout point. (Le volume analysé est de l'ordre de  $1\mu\text{m}^3$ ).

- **Mesures structurales (méthode BET) :** La mesure de la surface spécifique des matériaux préparés a été réalisée avec un appareil de type NOVA 2000e Qantachrome qui utilise le procédé d'adsorption en multicouches de gaz d'azote à 77 K selon la théorie de Brunauer, Emmett et Teller (BET).
- **Analyse thermogravimétrique (ATG/ATD) :** Les méthodes thermiques : analyse thermogravimétrique (ATG) et analyse thermique différentielle (ATD) ont été effectuées pour prouver la stabilité thermique des échantillons à analyser et la température de décomposition des différentes espèces à différentes températures ; l'analyse est effectuée sous azote avec une vitesse de chauffe de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  de la température ambiante jusqu'à  $800^\circ\text{C}$ . L'appareil utilisé pour effectuer cette analyse est de type SETARAM TGA 92.

La caractérisation d'un matériau peut être effectuée par l'étude de ses propriétés physicochimiques en fonction de la température et du temps. C'est l'objet des différentes techniques d'analyse thermique qui sont, l'analyse thermogravimétrique (ATG) et l'analyse thermique différentielle (ATD). L'ATG est une technique expérimentale qui permet la caractérisation d'un matériau par mesure de sa masse lorsque celui-ci est soumis à un changement de température. Ainsi, la calibration porte sur la masse, la température et le temps. L'analyse thermique différentielle (ATD) consiste à mesurer la différence de température  $\Delta T$  entre l'échantillon à étudier et un échantillon de référence inerte, tous les deux soumis aux mêmes conditions d'échauffement. Cette différence est liée à la quantité de chaleur dégagée ou absorbée par le matériau étudié.

L'instrumentation d'analyse thermique est constituée d'une enceinte et son programmeur qui permettent de chauffer l'échantillon selon une loi requise, un capteur mesurant la propriété recherchée et des auxiliaires de capture de température, d'acquisition, de traitement et de stockage de l'information. L'enceinte de chauffage permet à la fois le chauffage proprement dit de l'échantillon et l'isolation de l'atmosphère contrôlée. Le four est construit autour d'une résistance électrique (platine, tungstène, etc.). Le contrôle de l'atmosphère nécessite une séparation entre l'élément chauffant et la chambre de l'échantillon à l'aide d'un matériau tel que le quartz pour des températures allant jusqu'à  $1200^\circ\text{C}$ , l'alumine (jusqu'à  $1800^\circ\text{C}$ ) ou le

graphite au-delà de 1800°C. La mesure de température est réalisée à l'aide d'un thermocouple ou d'une sonde de platine. La mesure de la masse, quand à elle, est effectuée à l'aide d'une balance conçue spécialement pour ce type d'analyse.

La mesure des pertes de masse lors de la décomposition de l'échantillon en fonction de la température et du temps permet d'obtenir des informations utiles telles que la quantification de la perte en solvant (déshydratation) ou en matière organique à partir d'un échantillon solide ainsi que les coordonnées (température et temps) où les différentes décompositions ont eu lieu. Dans certain cas, l'instrument d'ATG est couplé à un spectromètre de masse ou IR pour l'analyse des gaz de décomposition. Ainsi, peut-on déterminer les différentes réactions se produisant lors du traitement thermique.

# *Chapitre III*

## *Analyse & caractérisation des produits synthétisés*

## Chapitre III

### Analyse et caractérisation des produits synthétisés

*Nous présentons dans ce chapitre les différents résultats des analyses que nous avons effectuée sur la poudre d'hydroxyapatite et ses composites.*

*La caractérisation des poudres d'hydroxyapatite et des matériaux hybrides HAP/PPy obtenus est faite principalement par diffraction des rayons X (DRX), spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), analyse thermique (ATG/ATD), mesures structurales (méthode BET) et par microscopie électronique à balayage (MEB).*

*Ce chapitre est subdivisé en deux parties, la première concerne la caractérisation et la comparaison de deux hydroxyapatites. L'une a été synthétisée par le procédé sol-gel comme cela a été rapporté par M.H Fathi [93] qu'on va appeler hydroxyapatite synthétique, symbolisée par HAPsyn. L'autre a été extraite à partir des os de bovin, appelée hydroxyapatite naturelle et qu'on va symboliser par HAPnat.*

*La caractérisation des matériaux hybrides HAP/PPy obtenus par greffage du polypyrrole sur la surface des poudres d'hydroxyapatite naturelle et synthétique par les différentes méthodes de caractérisation citées ci-dessus fera l'objet de la deuxième partie de ce chapitre.*

## Première partie

### Caractérisation des hydroxyapatites utilisées comme biomatériau

L'HAP qui est dotée d'excellentes propriétés telles que la biocompatibilité et la bio affinité active l'ostéoconduction, grâce à la similitude de sa composition chimique et cristallographique avec la phase minérale du tissu osseux. Pour cela plusieurs techniques ont été développées pour produire de l'HAP. Il existe deux voies essentielles de production de la poudre d'HAP, la première est la synthèse inorganique comme la méthode sol-gel, la méthode hydrothermale, la précipitation...etc. L'autre voie consiste à extraire de l'HAP à partir de sources naturelles comme le corail, calcite naturelle, coquilles des œufs et les os de bovins [109].

L'HAP extraite à partir des os d'animaux présente l'avantage de posséder certaines propriétés de l'HAP naturelle comme sa composition chimique et sa structure, cependant l'HAP naturelle paraît une alternative pour plusieurs produits basés sur l'HAP synthétique.

L'os est contient 65-70% d'hydroxyapatite et 30-35% de composés organiques, comme le collagène qui est le principal constituant de l'os, les lipides, les protéines, les polysaccharides qui sont présents à de faibles quantités [110].

Dans notre travail, les os de bovins sont utilisés comme source pour l'HAP qui a été extraite selon le protocole décrit dans le chapitre précédent.

Le thermogramme ATG/ATD des os de bovins obtenu est représenté sur la figure III-1.

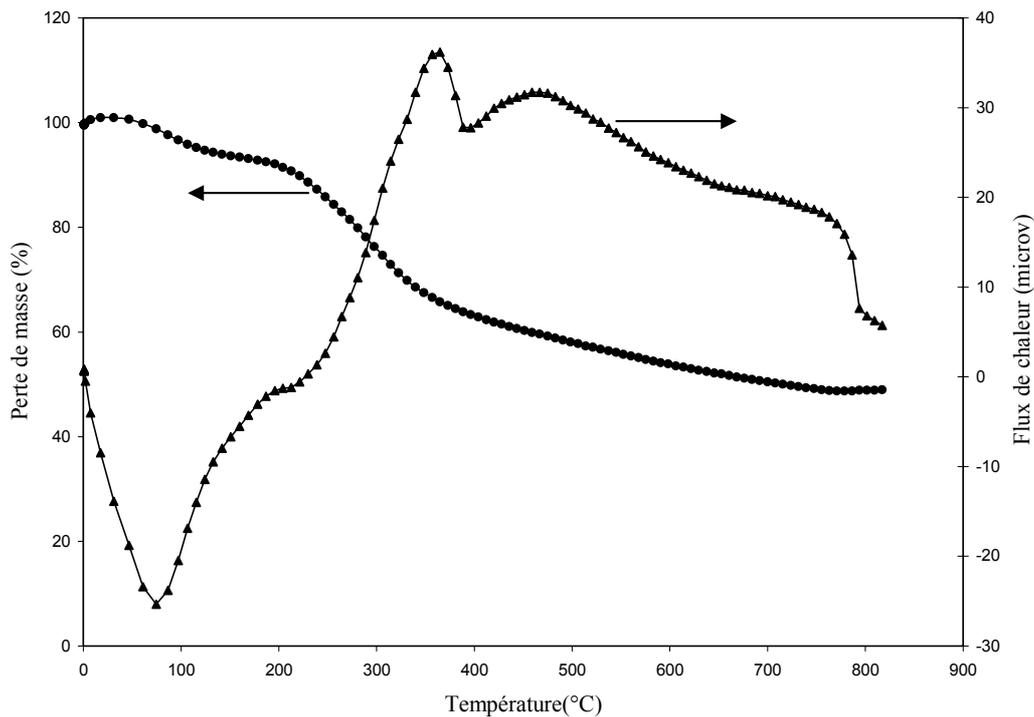
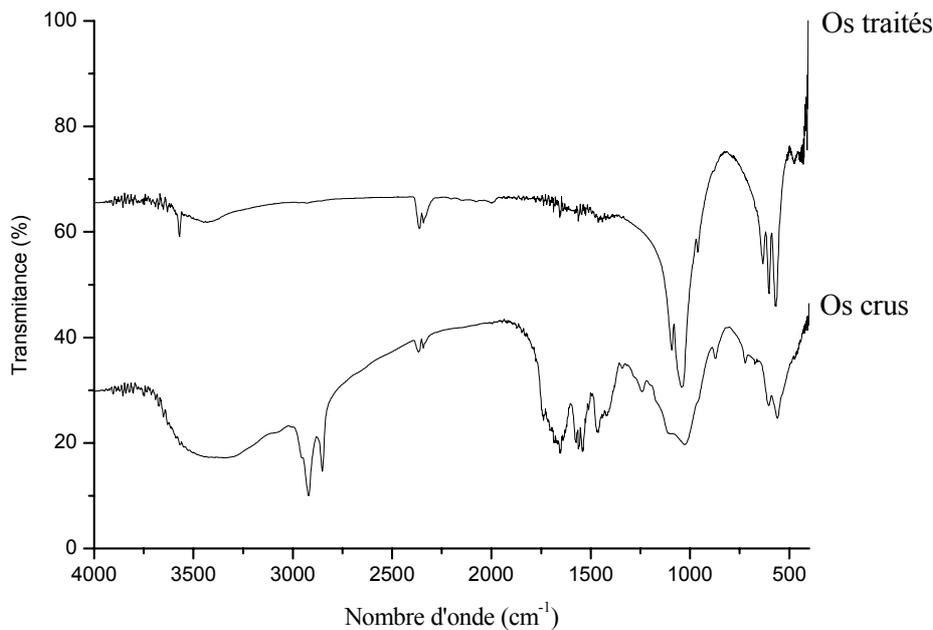


Figure III-1 : Thermogramme ATG/ATD des os de bovins

Le thermogramme TG des os montre deux pertes de masse essentielles. La première est située à  $\sim 59$  °C, associée à un pic endothermique. Elle correspond à l'élimination de l'eau adsorbée sur la surface des os qui est de  $\sim 6$  %. La deuxième perte est située à  $\sim 331$ °C, associée à un pic exothermique, elle correspond à la combustion des matières organiques contenues dans les os qui est estimé à  $\sim 44$  %.

Les os de bovin est une matrice extracellulaire composée essentiellement de nano cristaux d'hydroxyapatite et de fibres de collagène. Dans le but de l'étude structurale des os l'analyse infrarouge est conduite et le spectre obtenu ainsi que celui des os traités sont représentés sur la figure III-2.



**Figure III-2** : Spectres infrarouge des os crus et traités

Comme le montre la figure III-2, il y a une différence entre les deux spectres. Cependant on peut dire qu'il y a eu des changements dans la structure chimique des os qui sont dus au traitement qu'ils ont subis.

Le spectre IR des os ne présente pas de bandes caractéristiques des hydroxyles et des phosphonates caractéristiques de l'HAP. Ces bandes sont clairement observées dans le spectre des os traités et non pas dans celui des os crus, cela est due à la structure complexe des os qui est détruite par le traitement proposé.

La microstructure des os crus et ses variétés de pores sont représentées sur la figure III-3. Les os de bovins contiennent des petits et larges pores mais généralement la microstructure des os crus est hautement dense qui est due à la présence de substances organiques imprégnées avec la phase minérale associée aux os de bovins. Une fois que les os sont frittés à 750 °C pendant 5 h (figure III-4), la microstructure change suite à l'élimination de l'eau (~ 6 % en masse) et les matières organique comme le collagène (~ 44 % en masse), protéines, polysaccharides et les lipides qui sont aussi présents à de petites quantités. Seule la partie inorganique est gardée.

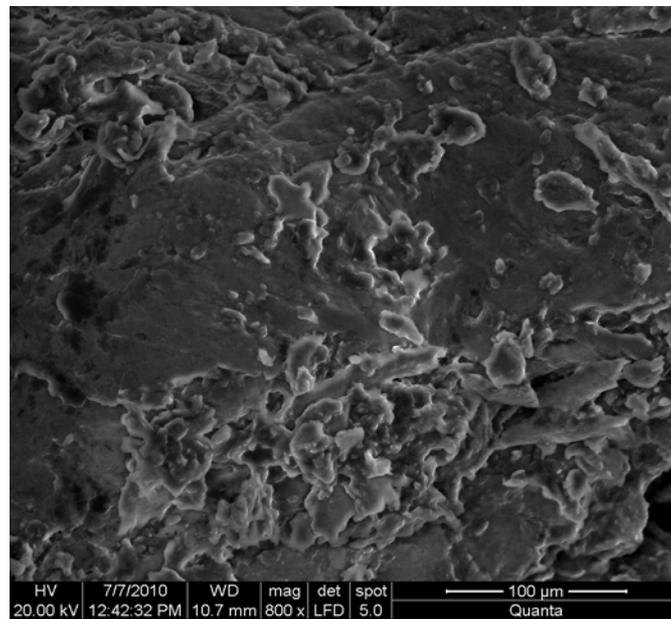


Figure III-3: Micrographie MEB des os de bovin crus

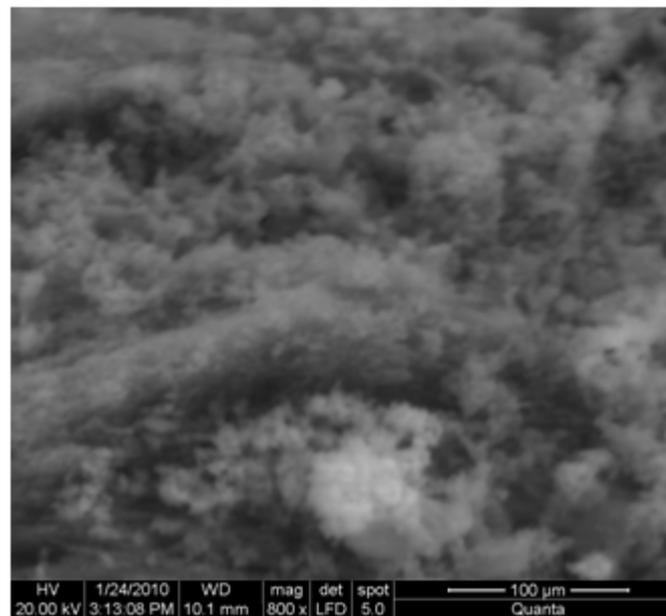


Figure III-4: Micrographie MEB des os après traitement

### III.1. Caractérisation des poudres d'hydroxyapatite

#### III.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge

Le spectre IR de la poudre d'hydroxyapatite naturelle extraite à partir des os de bovins et celui de la poudre d'hydroxyapatite synthétisée par le procédé sol-gel sont représentés sur les figures III-5 et III-6 respectivement.

Les spectres sont enregistrés entre 400 et 4000  $\text{cm}^{-1}$  avec une résolution de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Les mesures sont réalisées en transmittance au travers de pastilles de KBr. 1 mg de poudre et 90 mg de KBr sont mélangés dans un mortier en agate puis pressés dans un moule de 14 mm de diamètre avec une pression de 9 KN pendant 7 mn, le bromure de potassium servant de support pour la mesure.

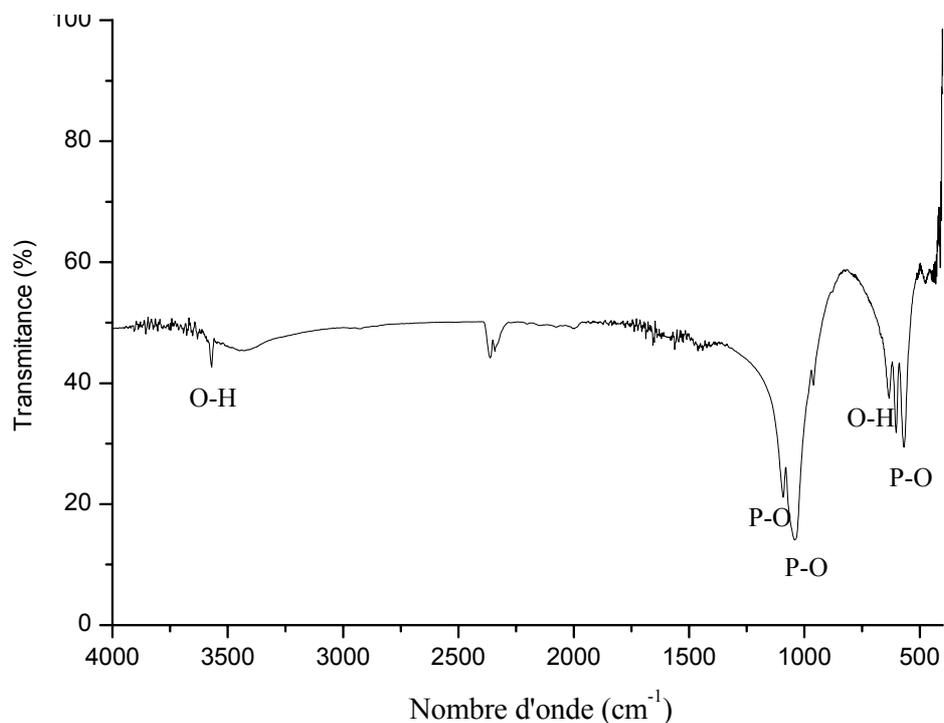


Figure III-5 : Spectre IR de la poudre d'HAP naturelle

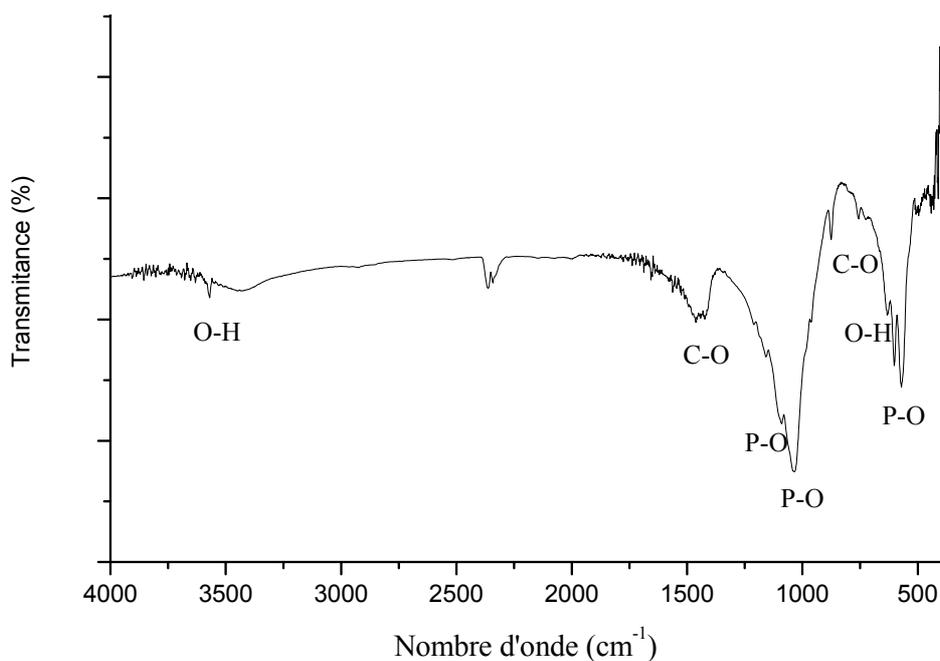


Figure III-6 : Spectre IR de la poudre d'HAP synthétique

Le spectre IR de l'HAP naturelle est similaire à celui de l'HAP synthétique, cela veut dire que le collagène et les autres composés organiques présents dans les os ont été éliminés par le traitement proposé.

Les spectres IR obtenus confirment la formation de l'hydroxyapatite contenant les bandes P-O et O-H des groupements phosphates et hydroxyles constitutifs de l'hydroxyapatite.

Dans chaque hydroxyapatite nous observons des bandes à 1042 et 1092  $\text{cm}^{-1}$  correspondant au mode vibrationnel  $\nu_3$  des ions  $\text{PO}_4^{3-}$  tétrahydriques. Les bandes dans le domaine 565-600  $\text{cm}^{-1}$  correspondent à la vibration d'allongement symétrique  $\nu_4$  de la liaison P-O des ions  $\text{PO}_4^{3-}$ . Les bandes correspondant à la vibration d'élongation des groupements hydroxyles à 3568 et 631  $\text{cm}^{-1}$  sont clairement observées sur les spectres [111].

Cependant le spectre IR obtenu pour l'hydroxyapatite synthétique montre de nouvelles bandes dans le domaine [1465-1415  $\text{cm}^{-1}$ ] et à 874  $\text{cm}^{-1}$  qui correspondent aux modes vibrationnels  $\nu_3$  et  $\nu_2$  respectivement des carbonate indiquant que l'HAP est B-carbonatée [112].

### III.1.2. Caractérisation par diffraction des rayons X

Les diagrammes de diffraction des rayons X réalisés sur les poudres d'hydroxyapatite naturelle et synthétique sont représentés sur les figures III-7 et III-8 respectivement.

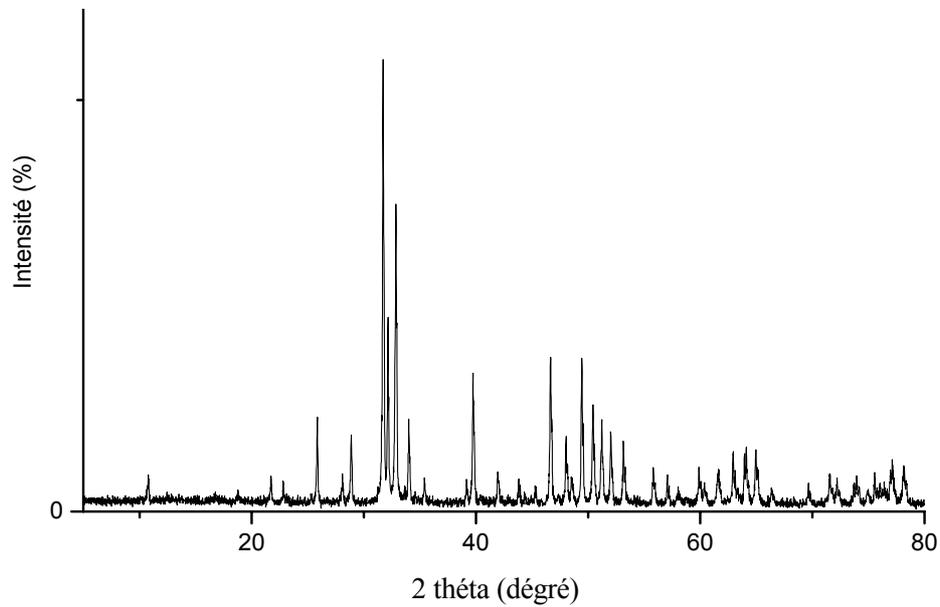


Figure III-7 : Diffractogramme DRX de la poudre d'HAP naturelle

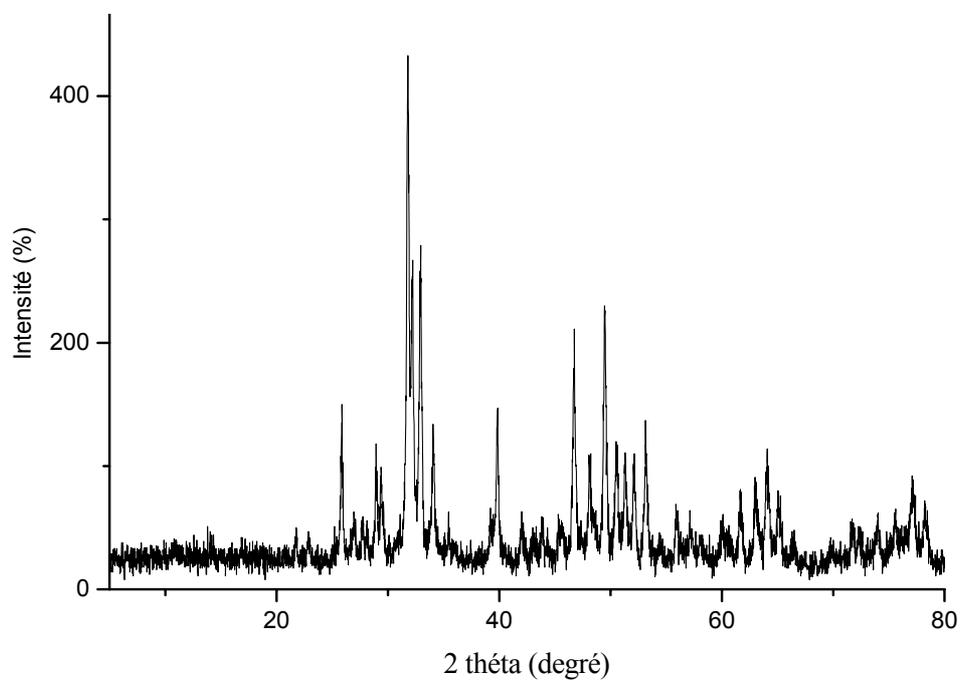


Figure III-8 : Diffractogramme DRX de la poudre d'HAP synthétique

L'analyse par diffraction de rayons X a permis de mettre en évidence que, dans les échantillons analysés nous sommes en présence d'une structure apatitique. Le frittage du précurseur gel Ca-P-O à 600°C produit une phase cristalline qui est l'hydroxyapatite de formule  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$  dans le cas de l'hydroxyapatite synthétique, dans le cas de l'hydroxyapatite naturelle, nous avons procédé par calcination des os à 750°C pour éliminer la phase organique et isoler ainsi la phase minérale composée essentiellement de l'hydroxyapatite.

Les deux diagrammes de diffraction sont similaires. En se référant aux fiches ASTM (American Society for Testing Materials) correspondant à l'hydroxyapatite (fiche ASTM N° 01-074-0565), nous remarquons que tous les pics inscrits dans ces fiches sont présents. Il s'agit donc bien d'hydroxyapatite cristallisée.

Tous les pics dans l'HAP synthétique ont été identifiés comme HAP, cette dernière ne présente pas de phases secondaires tels que le phosphate tricalcique et l'oxyde de calcium, d'autre part si nous comparons les spectres de l'hydroxyapatite naturelle et synthétique, les intensités des pics principaux de ces poudres ( $30^\circ < 2\theta < 35^\circ$ ) ne sont pas les mêmes. La différence d'intensité entre les pics peut provenir de la quantité de poudre analysée qui n'est pas la même.

Toutes ces analyses physico-chimiques nous permettent d'avoir une première approche de la composition et de la structure des hydroxyapatites. L'analyse par spectrométrie infrarouge a révélé des traces de carbonates dans le cas de l'hydroxyapatite synthétique. Les hydroxyapatites carbonatées de type B synthétiques ont une composition chimique voisine de celle de la phase minérale de l'os [112].

### **III.1.3. Caractérisation par microscopie électronique à balayage**

Les micrographies MEB des poudres d'hydroxyapatite naturelle et synthétique (figure III-9), montrent que ces dernières sont fortement agglomérées et denses et de formes irrégulières.

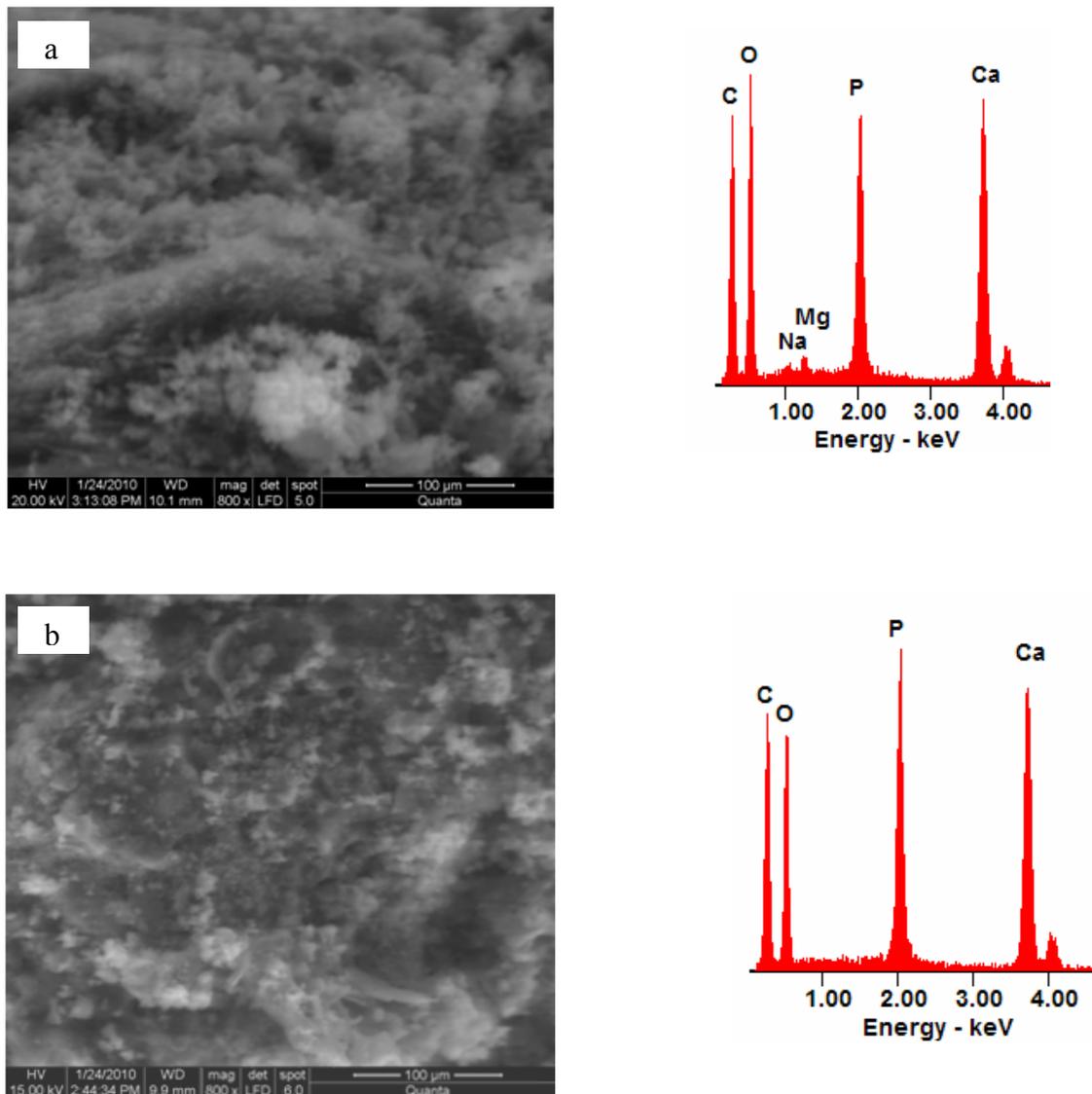


Figure III-9 : Micrographies MEB des poudres d'HAP :a)naturelle b) synthétique

Les résultats de la microanalyse nous ont permis de remonter aux rapports molaires Ca/P des poudres d'HAP. Le rapport molaire Ca/P de l'HAP synthétique est de 1,39, il est de 1,51 pour l'hydroxyapatite naturelle, ces derniers sont inférieurs à 1,67 valeur caractéristique de l'HAP stœchiométrique.

D'autres auteurs ont observés des rapports molaires Ca/P supérieurs à 1,67 pour l'hydroxyapatite naturelle comme K.Haberko et ses collaborateurs qui ont observés un Ca/P de 1,73 pour une hydroxyapatite extraite à partir des os de bovin [110].

Le rapport molaire de la poudre d'HAP synthétique est inférieur à celui de la poudre d'HAP naturelle, cette différence peut être expliquée par le fait que dans l'HAP synthétique qui est une hydroxyapatite B-carbonatée il y a présence d'ions carbonate qui sont absents dans l'HAP naturelle, la substitution des ions  $\text{PO}_4^{3-}$  par les carbonate engendre des perturbations dans la structure apatitique qui conduisent à une augmentation de la solubilité du composé par rapport à l'hydroxyapatite [112].

## Deuxième partie

### Caractérisation des matériaux hybrides hydroxyapatite / polypyrrole

Le polypyrrole (PPy) est l'un des polymères conducteurs les plus fréquemment étudiés pour sa bonne stabilité et sa haute conductivité. Ces dernières années, les applications biomédicales du PPy ont été rapportées grâce à sa bonne biocompatibilité avec les cellules des mammifères et sa capacité à modifier les activités cellulaires par stimulation électrique. Par conséquent le PPy et ses composites peuvent être utilisés comme prochaine génération de biomatériaux implantables, qui seront capables de communiquer avec les tissus environnants sans soudure pour réguler l'attachement, la prolifération et la différenciation cellulaire par stimulation électrique. Donc il serait très intéressant d'incorporer le PPy électroactif dans l'apatite pour préparer de nouveaux composites bioactifs qui vont être des candidats recherchés pour les revêtements sur implants métalliques et supports de l'ingénierie tissulaire grâce à sa capacité de se lier à l'os, aussi bien d'affecter les activités cellulaires à travers le courant ou champ électrique [113].

Pour atteindre cet objectif, nous avons réalisé le greffage du polypyrrole sur la surface des deux poudres d'HAP afin d'avoir un biomatériau hybride HAP/PPy qui sera destiné pour la fixation d'antibactériens comme l'argent, qui va être l'objet de la suite de ce travail.

Le greffage du polypyrrole sur la surface apatitique a été effectué comme suit : Les poudres d'HAP ont été traitées par différents pourcentages en masse de pyrrole à savoir 5,10 et 15% en présence du trichlorure de fer comme oxydant. Les matériaux hybrides ainsi obtenus ont été caractérisés par les méthodes d'analyse comme il a été signalé au début de ce chapitre.

Le polypyrrole est parmi les polymères conducteurs qui peuvent être synthétisés par voie chimique et électrochimique à partir de solvants organiques et aqueux. Il a été rapporté que le fer et le chlore sont les meilleurs oxydants et l'eau est le meilleur solvant pour la polymérisation par voie chimique. La réaction de polymérisation du pyrrole avec le trichlorure de fer comme oxydant est schématisée ci-dessous.

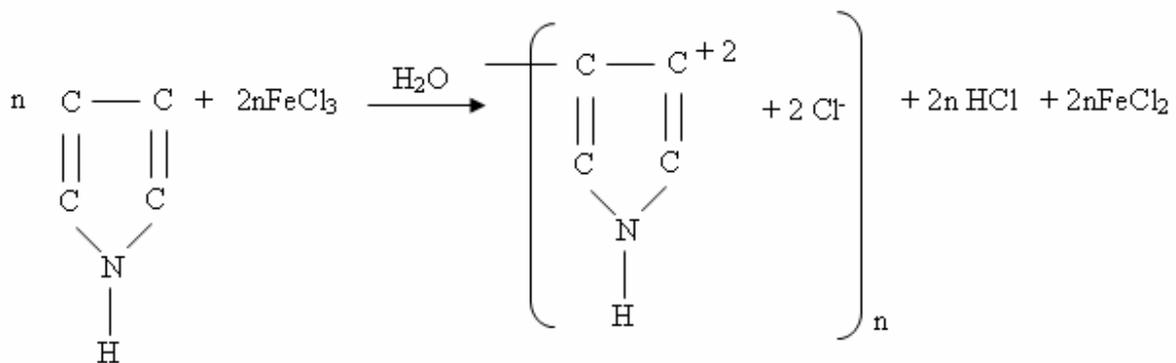


Figure III-10 : Schéma réactionnel de polymérisation oxydative du pyrrole utilisant FeCl<sub>3</sub>

Durant la polymérisation chimique du pyrrole l'électro neutralité du polymère est maintenue par l'incorporation d'anions qui sont présents dans le mélange réactionnel. Exemple, quand le trichlorure de fer est utilisé comme oxydant, l'anion Cl<sup>-</sup> est incorporé comme un contre ion dans la matrice polymère. Les contre ions appelés aussi dopants sont généralement les ions de l'oxydant.

La synthèse chimique du polypyrrole est très simple dont le principe est détaillé dans le chapitre précédent. Le polypyrrole ainsi obtenu a été caractérisé par diffraction de rayons X dont le spectre obtenu qui est représenté sur la figure ci-dessous présente un pic de diffraction intense à  $2\theta = 44^\circ$

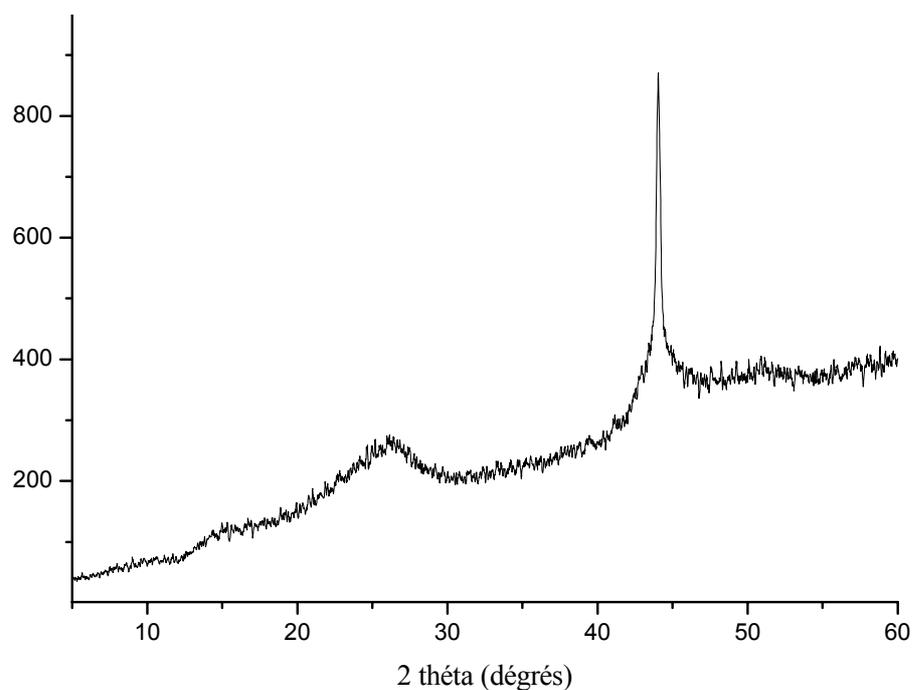


Figure III-11 : Spectre DRX du polypyrrole

De même le polypyrrole a été caractérisé par infrarouge. Le spectre obtenu montre l'apparition de bandes caractérisant le polypyrrole, à savoir le vibrateur N-H qui est caractérisé par une bande située à  $1652\text{ cm}^{-1}$ , la liaison C-N est caractérisée par une bande située à  $1437\text{ cm}^{-1}$ , la bande située à  $1528\text{ cm}^{-1}$  caractérise le groupement C=C. Le gaz carbonique adsorbé sur la surface du polypyrrole est détecté à une fréquence de  $1662\text{ cm}^{-1}$ , la bande centrée à  $3434\text{ cm}^{-1}$  est caractéristique des molécules d'eau adsorbées sur la surface du polypyrrole.

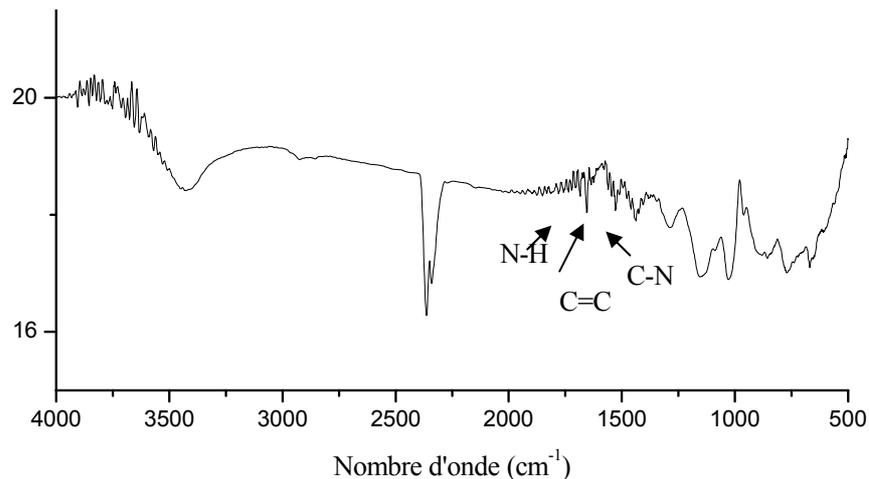


Figure III-12 : Spectre IR du polypyrrole

La microstructure du polypyrrole a été mise en évidence par microscopie électronique à balayage qui est représentée sur la figure ci-dessous. La micrographie obtenue montre que les particules du polypyrrole sont de forme sphérique et de taille régulière.

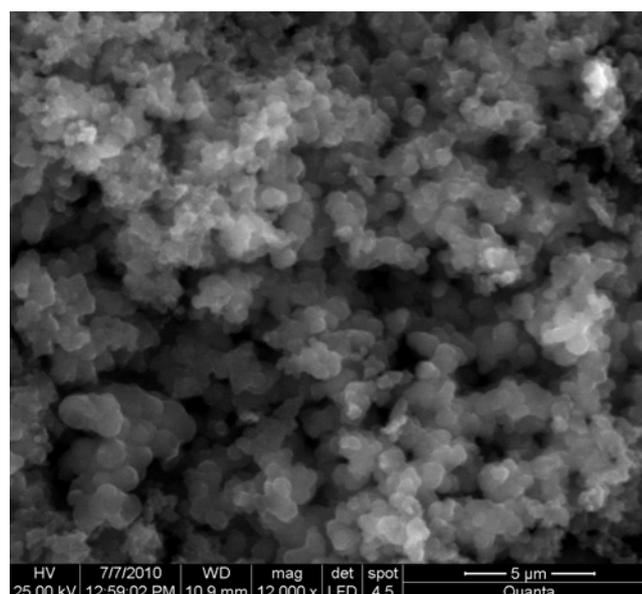


Figure III-13 : Micrographie MEB du polypyrrole

## III.2. Caractérisation des matériaux hybrides hydroxyapatite/polypyrrole

### III.2.1. Caractérisation par diffraction des rayons X

La modification doit avoir lieu seulement à la surface d'HAP, si la réaction de modification altère les propriétés de l'HAP comme la cristallinité, l'HAP résultante perd ses propriétés intrinsèques. La confirmation de la réaction de modification sélective sur la surface d'HAP et la préservation de sa cristallinité est important.

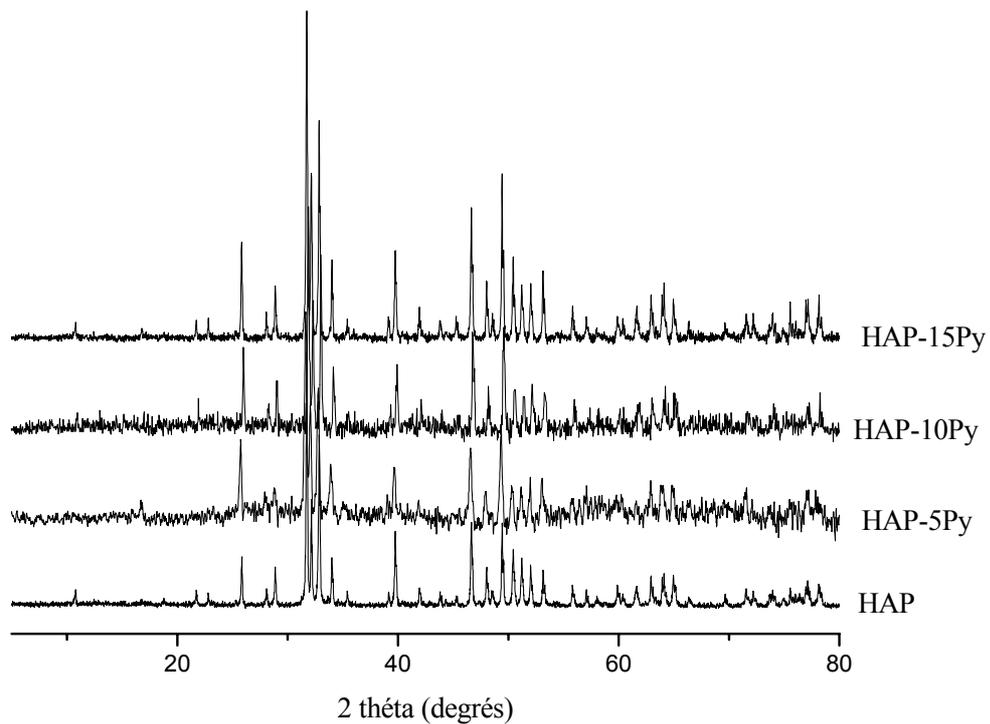


Figure III-14: Diffractogrammes DRX des hydroxyapatites naturelles greffées par le polypyrrole (HAPnat/PPy)

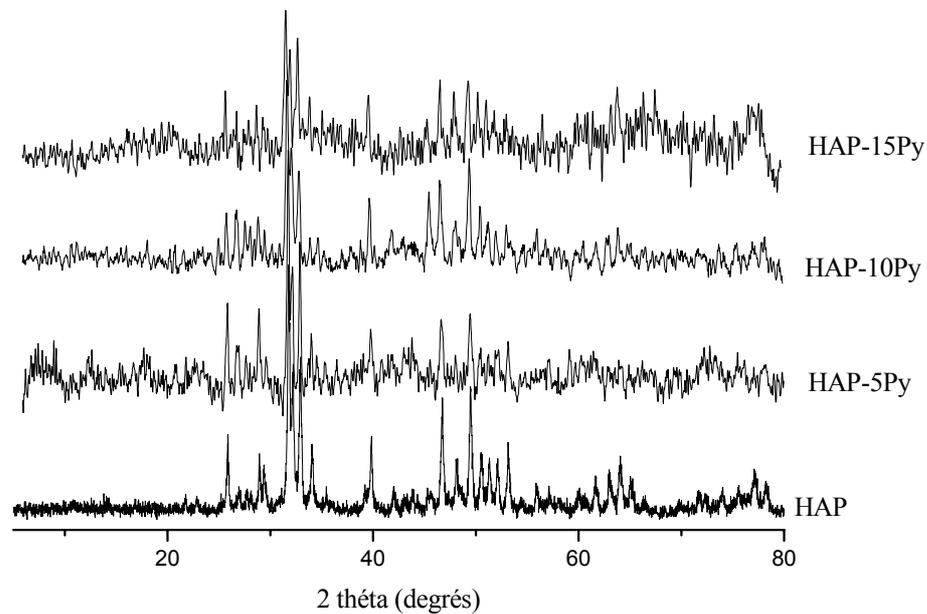


Figure III-15: Diffratogrammes DRX des hydroxyapatites synthétiques greffées par le polypyrrole (HAPsyn/PPy)

Les diagrammes de diffraction de rayons X des matériaux HAP/PPy synthétisés (figures III-14 et III-15) montrent que les pics de diffraction des hydroxyapatites coïncident avec ceux des HAP modifiées. Les pics situés dans les régions  $2\theta = 26$ , [32-34], 40 et [46-54°] indiquent la nature cristalline des cristaux d'HAP, cela montre que les poudres d'HAP modifiées conservent leur structure apatitique quelque soit la composition considérée.

Comme le montre les figures ci-dessus, le greffage du polypyrrole sur la surface des particules d'HAP n'a induit aucun changement dans la phase cristalline de l'HAP, aucune phase secondaire n'a été formée suite à la réaction de modification de surface, cela confirme la sélectivité de la réaction de modification de la surface des particules d'HAP par le polypyrrole.

### III.2.2. Caractérisation par spectroscopie infrarouge

Cette technique de caractérisation nous a permis d'identifier les différents types de vibrations des groupements fonctionnels présents dans les différents matériaux étudiés. Les spectres d'absorption infrarouge des hydroxyapatites naturelle et synthétique modifiées par le polypyrrole sont représentés sur les figures III-16 et III-17 respectivement.

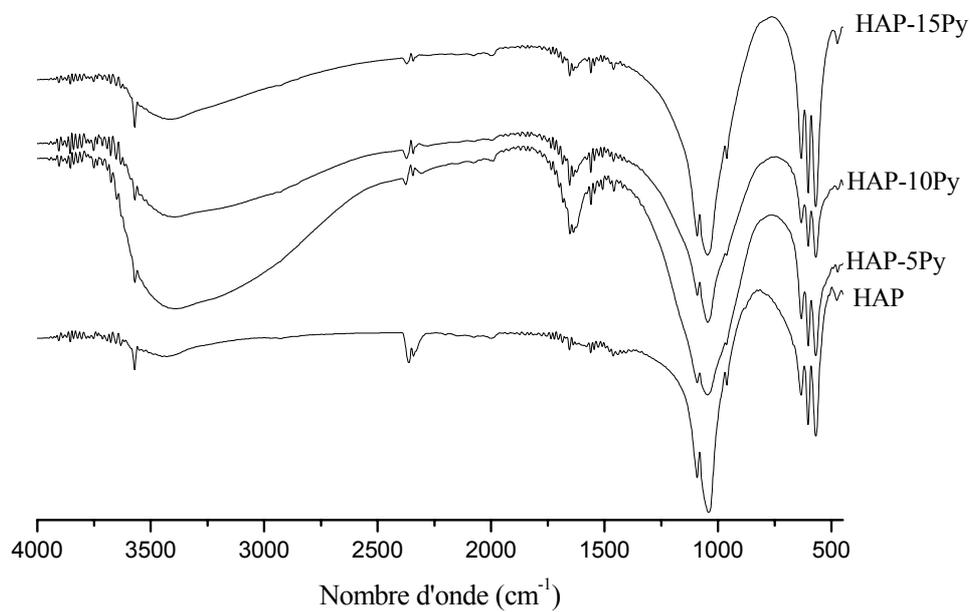


Figure III-16 : Spectres IR de HAPnat/PPy, comparés au spectre de HAP

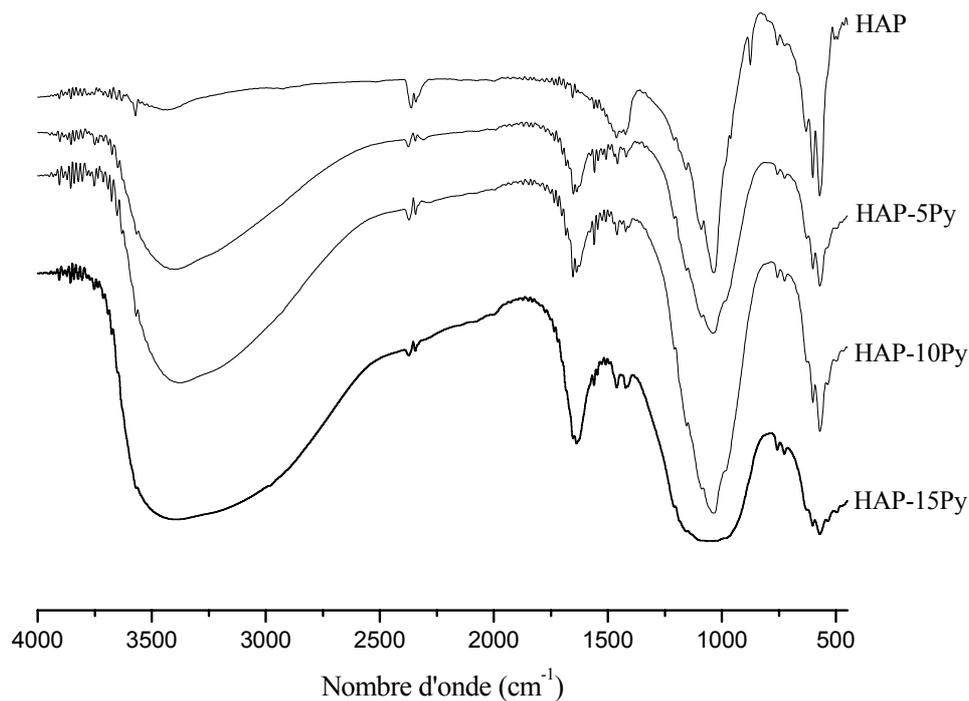


Figure III-17: Spectres IR de HAPsyn/PPy, comparés au spectre de HAP

Sur tous les spectres IR des matériaux étudiés, les bandes de vibration des groupements  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{OH}^-$  sont observées. Nous avons également mis en évidence la contribution des groupements C-N, N-H et C=C du polypyrrole lorsqu'il est greffé sur la matrice apatitique. Cependant la bande liée à la liaison C-N est observée à  $1450 \text{ cm}^{-1}$ , cette bande est chevauchée avec celle associée aux carbonates dans le cas de l'hydroxyapatite synthétique. D'autres nouvelles bandes ont été observées dans le domaine de fréquence [ $1620\text{-}1656 \text{ cm}^{-1}$ ] et vers  $1558 \text{ cm}^{-1}$  attribuables respectivement aux liaisons N-H et C=C.

Nous observons la diminution de l'intensité des bandes de vibration de l'hydroxyle situées à  $631$  et  $3568 \text{ cm}^{-1}$  dans le cas de l'hydroxyapatite synthétique, ceci est observé dans le cas de l'hydroxyapatite naturelle pour les compositions HAP-5Py et HAP-10Py.

### III.2.3. Caractérisation par analyse thermique (ATG/ATD)

L'étude de la stabilité thermique des poudres d'hydroxyapatite greffées par le polypyrrole nous permet de mettre en évidence les transformations cristallines et les transferts de matière mis en jeu au cours du traitement thermique. Des analyses thermogravimétriques couplées à celles des analyses thermiques différentielles (ATG/ATD) permettent d'associer les variations de masse à des phénomènes enthalpiques (endothermiques ou exothermiques), en fonction de la température. Pour ce faire nous avons réalisé ces analyses jusqu'à 800 °C sous un courant de gaz d'azote avec une vitesse de montée en température de 10°C/min. Les courbes d'analyses thermogravimétriques couplées à celles d'analyses thermiques différentielles relatives aux composites hybrides HAPnat/PPy et HAPsyn/PPy sont représentées sur les figures III-18 et III-19 respectivement.

Les thermogrammes ATG des poudres d'HAP greffées par le polypyrrole quelle que soit la composition considérée, se caractérisent par une seule perte de masse associée à la désorption de l'eau adsorbée sur la surface de nos poudres d'HAP et à la phase organique greffée sur la matrice apatitique. Cette perte de masse est enregistrée dans le domaine de température entre 25 et 235°C, cependant les valeurs des pertes de masse associées aux différentes compositions des matériaux hybrides HAP/PPy sont reportées dans le tableau III-1.

Tableau III-1 : Valeurs des pertes de masse des composites hybrides HAP/PPy calculées à partir des courbes d'ATG

| Echantillons | composition | Perte de masse (%) |
|--------------|-------------|--------------------|
| HAPnat/PPy   | HAP-5Py     | 10,168             |
|              | HAP-10Py    | 9,741              |
|              | HAP-15Py    | 10,058             |
| HAPsyn/PPy   | HAP-5Py     | 15,156             |
|              | HAP-10Py    | 15                 |
|              | HAP-15Py    | 16,576             |

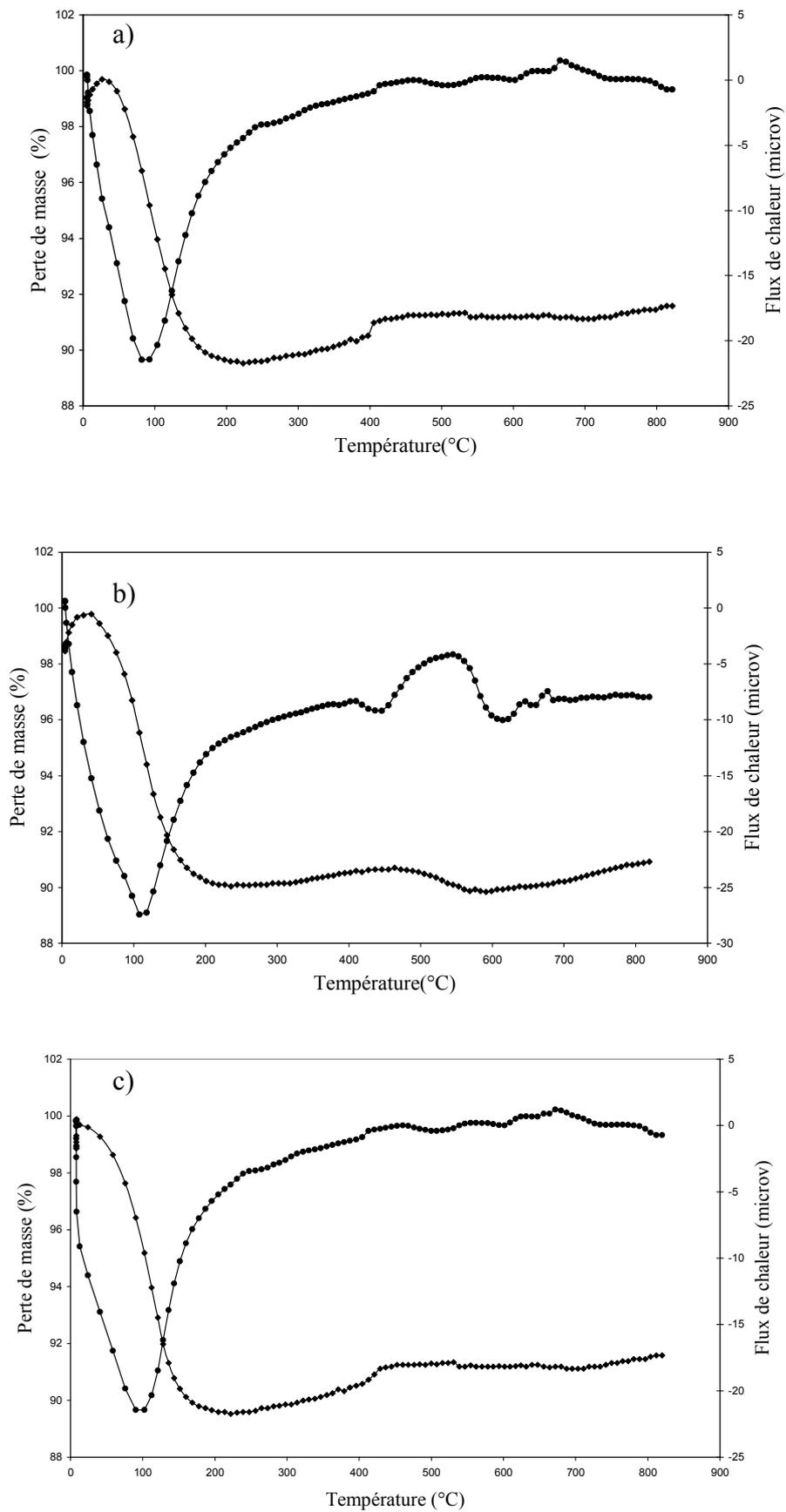


Figure III-18 : Courbes ATG/ATD de : a)HAPnat-5Py b) HAPnat-10Py c) HAPnat-15Py

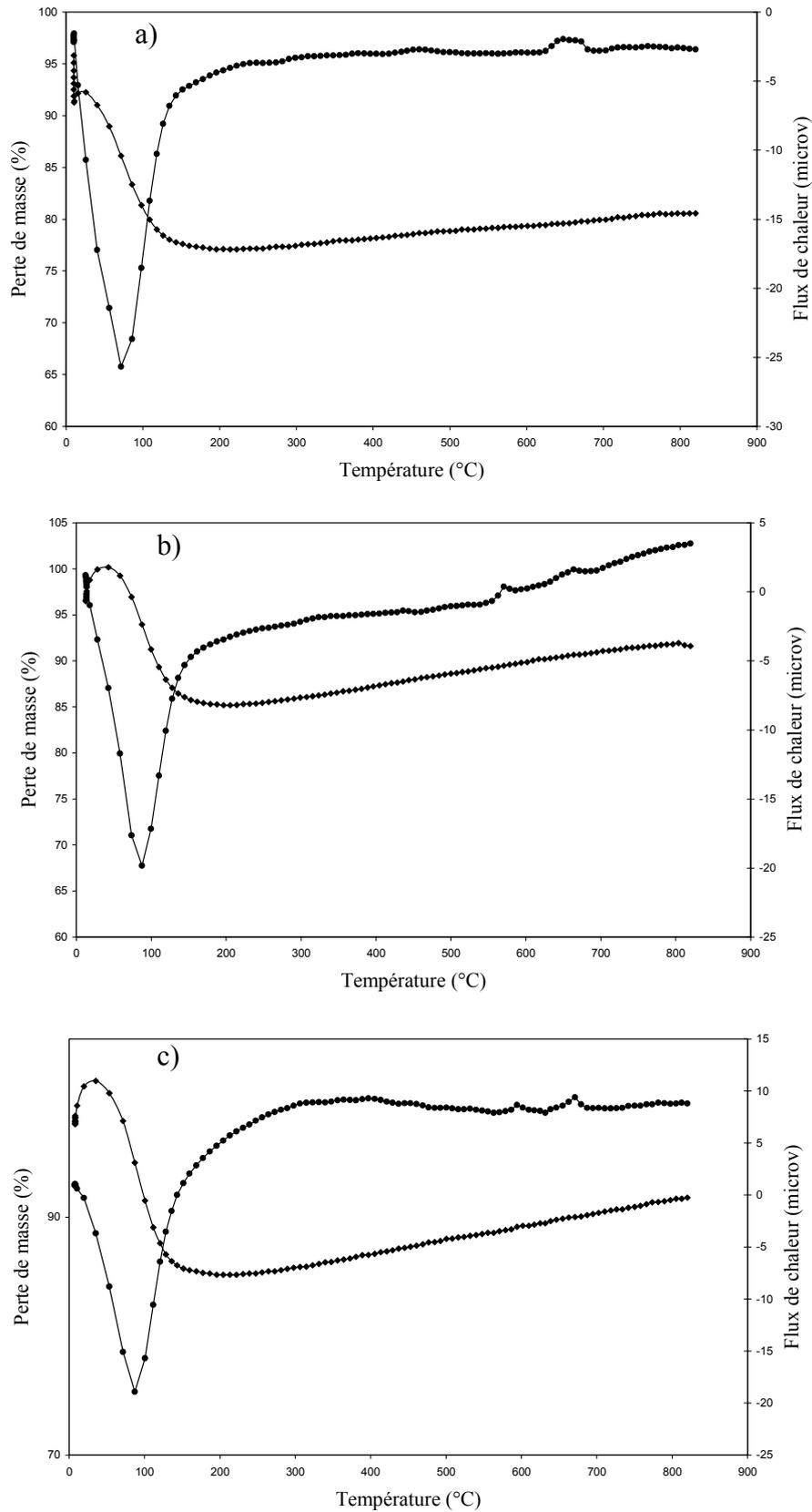


Figure III-19: Courbes ATG/ATD de: a) HAPsyn-5Py b) HAPsyn-10Py c) HAPsyn-15Py

La température maximale à laquelle le polypyrrole se détache de la matrice apatitique est de 235°C comme il a été signalé auparavant. Qui est une température relativement basse, cela suppose que le polypyrrole est lié par des interactions électrostatiques de type Van der waals avec la matrice apatitique. Ce type d'interactions ne nécessite pas beaucoup d'énergie pour les rompre.

D'après les résultats de ce tableau, une perte de masse de ~10 % est obtenue avec l'HAP naturelle par contre une perte de ~15 % est obtenue dans le cas de l'HAP synthétique. L'écart de perte de masse entre les deux poudres d'HAP peut s'expliquer par une différence de surface spécifique, cependant l'HAP synthétique qui possède une surface spécifique élevée peut greffer plus de phase organique par rapport à l'HAP naturelle.

À partir de ces résultats de thermogravimétrie on peut conclure que la quantité de polypyrrole greffée sur la matrice apatitique est indépendante de la quantité de pyrrole introduite initialement dans la poudre d'HAP. Ceci peut être due à la dimension des macromolécules de polypyrrole qui occupent plus d'espace, gênant ainsi le maximum de macromolécules de se greffer sur la surface apatitique. Cependant on peut conclure que le seuil de greffage du polypyrrole sur la matrice apatitique est de 10% pour l'HAP naturelle et 15% pour l'HAP synthétique.

Les courbes ATD mettent en évidence un pic endothermique intense quelle que soit la composition considérée, attribuable au départ des molécules d'eau adsorbées sur la surface de nos poudres d'HAP et au dégagement gazeux lié à la phase organique greffée sur la matrice apatitique.

### **III.3.3. Caractérisation par microscopie électronique à balayage**

La morphologie et la texture des poudres d'HAP dont la surface est modifiée par le polypyrrole sont mises en évidence par microscopie électronique à balayage (figure III-20).

Les micrographies montrent que les poudres d'HAP greffées par le polypyrrole présentent une structure poreuse irrégulière, ces pores peuvent être utiles pour favoriser l'adhésion et l'attachement cellulaire et seront favorables pour les tissus osseux en croissance, en plus cette porosité peut aussi satisfaire les exigences des matériaux supports des tissus osseux d'engineering.

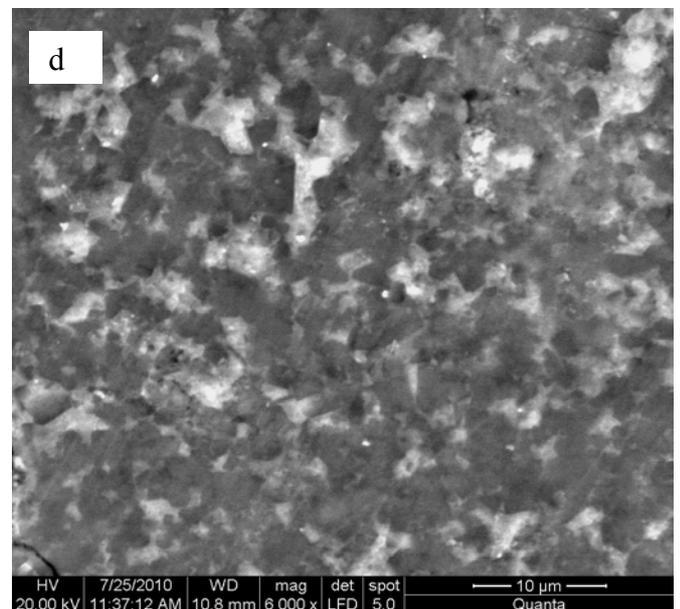
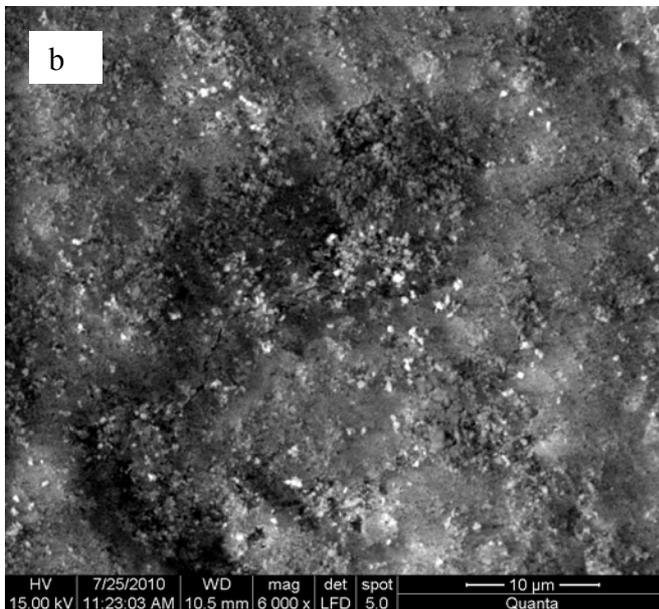
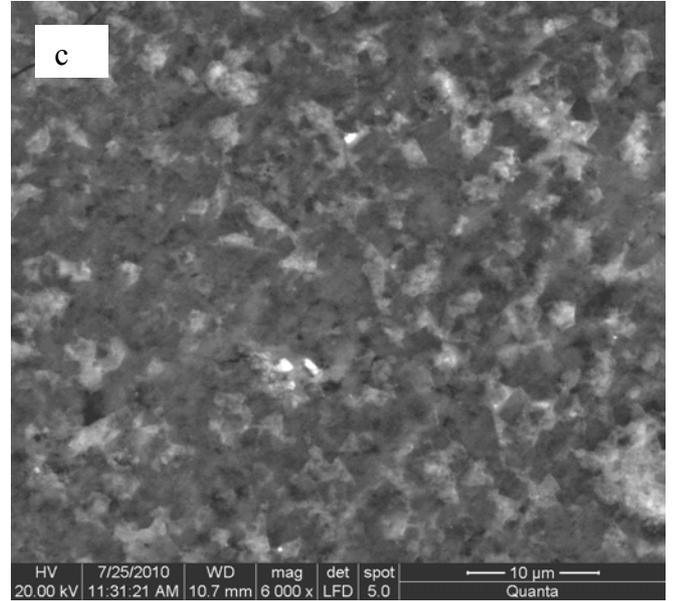
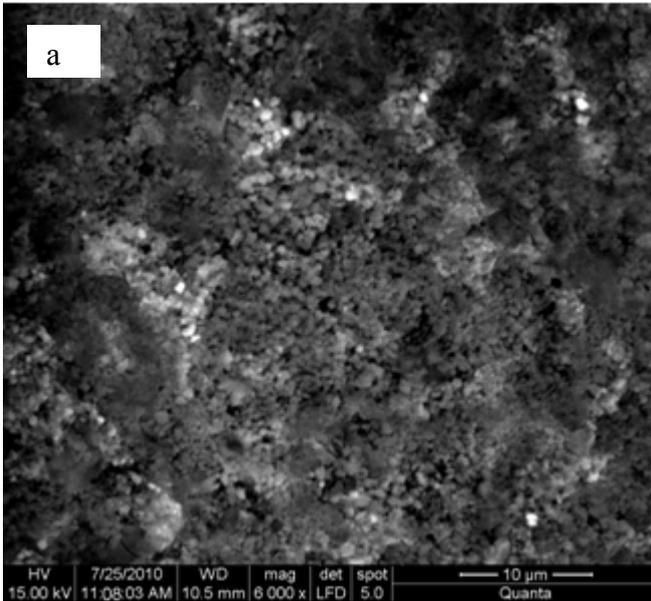


Figure III-20 : Micrographies MEB des composites HAP/PPy  
a) HAPnat-10Py, b) HAPnat-15Py, c) HAPsyn-10Py, d) HAPsyn-15Py

### III.3.4. Mesures structurales (méthode BET)

La surface développée par unité de masse de solide, qui tient compte de toutes les irrégularités de surface qui existent à l'échelle moléculaire est appelée surface spécifique. La mesure de la surface spécifique utilise le procédé d'adsorption en multicouches de gaz d'azote à basse température suivant la théorie de Brunauer, Emmett et Teller (BET). Elle repose sur la détermination de la quantité de gaz nécessaire pour fixer une couche mono moléculaire à la surface du solide. La connaissance du volume de gaz ainsi fixé permet alors de déterminer la surface recouverte, et donc l'aire spécifique du matériau.

Le tableau III-2 présente les surfaces spécifiques mesurées sur les compositions HAP-5Py et HAP-15Py, le tableau porte également leurs rapports molaires calculés à partir des résultats de microanalyse.

Tableau III-2 : Surfaces spécifiques et rapports molaires des poudres d'HAP modifiées

| Echantillon | Composition | Rapport molaire<br>Ca/P | Surface spécifique<br>(m <sup>2</sup> /g) |
|-------------|-------------|-------------------------|---|
| HAPnat/PPy  | HAP-5Py     | 1,24                    | 52,340                                    |
|             | HAP-15Py    | 1,09                    | 107,275                                   |
| HAPsyn/PPy  | HAP-5Py     | 0,93                    | 46,602                                    |
|             | HAP-15Py    | 0,46                    | 112,887                                   |

Les valeurs des surfaces spécifiques mesurées sur les poudres d'HAP modifiées témoignent d'une nette augmentation, vraisemblablement due à la présence des particules de polypyrrole sur la surface des poudres d'HAP qui ont créé une certaine dispersion entre les particules d'HAP, cette dispersion est due aux liaisons hydrogène entre l'hydrogène du groupement hydroxyle de la matrice apatitique et l'azote du polypyrrole (figure III-21). Cela rejoint les résultats obtenus en thermogravimétrie.

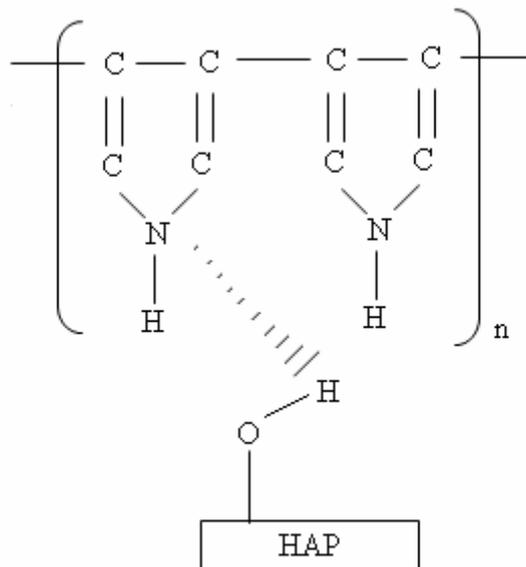


Figure III-21: schéma simple de liaisons hydrogène établies entre l'hydrogène du groupement hydroxyle de HAP et l'azote du polypyrrole

Ce phénomène a été remarqué par Hyung et ses collaborateurs qui ont montrés que le greffage du poly acide vinyle phosphonique sur la surface des particules d'HAP contribue à l'augmentation de leur surface spécifique ceci est dû à la dispersion des particules d'HAP modifiées par répulsion électrostatique entre les groupements P-OH additionnels. Les particules d'HAP tendent à former des agrégats en solution suite aux interactions inter particulaires de type van der waals et aux liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles de l'HAP. Ainsi l'amélioration de la dispersion des particules d'HAP et de leur stabilité colloïdale est important [103].

Quant aux rapports molaires des composites HAP/PPy, ils diminuent en augmentant la quantité de pyrrole introduite dans la matrice d'HAP. Comme l'hydroxyapatite n'est soluble qu'en milieu acide, donc cette diminution est vraisemblablement due à la dissolution des particules d'HAP dans le gaz chlorydrique résultant de la réaction de polymérisation oxydative du pyrrole (figure III-10).

Les rapports molaires Ca/P des compositions HAP-15Py sont inférieurs à ceux des compositions HAP-5Py, vraisemblablement due à la quantité de HCl dégagé au cours de la réaction de polymérisation du pyrrole qui est plus importante dans le cas des compositions HAP-15Py, ce qui engendre des Ca/P plus faible.

D'après les résultats du tableau III-2, on voit bien que la diminution des rapports molaires Ca/P est plus importante dans le cas de l'HAP synthétique, du fait que dans cette dernière il ya présence d'ions carbonate en plus du gaz chlorydrique formé durant la synthèse des composites HAPsyn/PPy. Ces deux constituants provoquent la dissolution des particules d'HAP, ce qui donne des Ca/P faibles par rapports à ceux des compositions HAPnat/PPy où la dissolution des particules d'HAP naturelle est due seulement à la présence de HCl.

*Conclusion*

## Conclusion

Dans la première partie de ce mémoire nous avons effectué des analyses physicochimiques sur un biomatériau de comblement : l'hydroxyapatite. Pour cela deux hydroxyapatites ont été obtenue l'une est synthétique obtenue par le procédé sol-gel et l'autre est naturelle extraite à partir des os de bovins.

L'analyse par diffraction des rayons X a montré la structure apatitique des deux poudres et a révélé uniquement les pics de l'HAP, en outre l'analyse infrarouge a décelé des traces de carbonates dans l'hydroxyapatite synthétique.

L'analyse par microscopie électronique à balayage couplée à l'EDX a révélé une structure dense et des rapports molaires de 1,51 et 1,39 des hydroxyapatites naturelles et synthétique respectivement.

La seconde partie de ce mémoire concerne la modification de la surface de l'hydroxyapatite par greffage du polypyrrole pour cela l'hydroxyapatite synthétique obtenue par le procédé sol-gel et celle extraite à partir des os ont été traitées par différents taux de pyrrole en présence du trichlorure de fer comme oxydant. Au cours de cette étude, nous avons montré qu'il est possible d'obtenir des apatites ayant des surfaces spécifiques importantes par greffage du polypyrrole.

Les analyses physicochimiques des différents matériaux obtenues nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- La présence du polypyrrole sur la surface de l'hydroxyapatite a été confirmée par l'analyse IR.
- La surface des particules d'HAP peut être modifiée par le polypyrrole sans changement de leur structure cristalline.
- La capacité maximale de greffage du polypyrrole sur la surface d'HAP est de 15% pour l'HAP synthétique et 10% pour l'HAP naturelle.
- Le rapport molaire des matériaux HAP/PPy diminue jusqu'à 1,09 pour l'HAP naturelle et 0,46 pour l'HAP synthétique.

- Le greffage du polypyrrole sur la surface d'HAP peut augmenter sa réactivité par augmentation de sa surface spécifique car la surface spécifique des matériaux hybrides obtenus par traitement des poudres d'HAP par 15% de pyrrole est de  $112,887\text{m}^2/\text{g}$  pour l'HAP naturelle et  $107,275\text{m}^2/\text{g}$  pour l'HAP synthétique, cela améliore la propriété osteoconductrice des poudres d'hydroxyapatite.
- Les composites HAP/PPy obtenus peuvent avoir un grand potentiel dans le développement de revêtements bioactifs sur implants métalliques basés sur les polymères conducteurs et dans le développement de supports de tissus d'engineering.

### PERSPECTIVES

Certaines observations, constatées au cours de notre travail, n'ont pu être explorées faute de moyens et afin de maintenir une certaine logique à ce travail, nous proposons des perspectives susceptibles de mettre en valeur nos résultats.

- Etudier les propriétés mécaniques des matériaux hybrides obtenus.
- Incorporer un antibactérien comme l'argent dans le composite hybride HAP/PPy.
- Tester la biocompatibilité des matériaux hybrides organiques-inorganiques préparés afin de les utiliser comme biomatériaux de comblement osseux.

*Références  
bibliographiques*

- 
- [1] E. Dietrich, thèse d'état, université de Rennes 1, synthèse et études physico-chimiques de verres bioactifs denses et poreux. Applications en tant que biomatériaux en sites osseux, 2008.
  - [2] C.Rey, A.Hina, A.Tofighi, Maturation of poorly crystalline apatites:chemical and structural aspects in vivo and in vitro, *Cells and Materials*, 1995 (5) 345-356.
  - [3] Cahiers d'enseignement de la sofocot n°50, 1-1056 rue Boissonade - 75014 PARIS
  - [4] D. F. Williams, *Definitions in Biomaterials*, Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, UK, 1986.
  - [5] S. F. Hulbert, L. L. Hench, D. Forbers, *History of biocéramics*, *Ceramics International*, 1982 (8) 131-140.
  - [6] M. Arioua, thèse d'état, Institut national des sciences appliquées de Lyon, école doctorale des matériaux de Lyon, élaboration et caractérisation d'un substitut osseux poreux à base de verre bioactif, 2007.
  - [7] L. Hench, *Bioactive materials: the potential for tissue regeneration*, Founders Award, Society for Biomaterials 24<sup>th</sup> annual Meeting, San Diego, 1998, 22–26.
  - [8] D. F. Williams, *Tissue Biomaterial interactions*, *Journal of Materials Science*, 1987 (22) 3421-3445.
  - [9] P. Exbrayat, *La biocompatibilité des matériaux dentaires*, *Journal des Biomatériaux Dentaires*, 1998 (13) 177-202.
  - [10] L.G. Donaruma, L. L. Hench, E. C. Ethridge, *Biomaterials - an interfacial approach*, *Journal of Polymer Science: Polymer Letters Edition*, 1983 (21) 677.
  - [11] L. L. Hench, *Bioceramics: From Concept to Clinic*, *Journal of the American Ceramic Society*, 1991 (74) 1487-1510.
  - [12] W. Cao, L. L. Hench, *Bioactive materials*, *Ceramics International*, 1996 (22) 493-507.
  - [13] A. C. Derrien, Thèse d'état, Université de Rennes 1, Synthèse et caractérisation physico-chimique de géopolymères, Application: cinétique de minéralisation de géopolymères et du biomatériau CaCO<sub>3</sub> synthétique, 2004.
  - [14] F.C.M.Driessens, *The mineral in bone, dentine and tooth enamel*, *Bulletin des sociétés chimiques de Belges*, 1980 (89) 663-689.
  - [15] R.Legros, Thèse d'état, Institut National Polytechnique de Toulouse, Apport de la physico-chimie à l'étude de la phase minérale des tissus calcifiés, 1984.
  - [16] H.Yamada, *Strength of biological materials* .Series New York. Editor, 1970.

- [17] D. R.Carter, W. C.Hayes, The compressive behavior of bone as a two-phase porous structure, *Journal of Bone Joint Surgery*, 1977 (59) 954 - 962.
- [18] R.G.Craig, F.Peyton, Elastic and mechanical properties of human dentin, *Journal of Dental Research*, 1958 (37) 710 - 718.
- [19] R.G.Craig, F.A. Peyton, D.W.Johnson. Compressive properties of enamel, dental cements, and gold, *Journal of Dental Research*, 1961 (40) 936 - 945.
- [20] F.G. Evans, *Mechanical properties of bone*, Series Illinois, Editor, 1973.
- [21] L.Teot, J.VidaL, J.Dossa, *Le tissu osseux*, *Biologie de l'appareil locomoteur*, Eds. (1989), Montpellier.
- [22] O. Britel, thèse d'état, faculté des sciences de Rabat, université Mohammed V-AGDAL Rabat, *Modélisation et optimisation par la méthodologie des plans d'expériences de la synthèse : de l'hydroxyapatite phosphocalcique, du phosphate tricalcique apatitique et du phosphate de calcium apatitique carbonate* (2007).
- [23] J.C.Elliot, *Structure and chemistry of the apatite and other calcium orthophosphates* Series, 1994, Amsterdam, Elsevier Editor.
- [24] R.Legros, N.Balmain, G.Bonel, Structure and composition of the mineral phase of periosteal bone, *Journal of Chemical Research*, 1986 (5) 8 - 9.
- [25] W.F.De jong, *La substance minérale dans les os*, *Recueil des Travaux Chimiques. Pays-Bas*, 1926 (45) 445-448.
- [26] K.De groot, *Ceramic of calcium phosphates: preparation and properties*, K.De Groot ed, *Bioceramics of Calcium Phosphates*, CRC Press, Boca Raton, 1983 100-114.
- [27] M.I.Kay, R.A.Young, A.S.Posner, Crystal structure of hydroxyapatite, 1964 (204) 1050-1052.
- [28] K. Shimazaki, V. Mooney, Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute, *Journal of Orthopaedic Research*, 1985 (3) 301-310.
- [29] K. ioku, K. Yanagisawa, N. Yamasaki, Preparation and characterization of porous apatite ceramics coated with b-tricalcium phosphate, *Bio- Medical Materials and Engineering*, 1993 (3) 137-145.
- [30] G.Montel, *Sur les structures de quelques apatites d'intérêt biologique et leurs imperfections*, *Bulletin de la Société Française de Minéralogie et de Cristallographie* 1971 (94) 300-313.

- [31] C.Rey, M.Freche, M.Heughebaert, Apatite chemistry in biomaterial preparation, shaping and biological behaviour. *Bioceramics*, Volume 4 Edited by W. Bonfield, G.W.asting and K.E. Tanner, (Proceeding of the 4th International Symposium on Ceramics in Medicine, London, UK, September 1991).
- [32] D.C.Moore, M.W.Chapman, D.Manske, The evaluation of a biphasic calcium phosphate ceramic for use in grafting long-bone diaphyseal defects, *Journal of Orthopaedic Research*, 1987 (5) 356-365.
- [33] E.B.Nery, K.L.Lynch, G.E.Rooney, Alveolar ridge augmentation with tri calcium phosphate ceramic, *Journal of Prosthetic Dentistry*, 1978 (40) 668-675.
- [34] MC Andrew, P.Mark, P.W.Gorman, Tricalcium phosphate as a bone graft substitute in trauma preliminary report, *Journal of Orthopaedic Trauma*, 1988 (4) 333-339.
- [35] N.Passuti, G.Daculsi, J.M.Rogez, Macroporous calcium phosphate ceramic performance in human spine fusion, *Clinical Orthopaedics*, 1989 (248) 169-176.
- [36] G.Daculsi, R.Z.Legeros, C.Deudon, Scanning and transmission electron microscopy and electron probe analysis of the interface between implants and host bone:Osseo-coalescence versus osseo-integration, *Scanning Microscopy*, 1990 (4) 309-314.
- [37] G.Daculsi, M.Bagot d'arc, P.Corlieu, Macroporous biphasic calcium phosphate efficiency in mastoid cavity obliteration: experimental and clinical findings,*Ann. Otol. Rhinol. Laryngol*, 1992 (101) 669-674.
- [38] F.Gouin, N.Passuti, J.Delecrin, Céramiques macroporeuses en phosphate de calcium : premières applications pour comblement de résections osseuses, 1st European congress of orthopaedics, 1993, 21-23 April 1993, Paris, France.
- [39] F.Gouin, N.Passuti, J.Delecrin, Complements osseux par céramique phospho calcique biphasée macroporeuse : A propos de 23 cas, *Revue de Chirurgie Orthopédique*. 1995 (1) 59-65.
- [40] T.Nakajima, Y.Yoshimura, Y.Nakanishi, Anterior cranial base reconstruction using a hydroxyapatite-tricalciumphosphate composite (Ceratite) as a bone substitute, *Journal of Craniomaxillofacial Surgery*, 1995 (23) 64-67.
- [41] B. Sallek, Thèse d'état, Institut National Polytechnique de Toulouse, Les phosphates de calcium, support potentiels de médicaments implantables: Etude de leur mécanisme de dissolution et d'absorption, Toulouse 1993.
- [42] A.Hina, Thèse d'état, Institut National Polytechnique de Toulouse, Etude de la réactivité en milieu aqueux d'apatites phosphocalciques d'intérêt biologique, 1996.

- [43] S.Náray-Szabó, The structure of apatite  $(\text{CaF})\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_3$ , *Zeitschrift Für Kristallographie*, 1930 (75) 387-398.
- [44] M. Mehmel, Über die Struktur des Apatits (On the structure of apatite), *Z für Kristallographie* 1932 (81) 323-331.
- [45] G.Bonel, Contribution à l'étude de la carbonatation des apatites : Synthèse et étude des propriétés physico-chimiques des apatites carbonatées de type B, *Annales de Chimie*, 1972 (7) 127-144.
- [46] J.C.Trombe, G.Montel, Sur le spectre d'absorption infrarouge des apatites dont les tunnels contiennent des ions bivalents et des lacunes, *Academy of sciences*, 1973 (276)1271-1274.
- [47] J.C.Trombe, G.Montel, Some features of incorporation of oxygen in different oxidation states in the apatitic lattice-I, On the existence of calcium and strontium oxyapatites, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry*, 1978 (40) 15-21.
- [48] J.C.Trombe, G.Montel, Sur les conditions de préparation d'une nouvelle apatite contenant des ions sulfures, *Academy of sciences*, 1975 (280) 567-570.
- [49] A.Bigi, M.Gandolfi, M.Gazzano, Structural modifications of hydroxyapatite induced by lead substitution for calcium, *Journal of Chemical Society*, 1991 (11) 2883-2886.
- [50] M.Okazaki, J.Takahashi, H.Kimura, Crystallographic properties of heterogeneous magnesium-containing hydroxyapatites, *Inorganic chemicals and reaction*, 1992 (11) 59-69.
- [51] M.Okazaki, J.Takahashi, H.Kimura, Comparition of crystallographic properties Mg, Fe, Na,  $\text{CO}_3$ , F and  $\text{Cl}^-$  containing apatites, *Journal of Osaka University Dental School*, 1986 (26) 79-89.
- [52] S.Nadir, J.L.Lacout, Sulfuration des apatites phosphovanadocalciques, *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 1989 (46) 105-112.
- [53] S.A.Bouali, Thèse d'état, Institut National Polytechnique de Toulouse, Etude de la fluoration gazeuse et aqueuse de l'hydroxyapatite, 1993.
- [54] M. Palard, thèse d'état, Université de Limoges, école doctorale science– technologie – santé, faculté des sciences et techniques synthèse et frittage d'hydroxyapatites phosphocalciques silicatées, 2007.
- [55] P. Zhang, Z. Hong, T. Yu, In vivo mineralization and osteogenesis of nanocomposite scaffold of poly (lactide-co-glycolide) and hydroxyapatite surface-grafted with poly (L-lactide), *Biomaterials* 2009 (30) 58–70.

- 
- [56] C. Damia, Thèse d'état, Université Paul Sabatier de Toulouse, Élaboration de poudres et de dépôts d'hydroxyapatite à haute et basse température pour applications biomédicales, 2005.
- [57] M. Montrejaud, C. Rey, J. C. Trombe, Physico-chimie et cristallographie des apatites d'intérêt biologique, colloques internationaux CNRS, Paris, 1975 (1973) 481-486.
- [58] Y. Shikunami, M. Okuno, Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly-L-lactide (PLLA): Part I. Basic characteristics, *Biomaterials* 1999 (20) 859-877.
- [59] D.W. Hutmacher, Polymeric scaffolds in tissue engineering bone and cartilage, *Biomaterials* 2000 (21) 2529-2543.
- [60] K. Balani, R. Anderson, T. Laha, Plasma-sprayed carbon nanotube reinforced hydroxyapatite coatings and their interaction with human osteoblasts in vitro, *Biomaterials* 2007 (28) 618-624.
- [61] A.J.W. Johnson, J. R. Woodard, A. J. Hilldore, The mechanical properties and osteoconductivity of hydroxyapatite bone scaffolds with multi-scale porosity, *Biomaterials* 2007 (28) 45-54.
- [62] H. Qiu, J. Yang, P. Kodali, A Citric acid-based hydroxyapatite composite for orthopedic implants, *Biomaterials* 2006 (27) 5845- 5854.
- [63] S. Deville, E. Saiz, A. P. Tomsia, Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials* 2006 (27) 5480-5489.
- [64] A. Benmoussa, C. Delaurent, J-L. Lacout, Determination of cholecalciferol and related substances by calcium phosphate hydroxyapatite and calcium phosphate fluoroapatite high-performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography A*, 1996 (731) 153-160.
- [65] E. Schröder, T. Jönsson, L. Poole, Hydroxyapatite Chromatography altering the phosphate-dependent elution profile of protein as a function of pH, *Analytical Biochemistry* 2003 (313) 176-178.
- [66] F. Renault, E. Chabrière, J-P Andrieu, Tandem purification of two HDL-associated partner proteins in human plasma, paraoxonase (PON1) and phosphate binding protein (HPBP) using hydroxyapatite chromatography, *Journal of chromatography B*, 2006 (836) 15-21.

- [67] B. Schlatterer, R. Baeker, K. Schlatterer, Improved purification of  $\beta$ -lactoglobulin from acid whey by means of ceramic hydroxyapatite chromatography with sodium fluoride as a displacer, *Journal of Chromatography. B*, 2004 (807) 223-228.
- [68] R. Tahir, K. Banert, A. Solhy, Zinc bromide supported on hydroxyapatite as a new and efficient solid catalyst for Michael addition of indoles to electron-deficient olefins, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 2006 (246) 39-42.
- [69] M. Zahouily, Y. Abrouki, B. Bahlaouan, Hydroxyapatite; new efficient catalyst for the Michael addition, *Catalysis Communications* 2003 (4) 521-524.
- [70] A. Smahi, A. Solhy, H. El Badaoui, Potassium fluoride doped fluorapatite and hydroxyapatite as new catalyst in organic synthesis, *Applied Catalysis A: General* 2003 (250) 151-159.
- [71] S. Wuyts, E. De Vos Dirk, F. Verpoort, A heterogeneous Ru-hydroxyapatite catalyst for mild racemization of alcohols, *Journal of Catalysis* 2003 (219) 417-424.
- [72] M. Hadioui, Thèse et cotutelle, université Toulouse III-Paul Sabatier et université M. Mammeri de Tizi-ouzou, Synthèse d'hydroxyapatite et de silice greffées pour l'élimination de métaux toxiques en solution aqueuse (2007).
- [73] G. Bezzi, G. Celotti, E. Landi, A novel sol-gel technique for hydroxyapatite preparation, *Materials Chemistry and Physics* 2003 (78) 816-824.
- [74] M.Yoshimura, P.Sujaridworakun, F. Koh, Hydrothermal conversion of calcite crystals to hydroxyapatite, *Materials Science and Engineering* 2004 (C 24) 521-525.
- [75] H.S.Liu, T.S.Chin, L.S.Lai, Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method, *Ceramics International* 1997 (23) 19- 25.
- [76] J.Livage, C.Sanchez, sol-gel chemistry, *journal of non-crystalline solids*, 1992 (145) 11-19.
- [77] K.Cheng, S.Zhang, W.Weng, The F content in sol-gel derived FHA coatings: an XPS study, *Surface and Coatings Technology*, 2005 (198) 237-241.
- [78] M.L.Santos, A.O.Florentino, M.J. Saeki, Synthèse d'hydroxyapatite par la méthode sol-gel à partir de précurseurs alternative : le nitrate de calcium et l'acide phosphorique, *Chimie Électrique*, 2005 (30) 29-35.
- [79] C.J.Brinker, G.W.Sherrer, *Sol-Gel Science, the Physic and Chemistry Sol-Gel Processing*, Academic Press, San Diego, 1989.
- [80] J.Livage, P.Barboux, M.Navabi, *Solid State Ionics*, 1989, 131-135.
- [81] M. V. Artemyer, U. Woggon, R. Wannemacher, *Nano letters*, 2001 (309).

- 
- [82] L. Banyai, S.W. Koch, *Semiconductors Quantum Dots*, World Scientific Publishing, Singapore (1993).
- [83] J.N.Hay, D.Porter, H.M.Raval, A versatile route to organically-modified silicas and porous silicas via the non hydrolytic sol-gel process, *Journal of Materials Chemistry* 2000 (8) 1811-1818.
- [84] C.Verwilghen, Thèse d'état, Ecole Doctorale de Chimie, spécialité : Chimie, Biologie, Santé, Fixation des métaux lourds par des phosphates de calcium dans le traitement des fumées d'usines d'incinération d'Ordures Ménagères, 2006.
- [85] E.Hayek, H. Newesely, Pentacalcium monohydroxyorthophosphate (hydroxylapatite), *Inorg Syntheses*, 1963 (7) 63–65.
- [86] L. M. Rodríguez-Lorenzo, M. Vallet-Regí, J. M. F. Ferreira, Fabrication of hydroxyapatite bodies by uniaxial pressing from a precipitated powder, *Biomater*, 2001 (22) 583–588.
- [87] M. Jarcho, C. H. Bolen, R.H.Doremus, Hydroxyapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form, *Journal of the Materials Science*, 1976 (11) 2027–2035.
- [88] L. Bernard, M. Freche, J. L. Lacout, Preparation of hydroxyapatite by neutralization at low temperature-Influence of purity of the raw material, *Powder Technology*, 1999 (103) 19-25.
- [89] L. Bernard, M. Freche, J. L. Lacout, Modeling of the dissolution of calcium hydroxyde in the preparation of hydroxyapatite by neutralization , *Chemical Engineering Science*, 2000 (55) 5683-5692.
- [90] A. Osaka, Y. Miura, K. Takeuchi, Calcium apatite prepared from calcium hydroxyde and orthophosphoric acid, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 1991 (2) 51–55.
- [91] L.J. Jingbing, Y. Xiaoyue, W. Hao, The influence of pH and temperature on the morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method, *Ceramics International*, 2003 (29) 629–633.
- [92] C. C. Silva, A. G. Pinheiro, M. A. R. Miranda, Structural properties of hydroxyapatite obtained by mechanosynthesis , *Solid State Sciences*, 2003 (5) 553–558.

- 
- [93] M.H. Fathi, A. Hanifi, Evaluation and characterization of nanostructure hydroxyapatite powder prepared by simple sol-gel method, *Materials Letters* 2007 (61) 3978-3983.
- [94] A. Bigi, E. Boanini, K. Rubini, Hydroxyapatite gels and nanocrystals prepared through a sol-gel process, *Journal of Solid State Chemistry*, 2004 (177) 3092-3098.
- [95] E. Mavropoulosa, A. M. Rossi, N. C.C. da Rocha, Dissolution of calcium-deficient hydroxyapatites synthesized at different conditions, *Materials Characterization*, 2003 (50) 203-207.
- [96] X. Ranz, Thèse d'état, Institut National Polytechnique de Toulouse, Développement et caractérisation de dépôts d'apatite obtenus par projection plasma sur prothèses orthopédiques, 1996.
- [97] M.D. Grynpas, E. Hamilton, R. Cheung, Strontium increases vertebral bone volume in rats at a low dose that does not induce detectable mineralization defect, *Bone*, 1996 (18) 253-259.
- [98] R.Z. Legeros, J.P. Legeros, O.R. Trautz, Infrared investigation of carbonate substitution in apatite, *Journal of Dental Research* 1964 (43) 751.
- [99] I.R. Gibson, J. Huang, S.M. Best, Enhanced in vitro cell activity and surface apatite layer formation on novel silicon-substituted hydroxyapatites, 12<sup>th</sup> International Symposium on Ceramics in Medicine, Japan, Nara, 1999, 191-194.
- [100] E.M. Carlisle, Silicon: an essential element for the chick, *Science*, 1972 (178) 619-621.
- [101] J.F. Zazzo, Zinc: rôles, carences et aspects thérapeutiques, *Médecine et hygiène*, 1993 (51) 2304-2309.
- [102] A. Abdallah, M. Debbabi, M. Gruselle, Covalent modification of calcium hydroxyapatite surface by grafting phenyl phosphonate moieties, *Journal of Solide State Chemistry*, 2007 (180) 2273-2278.
- [103] H.W. Choi, H. J. Lee, K.J. Kim, Surface modification of hydroxyapatite nanocrystals by grafting polymers containing phosphonic acid groups, *Journal of Colloidal and Interface Science* 2006 (304) 277-281.
- [104] O. C. Jr. Wilson, J. R. Hull, Surface modification of nanophase hydroxyapatite with chitosan, *Materials Science and Engineering* 2008 (C 28) 434-437.

- [105] G. Guerrero, P. H. Mutin, A. Vioux, Anchoring of Phosphonate and Phosphinate Coupling Molecules on Titania Particles, *Chemistry of Materials*, 2001 (13) 4367-4373.
- [106] B. Zhao, J. S. Moore, D. J. Beebe, Pressure-sensitive microfluidic gates fabricated by patterning surface free energies inside microchannels, *Langmuir* 2003 (19) 1873-1879.
- [107] H. Tanaka, M. Futaoka, R. Hino, Surface modification of calcium hydroxyapatite with pyrophosphoric acid, *Journal of Colloidal and Interface Science* 2004 (269) 358-363.
- [108] L.EL Hammari, A.Laghzizil, A.Saoiabi, Chemical modification of porous calcium hydroxyapatite surfaces by grafting phenylphosphonic and phenylphosphite acids, *Colloids and Surfaces A:Physicochem.Eng.Aspects* 2006 (289) 84-88.
- [109] M.K. Herliansyah, M. Hamdi, A. Ide-Ektessabi, The influence of sintering temperature on the properties of compacted bovine hydroxyapatite, *Materials Science and Engineering* 2009 (29) 1674–1680.
- [110] K.Haberko, M.M.Bucko, J.Brzezinska-Miecznik, Natural hydroxyapatite-its behaviour during heat treatment, *Journal of the European ceramic society* 2006 (26) 537-542.
- [111] I.Bogdanoviciene, A.Beganskiene,K.Tõnsuaadu, Calcium hydrtoxyapatite,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$  ceramics prepared by aqueous sol-gel processing, *Materials Research Bulletin* 2006 (41) 1754-1762.
- [112] J.F. Lafon, Thèse d'état, Ecole doctorale Science-Technologie-Santé, Université de LIMOES, Synthèse, stabilité thermique et frittage d'hydroxyapatites carbonatées, 2004.
- [113] Z.Jiang, D.Ge, W.Shi, Apatite/polypyrrole composite prepared by biomimetic process, *Synthetic Metals* 2005 (151) 152-155.
- [114] H.P. Klug, L.E. Alexander,X-Ray diffraction procedures,2<sup>ème</sup> edition, Wiley and Sons, New York, 1974.
- [115] B.D. Cullity, Elements of X-ray Diffraction, 3<sup>ème</sup> edition, Addison-Wesley, New York, 1967.
- [116] R. Jenkins, R.L. Snyder, Introduction to X-ray Powder Diffractometry Wiley and Sons, New York, 1996.

## Résumé

*Ce travail porte sur la synthèse et la caractérisation de deux hydroxyapatites naturelle et synthétique et des matériaux hybrides HAP/PPy à usage de biomatériaux, destinés soit au comblement osseux, soit au recouvrement de prothèses osseuses. Pour cela deux hydroxyapatites ont été obtenue. L'une est synthétique, synthétisée par le procédé sol-gel et l'autre est naturelle, extraite à partir des os de bovins. Les poudres d'HAP ainsi obtenus ont été traitées par différents taux de pyrrole en présence du trichlorure de fer comme oxydant pour la synthèse des composites hybrides HAP/PPy. L'analyse infrarouge a confirmé la modification de surface de l'HAP et l'analyse par diffraction des rayons X a montré la conservation de sa cristallinité. La capacité maximale de greffage du polypyrrole sur la surface des particules d'HAP est indépendante de la quantité de pyrrole introduite initialement dans la matrice apatitique, elle est de 10% pour l'HAP naturelle et 15% pour l'HAP synthétique. Les surfaces spécifiques des poudres d'HAP naturelle et synthétique traitées par 15% de pyrrole sont de 107,275 et 112,887 m<sup>2</sup>/g respectivement tandis que leurs rapports molaires sont de 1,09 et 0,46 respectivement.*

## Abstract

*This work concerns the synthesis and characterization of two natural and synthetic hydroxyapatites and hybrid materials HAP/PPy in view of applications in the biomaterials field, either for bone filling or for the coating of prosthetic devices. For that two hydroxyapatites were obtained. One is synthetic, synthesized by the sol-gel method and the other is natural, extracted from bovine bones. HAP powders thus obtained were treated with different amount of pyrrole in the presence of iron trichloride as an oxidant for the synthesis of hybrid composites HAP/PPy. Infrared analysis confirmed the surface modification of HAP and XRD analysis showed the conservation of its crystallinity. The maximum grafting of polypyrrole particles on the surface of HAP is independent of the amount of pyrrole initially introduced into the apatite matrix, it is 10% for natural HAP and 15% for synthetic HAP. The specific surfaces of powders natural and synthetic HAP treated with 15% of pyrrole are 107,275 and 112,887 m<sup>2</sup>/g respectively while their molar ratios are 1,09 and 0,46 respectively.*