

Etude structurale des substitutions ioniques dans les BCP (Phosphates Calciques Biphases)

Sandrine Gomes^{a,c}, Jean-Marie Nedelec^{a,c}, Edouard Jallot^{b,d}, Christian Bonhomme^{e,f}, Florence Babonneau^{e,f}, Yaroslav Filinchuk^g, Denis Sheptyakov^h et Guillaume Renaudin^{a,c}

^a Clermont Université, ENSCCF, Laboratoire des Matériaux Inorganiques, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

^b Clermont Université, Université Blaise Pascal, Laboratoire de Physique Corpusculaire, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France.

^c CNRS, UMR 6002, LMI, F-63177 Aubière, France.

^d CNRS, UMR 6533, LPC, F-63177 Aubière, France.

^e UPMC Univ Paris 6, LCMCP, F-75231 Paris, France.

^f CNRS, UMR 7574, F-75231 Paris, France

^g Swiss-Norwegian Beam Line, ESRF, F-38043 Grenoble, France.

^h Laboratory for Neutron Scattering, PSI & ETHZ, CH-5232 Villigen, Switzerland.

RESUME

Les céramiques de phosphates calciques biphases sont des biomatériaux intéressants pour le comblement osseux et/ou le traitement de surface de prothèses osseuses. Ces matériaux composés d'hydroxyapatites et de phosphates tricalciques ont une composition chimique proche de la partie minérale osseuse et sont décrits comme acceptant de nombreux cations et anions en substitution. L'introduction de certains éléments pouvant alors avantageusement être utilisée pour contrôler la composition minéralogique et/ou pour apporter des propriétés spécifiques (bactéricide, anti-inflammatoire, facilitant la reminéralisation,...). Le travail présenté ici décrit le comportement des quatre dopants : Mg^{2+} , Sr^{2+} , Zn^{2+} et SiO_4^{4-} . Les résultats mettent clairement en évidence les comportements spécifiques de chacun des dopants, et indiquent que la structure de l'hydroxyapatite n'accepte pas facilement toute sorte d'éléments en substitution (contrairement aux idées généralement admises).

MOTS-CLES : Hydroxyapatite, phosphate tricalcique, substitutions ioniques, affinement Rietveld.

INTRODUCTION

Les apatites, de formule chimique $Ca_{10}(PO_4)_6(F,Cl,OH)_2$, sont une classe de matériaux complexes et variés qui a pris de l'importance du fait de leur rôle biologique. Un des principaux constituants des os et des tissus durs chez les mammifères est un minéral de phosphate calcique dont la structure est extrêmement proche de l'hydroxyapatite (HAp, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$). L'appellation d'apatite biologique réfère à un matériau apatitique carbonaté nanocristallin et non stoechiométrique. La teneur inorganique varie de 65% dans les os à 90% dans l'émail dentaire. L'hydroxyapatite est également rencontrée dans les calcifications pathologiques. Les toutes premières étapes de formation des calculs rénaux impliquent des dépôts d'hydroxyapatite carbonatée nanocristalline, communément appelés plaques de Randall, qui sont considérés comme les centres de nucléation des calculs rénaux.

La croissance de l'apatite peut également être induite lors de l'utilisation d'implants composés de matériaux synthétiques bioactifs. Ces biomatériaux jouent un rôle majeur dans l'industrie des prothèses osseuses artificielles et comme traitement de surface des implants chirurgicaux.

Ces différents exemples font appel à la croissance d'apatites substituées nanocristallines en contact avec des tissus et/ou des fluides biologiques. Il s'agit du point central de cette étude qui consiste à déterminer le rôle structural (d'un point de vue cristallographique) joué par les ions susceptibles de rentrer dans la composition chimique des biomatériaux apatitiques. Ces dopants pouvant être soit amenés volontairement lors de la synthèse du matériau (par exemple pour améliorer les propriétés bactéricide, anti-inflammatoire ou la solubilité), ou bien peuvent provenir du milieu biologique après implantation. Les exemples décrits ici concernent les alcalino-terreux Mg^{2+} et Sr^{2+} , les silicates SiO_4^{4-} et Zn^{2+} . Les matériaux investis sont des

BCP ; des phosphates calciques biphasiques. Il s'agit d'un mélange d'HAp et de β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (appelé β -TCP). Cela permet de conjuguer une composition chimique proche de celle de la partie minérale osseuse (avec un rapport Ca/P proche de 1.67) et une solubilité intéressante pour une bio-reminéralisation autour de l'implant (la solubilité du β -TCP étant plus importante que celle de l'HAp).

Les matériaux sont préparés ici (principalement) par voie sol-gel afin d'obtenir une parfaite dispersion de l'élément dopant dans la matrice [1], et sont ensuite calcinés à haute température pour favoriser leur cristallisation afin de pouvoir les étudier par les méthodes de diffraction (rayons X de Laboratoire, source synchrotron et neutrons). L'étude présentée est une synthèse de plusieurs études réalisées sur le dopage des BCP qui ont été détaillées antérieurement dans des articles : dopage au strontium [2,3], dopage au magnésium [4], dopage au silicium [5] et dopage au zinc [6].

1. PARTIE EXPERIMENTALE

1.1. Synthèses par voie sol-gel

Les substitutions cationiques (Mg^{2+} , Sr^{2+} et Zn^{2+}) sont réalisées par voie sol-gel. Pour préparer 2 g de poudre de phosphate calcique non dopé, 4.7 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich, pureté : 99 %) et 0.84 g de P_2O_5 (Avocado Research Chemicals, pureté : 99 %) sont dissous dans l'éthanol sous agitation et reflux à 85°C pendant 24h. Ensuite la solution est maintenue à 55°C pendant à nouveau 24h, jusqu'à obtention d'un gel consistant blanc avant de chauffer à 80°C pendant 10 h pour former une poudre blanche. Les poudres ainsi obtenues subissent des traitements thermiques (jusqu'à 1100°C) pendant 15h. Pour préparer les phosphates calciques substitués, les quantités nécessaires de $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ (Aldrich, pureté : 99.9 %), $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich, pureté : 99.999 %) et/ou $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Accros Organics, pureté : 99 %) ont été introduits dans la solution, en même temps que $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. Les compositions visées correspondent à une substitution des cations divalents pour former des HAp stoechiométriques : $\text{Ca}_{10-x}\text{M}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (avec $\text{M} = \text{Mg}, \text{Sr}, \text{Zn}$) avec un rapport $(\text{Ca}+\text{M})/\text{P} = 1.67$. Du fait du rôle stabilisant des ions dopant pour d'autres phosphates calciques (notamment β -TCP), ou d'une loi de substitution différente de celle prévue (cas de Zn) les échantillons obtenus ne sont généralement pas des HAp monophasés, mais correspondent à des BCP (phosphates calciques biphasiques composés d'un mélange de HAp et β -TCP).

1.2. Synthèses en solution aqueuse

Les échantillons de phosphates calciques substitués en silicate ont été préparés par précipitation en solution aqueuse. Cette technique utilisant la réaction de neutralisation acido-basique est de loin la plus couramment décrite dans la littérature pour la synthèse de HAp dopés en silicium. Les réactifs sont l'hydroxyde de calcium $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Riedel-de-Haën), l'acide orthophosphorique H_3PO_4 (Sigma Aldrich) et l'acétate de silicium $\text{Si}(\text{CH}_3\text{COO})_4$ (Aldrich). La précipitation est réalisée à température ambiante et le pH est maintenu à 10.5-11 par ajout de solution d'hydroxyde d'ammonium. Après ajout des réactifs, la suspension est vieillie au cours de la nuit. Le précipité formé est filtré et séché une nuit à 80°C. Les poudres ainsi obtenues subissent des traitements thermiques (jusqu'à 1100°C) pendant 15h. Les quantités introduites d'acétate de silicium sont calculées en considérant une substitution d'un silicate pour un phosphate et un hydroxyde ($\text{SiO}_4^{4-} \leftrightarrow \text{PO}_4^{3-} + \text{OH}^-$) conduisant aux HAp dopées de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$. Du fait d'une loi de substitution des silicates sur les sites de phosphate plus complexe que celle supposée ci-dessus, les échantillons obtenus sont ici également des BCP.

1.3. Techniques de caractérisation

- Diffractomètre de Laboratoire : l'intégralité des échantillons préparés, à différentes températures de calcination, a systématiquement été analysée par diffraction des rayons X sur un diffractomètre X'Pert Pro, de géométrie θ - θ , équipé d'un détecteur solide X-Celerator, d'un monochromateur arrière en graphite et utilisant une anti-cathode de cuivre ($\lambda_{\text{Cu}} = 1.54184 \text{ \AA}$). Les diffractogrammes sont enregistrés sur la gamme en 2θ de 3° à 120°, avec un pas $\Delta 2\theta = 0.0167^\circ$ et en temps de mesure par pas de 30s (soit plus de 3 h d'enregistrement par diffractogramme). Des mesures sont également réalisées sur un échantillon de silicium pur dans les mêmes conditions expérimentales afin de pouvoir déterminer expérimentalement la fonction de résolution instrumentale pour extraire ensuite les paramètres microstructuraux des échantillons synthétisés (taille de domaine cohérent, taux de contraintes résiduelles).

- Mesures synchrotron : des mesures de diffraction des rayons X sur poudre ont été réalisées sur faisceau synchrotron de la ligne SNBL (Swiss-Norwegian Beam Line) de l'ESRF (Grenoble, France). La poudre est introduite dans un capillaire en verre de 0.3 mm. Les mesures sont réalisées à l'ambiante avec un détecteur Image Plate MAR345 et une longueur d'onde monochromatique $\lambda = 0.71013 \text{ \AA}$. Plusieurs distances échantillon-détecteur sont utilisées (typiquement 150 mm, 350 mm et 450 mm) afin de combiner haute résolution angulaire et large gamme angulaire comme indiqué en Figure 1.

- Mesures neutron : les échantillons dopés au silicium ont été mesurés par diffraction des neutrons sur le diffractomètre haute résolution (160° en gamme 2θ) HRPT de la source SinQ au PSI (Villigen, Suisse). Deux longueurs d'onde ont été utilisées afin de combiner résolution spatiale (en 2θ) et large gamme (en 2θ) : $\lambda = 1.494 \text{ \AA}$ et 1.886 \AA .

- RMN : des spectres RMN ont été enregistrés sur les échantillons dopés au silicium à l'aide d'un spectromètre Bruker AVANCE 300 (7.05 T) et en utilisant des sondes CP MAS Bruker de 7 mm (^{29}Si) et de 4 mm (^{31}P , ^1H). Les spectres ^1H ont été enregistrés avec un temps de recyclage de 5 s ($t(90^\circ) = 5 \mu\text{s}$). Les spectres ^{31}P MAS ont été enregistrés avec une impulsion 45° ($1.9 \mu\text{s}$) et une séquence de polarisation croisée CP MAS (champ RF de spin lock ^{31}P de 52 kHz), et découplage haute puissance ^1H au cours de l'acquisition (découplage SPINAL-64). Des expériences de corrélation hétéronucléaire ^1H - ^{31}P (HETCOR MAS) ont été enregistrées pour un temps de contact de 900 μs (32 scans et 108 incréments t_1). Pour les spectres RMN ^{29}Si MAS, une impulsion 45° a été utilisée avec un temps de recyclage de 60 s. Entre 5000 et 6000 scans ont été accumulés. Une expérience CP MAS ^{29}Si - $\{^1\text{H}\}$ a été réalisée sur un des échantillons avec un temps de contact de 5 ms.

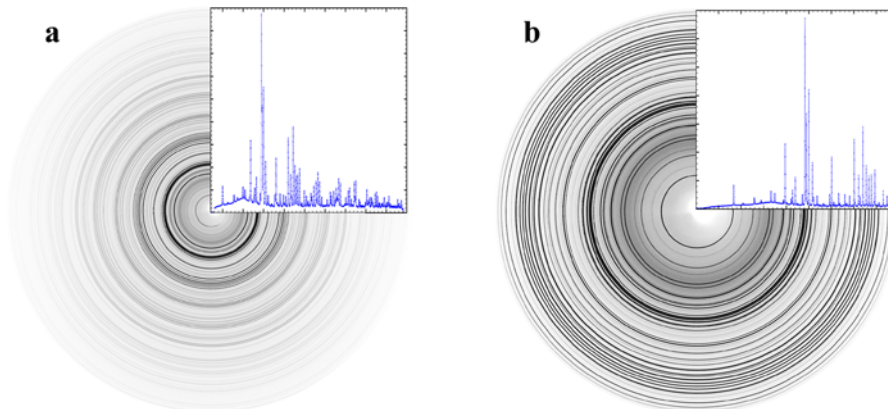


Figure 1. Diffractogrammes obtenus sur faisceau synchrotron après traitement d'images 2D : détecteur MAR 345, $\lambda = 0.71013 \text{ \AA}$, distance échantillon-détecteur 150 mm (a : large gamme angulaire) et 350 mm (b : haute résolution angulaire).

1.4. Affinements Rietveld

L'ensemble des diffractogrammes a été traité par affinement Rietveld à l'aide du programme FullProf.2k [7]. Dans certains cas des affinements conjoints ont été menés afin de stabiliser les cycles d'affinement. Il s'agit notamment des mesures synchrotron (affinements conjoints sur plusieurs distances échantillon-détecteur) et mesures neutron (affinements conjoints sur plusieurs longueurs d'onde neutron et des données de diffraction des rayons X). Les deux principales phases modélisées sont l'HAp et le β -TCP. Cependant d'autres phases mineures ont pu être rencontrées : il s'agit des oxydes CaO, SrO, MgO, ZnO, de la calcite CaCO_3 , de phosphates bicalciques (α - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ et β - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), de α -TCP et de silicocarnotite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2(\text{SiO}_4)$. Les paramètres structuraux initiaux pour les deux phases majoritaires sont les suivants [8,9] : L'hydroxyapatite, HAp, cristallise dans le groupe d'espace $P6_3/m$, $Z = 2$, $a = 9.4218 \text{ \AA}$, $c = 6.8813 \text{ \AA}$ avec 8 positions atomiques indépendantes (2 sites Ca, 1 site P, 4 sites O et 1 site H). La position O4, qui décrit (combiné avec H4) l'anion hydroxyde, a un taux d'occupation de $\frac{1}{2}$ sur le site de Wyckoff 4e. Il s'agit d'un désordre d'occupation statistique de part et d'autre de la position centrale correspondant au site de Wyckoff 2a (0,0, $\frac{1}{4}$). Le β -TCP cristallise dans le groupe d'espace $R3c$, $Z = 21$, $a = 10.4352 \text{ \AA}$, $c = 37.4029 \text{ \AA}$ avec 18 positions atomiques indépendantes (5 sites Ca, 3 sites P, et 10 sites O). Le site Ca5 présente un taux d'occupation de $\frac{1}{2}$ afin de vérifier la stoechiométrie du composé. Au fur et à mesure de cycles d'affinement les différents paramètres sont libérés. La séquence d'affinement est la suivante : 1/ paramètres de maille, 2/ décalage du zéro et paramètres de profils (en utilisant une fonction de résolution instrumentale), 3/ paramètres atomiques (coordonnées, agitation thermique et taux d'occupation), 4/ lorsque cela est nécessaire introduction d'anisotropie dans les paramètres microstructuraux (taille et taux de contraintes). La Figure 2 montre un exemple d'affinement Rietveld obtenu.

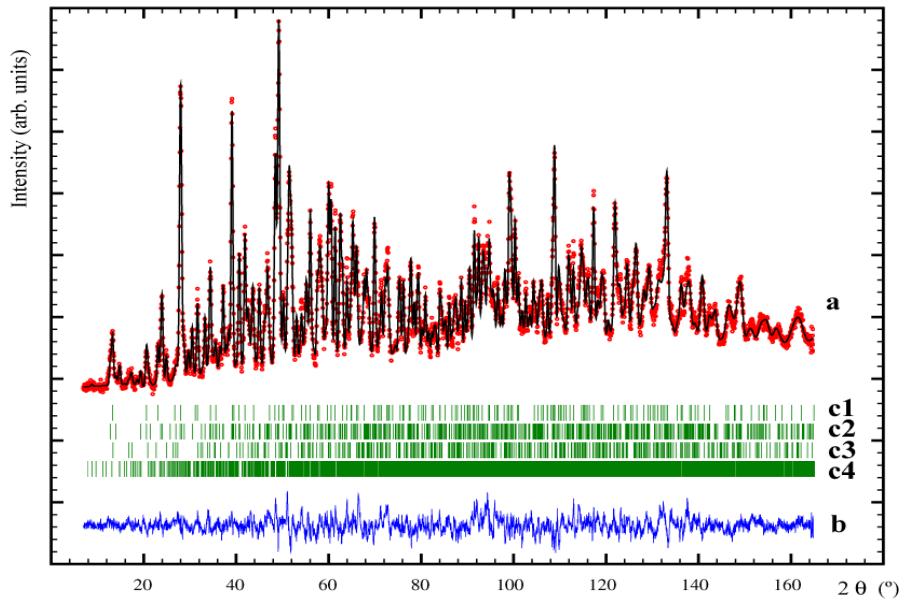


Figure 2. Tracé Rietveld obtenu sur diffractogramme neutron ($\lambda = 1.886 \text{ \AA}$) d'un échantillon fortement substitué en silicium de composition nominale $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5(\text{SiO}_4)(\text{OH})$: diffractogrammes mesuré et simulé (a), courbe différence (b) et position des pics de Bragg pour les phases HAp (c1), silicocarnotite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2(\text{SiO}_4)$ (c2), β -TCP (c3) et α -TCP (c4).

2. DESCRIPTIONS STRUCTURALES DES PHASES MAJORITAIRES

2.1 L'hydroxyapatite

Les atomes de calcium sont alignés le long de l'axe hexagonal (formant des colonnes denses de Ca1 et des colonnes très peu denses de Ca2) et sont entourés de groupements phosphate (6 PO_4 autour de Ca1 et 5 PO_4 autour de Ca2) en formant des canaux dans lesquels sont les anions hydroxyles. Tous les phosphates sont équivalents (1 seul site P) et sont décrit par 3 positions oxygène (O1, O2 et 2xO3). Le site Ca1 est en coordination IX : 3 PO_4 approchent une arête (2 atomes d'oxygène) et 3 PO_4 approchent un sommet (1 seul atome d'oxygène). Le site Ca2 est en coordination VII (pseudo bipyramide à base pentagonale) : 1 PO_4 approche une arête, 4 PO_4 approchent un sommet et 1 hydroxyle est dans le voisinage immédiat. La Figure 3 représente les environnements des sites Ca1 et Ca2.

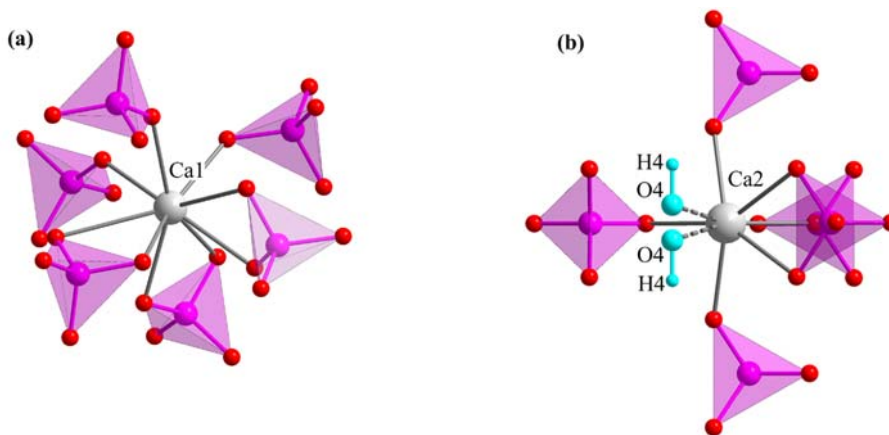


Figure 3. Environnement des atomes de calcium, sites Ca1 (a) et Ca2 (b), dans la structure de l'hydroxyapatite.

2.2 Le β -TCP

Les atomes de calcium sont alignés le long de l'axe trigonal (formant des colonnes denses de Ca1, Ca2 et Ca3 et des colonnes peu denses de Ca4 et Ca5 ; ces colonnes ont été nommées respectivement A et B par Yashima et al. [9]) et sont entourées de groupements phosphate dans différentes configurations. Les trois sites Ca1, Ca2 et Ca3 de la colonne A sont en coordination VIII. Le site Ca1 est proche de 6 groupements

phosphate : 2 approchent une arête et 4 approchent un sommet. Le site Ca2 est dans un environnement similaire à Ca1. Le site Ca3 est proche de 5 groupements phosphate : 3 approchent une arête et 2 approchent un sommet. Les sites Ca4 et Ca5 qui constituent la colonne B sont en coordination VI. Le site 5 est en coordination VI classique (antiprisme à base trigonale) avec 6 phosphates qui approchent un sommet. Le site Ca4 quant à lui présente une coordination inhabituelle de 3+3 : 3 groupements phosphate approchent 1 sommet et 1 groupement phosphate approche une face. Les environnements de ces 5 sites sont représentés en Figure 4.

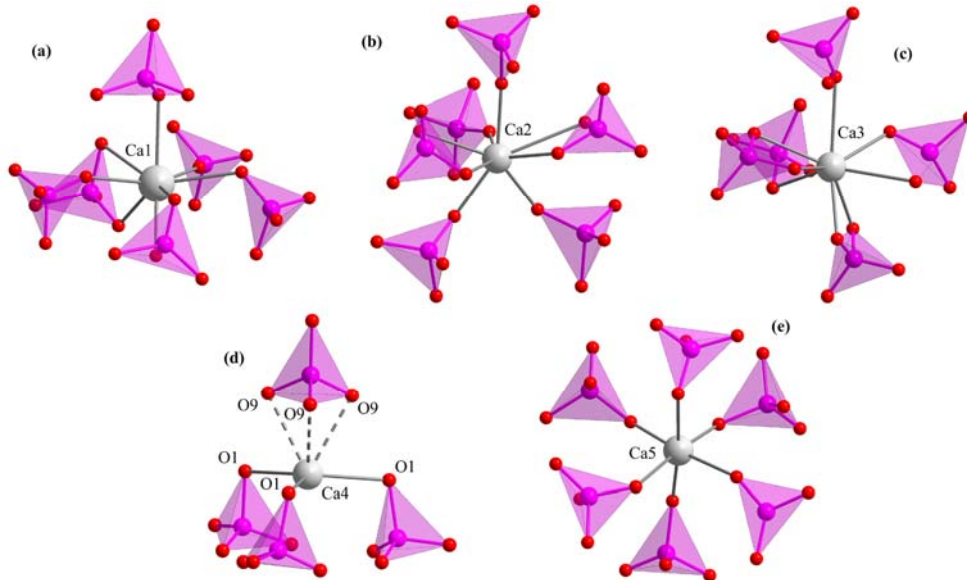


Figure 4. Environnement des atomes de calcium, sites Ca1 (a), Ca2 (b), Ca3 (c), Ca4 (d) et Ca5 (e), dans la structure du β -TCP.

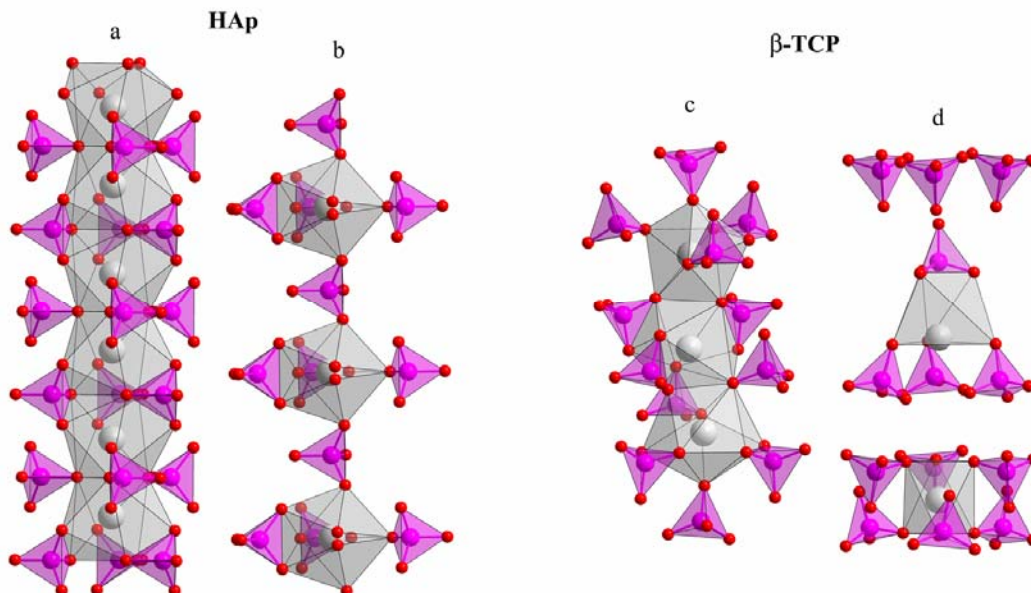


Figure 5. Description en colonnes des structures de HAp et β -TCP : présence de colonnes denses (a et c) et peu denses (b et d).

3. SUBSTITUTION PAR LES ALCALINO-TERREUX

L'insertion des cations Mg^{2+} et Sr^{2+} dans les matériaux apatitiques (pouvant être utilisés comme substituts osseux ou pouvant être appliqués en surface de prothèses osseuses) est intéressante du fait de leurs présences naturelles dans le corps humain (Mg présente la 4^{ème} plus grande concentration cationique après Ca, K et Na, et près de 99% de la quantité totale de Sr présente dans le corps est localisée dans les os) et

du fait de leurs effets positifs sur le comportement du biomatériau (réduire la vitesse de dégradation de phosphates calciques, favoriser la cristallisation de substances minérales, le nombre de sites de nucléation et la densité osseuse : amélioration de l'activité ostéoblaste).

3.1 Insertion de Mg^{2+} dans les BCP

Au cours de la dernière décennie, des études se sont portées sur le comportement d'HAp ou de BCP substitués en Mg. La présence de Mg peut alors permettre de réguler les rapports massiques (HAp/ β -TCP), ainsi que les paramètres microstructuraux (notamment la taille des cristallites). Ces aspects peuvent alors avantageusement être considérés afin d'optimiser les vitesses de dissolution des phosphates calciques pour aider à la minéralisation osseuse autour des implants. Cependant il est nécessaire de regarder de façon très précise où se trouve le dopant utilisé ; est-il réellement inséré dans la structure cristalline de tel ou tel composé, est-il adsorbé à leurs surfaces, se trouve-t-il dans un autre composé ? Une description fine des phases cristallisées obtenue par affinement Rietveld des données de diffraction permet d'obtenir ces informations, et par conséquent de bien interpréter le rôle joué par les dopants.

La Figure 6 met clairement en évidence l'effet stabilisant de Mg^{2+} pour la phase β -TCP. Au fur et à mesure que Mg est introduit en cours de synthèse, la quantité d'HAp diminue au profit de β -TCP. Cet effet est d'autant plus marqué que la température de calcination est haute ; c'est-à-dire quand la cristallinité est grande. L'évolution des volumes de maille des deux phases (rapportés par atome de calcium sur la Figure 7 pour pouvoir directement comparer les comportements de HAp et de β -TCP) montre clairement l'insertion de Mg^{2+} dans la phase β -TCP (diminution du volume de maille lors de l'incorporation de Mg) et non dans la phase HAp (dont le volume de maille n'est pas sensible à l'ajout de Mg en cours de synthèse). La substitution de Mg^{2+} dans la phase β -TCP apparaît plus importante pour les faibles cristallinités ; c'est-à-dire pour des températures de calcination inférieures à 800°C. Les résultats d'affinements Rietveld portant sur les taux d'occupation des différents sites (et notamment sur les rapports Ca/Mg des différents sites de calcium des deux phases considérées) ont clairement identifiés la quasi-absence de Mg^{2+} dans HAp et sa présence dans β -TCP avec une très nette substitution préférentielle sur le site Ca5.

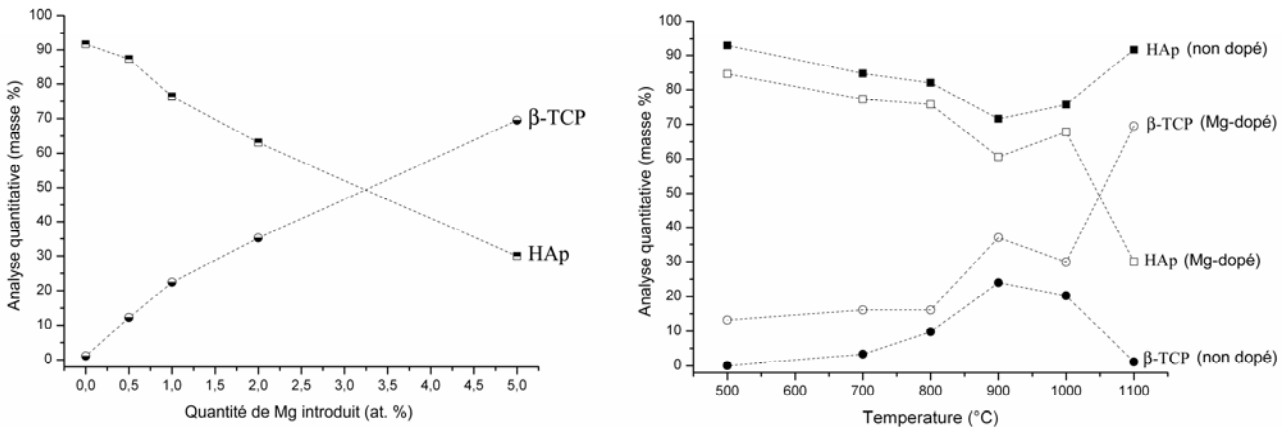


Figure 6. Analyses quantitatives des phases HAp et β -TCP en fonction du taux de Mg introduit (gauche) et en fonction de la température de calcination (droite).

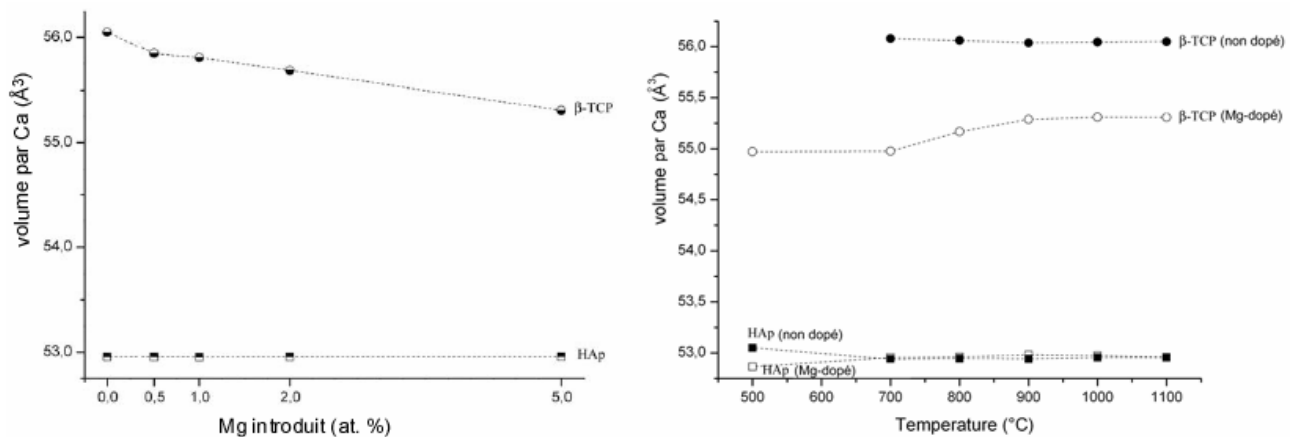


Figure 7. Evolution des volumes de maille, rapportés par atome de calcium, en fonction du taux de Mg introduit (gauche) et en fonction de la température de calcination (droite).

3.2 Insertion de Sr^{2+} dans les BCP

Le suivi de l'évolution des paramètres de maille, ou des volumes de maille (Figure 8), met cette fois-ci en évidence l'insertion de Sr^{2+} dans les deux phases constituant le BCP. Les volumes de maille augmentent, du fait de l'insertion de Sr, aussi bien pour HAp que pour β -TCP. La substitution de Ca par Sr est réalisée préférentiellement sur 1 site cristallographique pour chacune des deux phases (Figure 9). Il s'agit du site Ca2 pour HAp et du site Ca4 pour β -TCP. L'insertion de Sr présente un effet stabilisateur sur la phase β -TCP qui atteint assez rapidement sa limite (Figure 9). En effet, dès 1.5 % atomique de Sr, la teneur massique en β -TCP du BCP atteint la valeur limite d'environ 40 % en masse qui reste ensuite constante. Ceci est corrélé avec un taux de substitution sur le site Ca4 de β -TCP qui atteint également rapidement une valeur limite d'environ 50%.

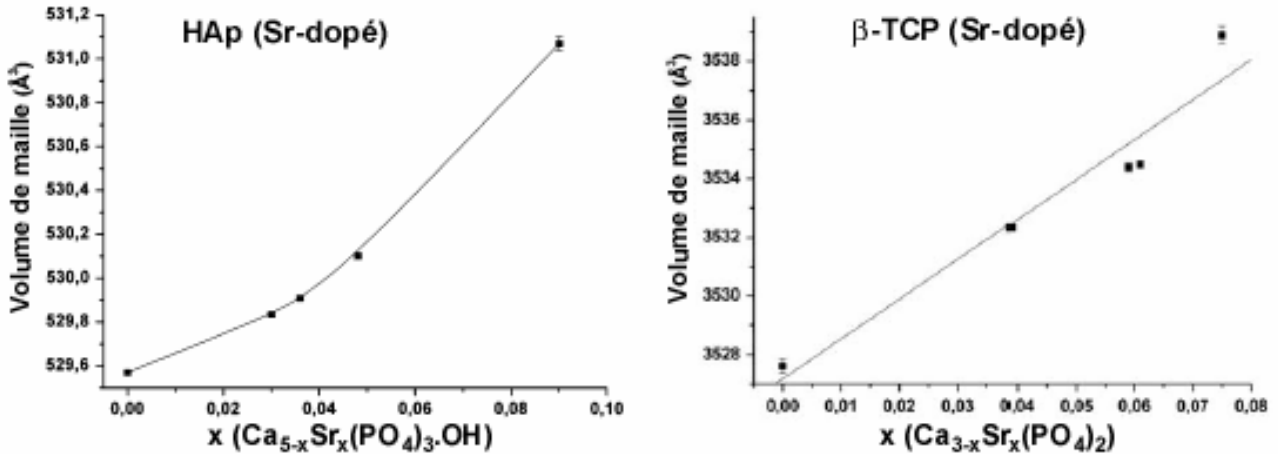


Figure 8. Evolution des volumes de maille de HAp (gauche) et β -TCP (droite) en fonction du taux de Sr introduit.

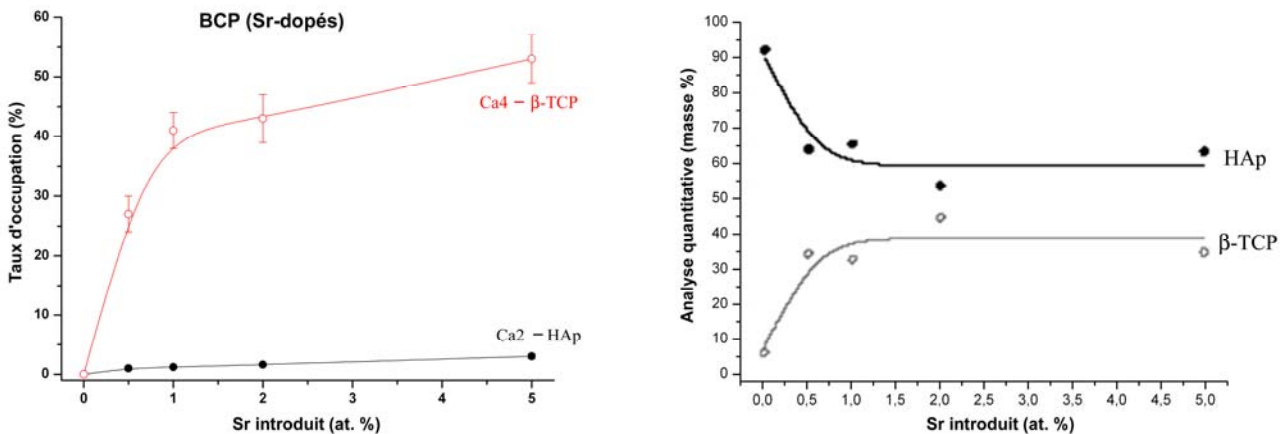


Figure 9. Sites de substitution de Sr (gauche) et analyse quantitative (droite) en fonction du taux de Sr introduit.

3.3 Comparaison des comportements de Mg^{2+} et Sr^{2+}

Les deux cations alcalino-terreux, Mg^{2+} de petite taille et Sr^{2+} de grosse taille en comparaison du cation substitué Ca^{2+} , agissent différemment. Tous deux ont un effet stabilisateur sur la phase β -TCP ; celui-ci semble limité dans le cas de Sr^{2+} et non dans le cas de Mg^{2+} .

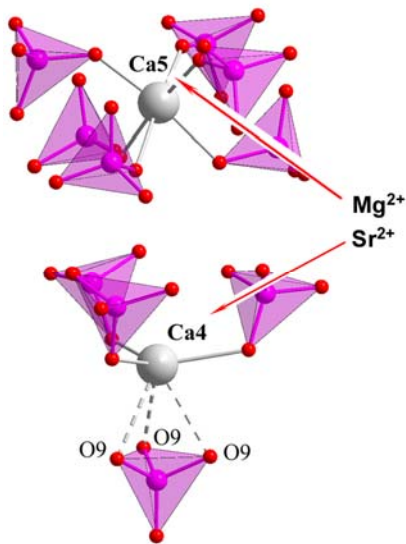


Figure 10. Sites de substitutions préférentielles dans β -TCP

Le gros cation Sr^{2+} va directement se loger dans le site inhabituel Ca4 de la structure de β -TCP. Cette substitution permet le rapprochement du tétraèdre coordonné par une face au site Ca4. La diminution des trois distances Ca4-O9 (Figure 10) stabilise nettement ce site inapproprié à Ca^{2+} , et donc stabilise la structure de β -TCP. La stabilisation de β -TCP est alors effective, malgré le fait que Sr^{2+} substitue également les cations Ca^{2+} dans la phase HAp en accord avec l'existence d'une solution solide totale $\text{Ca}_{10-x}\text{Sr}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (avec la bélovite comme composé limite $\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ [10]). Le petit cation Mg^{2+} quant à lui agit en substituant les cations Ca^{2+} du site proche Ca5. Cette substitution modifie non seulement les positions des groupements phosphate autour du site Ca5, mais se répercute également sur les groupements phosphate autour du site Ca4 et décale légèrement la position de Ca4. Ceci a alors pour effet de diminuer les distances Ca4-O9 et donc de stabiliser ce site Ca4 inapproprié. Des calculs de valence sur ce site montrent que ces distances Ca4-O9 sont trop grandes dans β -TCP non substitué.

4. SUBSTITUTION DE Zn^{2+}

L'insertion de cations Zn^{2+} dans les biomatériaux, aussi bien bio-verres que bio-ceramiques, a montré d'intéressantes propriétés en terme de bioactivité, de propriétés inflammatoires et immunologiques [11-14]. Une étude structurale de HAp dopé en Zn a alors été entreprise afin de connaître son mode de substitution. Il s'est alors avéré que, contrairement à toutes les études préalables réalisées sur le dopage de HAp en Zn, les cations Zn^{2+} ne substituaient pas les cations Ca^{2+} sur leurs sites cristallographiques. Dans le cas de HAp dopé en Zn, on forme une solution solide interstitielle, et non une solution solide de substitution. Des cartes différences de Fourier réalisées au cours des cycles d'affinement ont permis de mettre en évidence un site spécifique pour les cations Zn^{2+} : le site de Wyckoff 2b de coordonnées (0, 0, 0). Les atomes de Zn adoptent alors une coordination 8 (Figure 11), et non pas 4 comme il a été fréquemment décrit dans la littérature. Il est préférable de parler de coordination 2+6 (pseudo bipyramide à base hexagonale) ; avec deux distances Zn-OH courtes (2.06 Å) et 6 distances Zn-O longues (2.92 Å). Ce type de substitution conduit à la formulation chimique suivante : $\text{Ca}_{10}\text{Zn}_x(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_{2x}$. D'autre part il s'est avéré que le taux maximal d'insertion de Zn dans HAp est relativement limité, avec une formule limite de l'ordre de $\text{Ca}_{10}\text{Zn}_{0.25}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{1.50}\text{O}_{0.50}$, conduisant à la formation de BCP. Le maintien d'un rapport (Ca+Zn)/P de 1.67 en début de synthèse est vite pénalisant pour la formation d'HAp, et ainsi β -TCP devient vite la phase majoritaire (Figure 12). L'insertion de Zn dans le composé β -TCP est mis en évidence par la diminution du volume de maille (Figure 12). Il s'agit cette fois-ci d'une substitution Ca^{2+} - Zn^{2+} réalisée sur les deux sites Ca4 et Ca5. Des synthèses réalisées avec un rapport Ca/P = 1.67 et introduction de Zn ont alors effectivement conduit à la stabilisation de la phase HAp, confirmant ainsi la solution solide de type interstitielle.

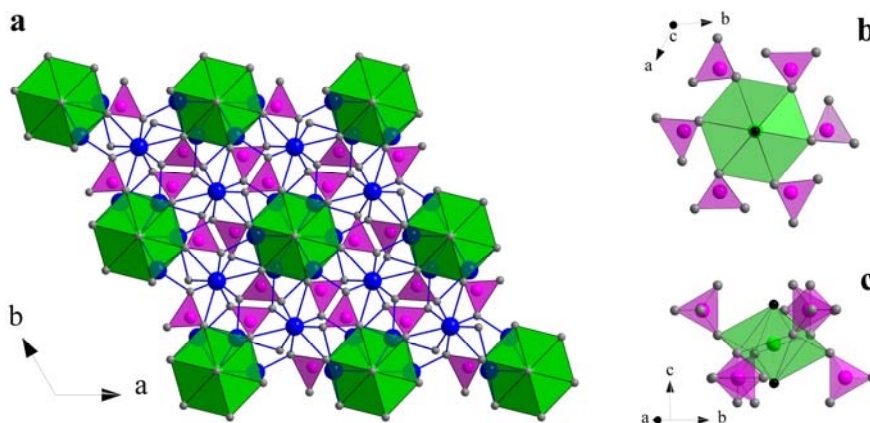


Figure 11. Représentations structurales de HAp dopé en Zn : vue générale (a) et détails du polyèdre de coordination de Zn (b et c). Les sphères bleues, roses, grises et vertes sont les atomes de Ca, P, O et Zn avec les mêmes codes couleurs pour les polyèdres de coordination.

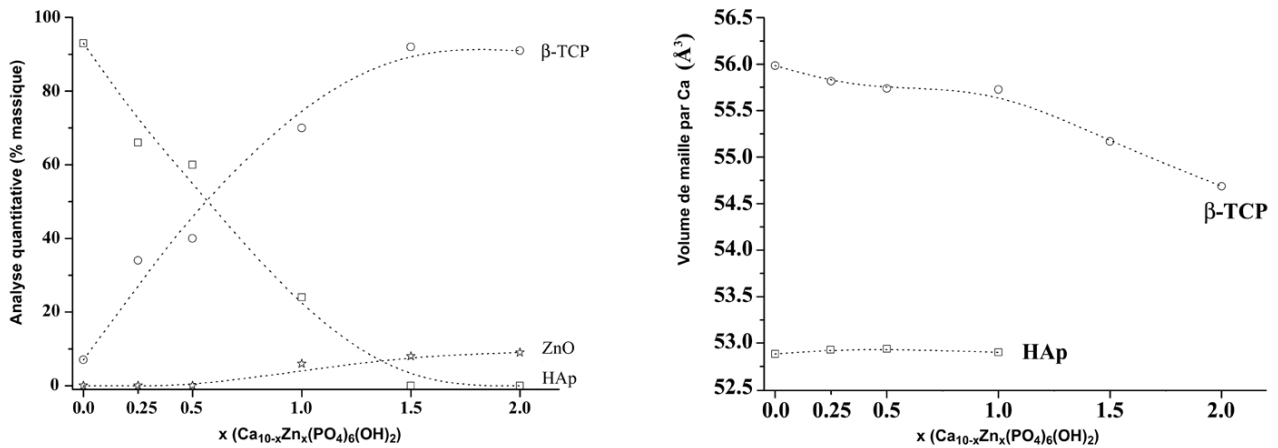
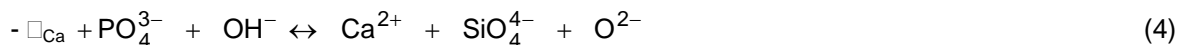
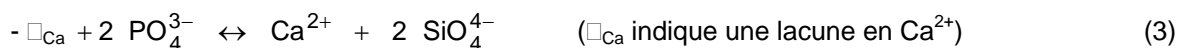
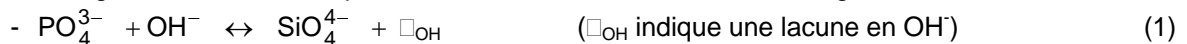


Figure 12. Analyse quantitative et variation des volumes de maille au cours de l'introduction de Zn.

5. SUBSTITUTION DE SILICATE SiO_4

La substitution des tétraèdres de phosphate PO_4^{3-} par des tétraèdres de silicate SiO_4^{4-} est connue dans la structure de HAp. La géométrie de ces deux anions, ainsi que leurs tailles très voisines, ne posent pas de problèmes structuraux. Cependant la différence de charge doit être prise en compte, et un mécanisme de compensation de charge doit être réalisé. La combinaison de signaux spécifiques aux échantillons de BCP dopés-Si en RMN MAS ^{31}P (à 4.6 ppm) et RMN MAS ^1H (à 5 ppm). Ces deux signaux supplémentaires appartiennent à la phase HAp (car le signal ^{31}P à 4.6 ppm persiste lors de mesures CP $^1\text{H} \rightarrow ^{31}\text{P}$) et sont corrélés comme le montre la séquence $^1\text{H} - ^{31}\text{P}$ HETCOR (Figure 13). Il ressort de ces analyses RMN que des anions silicate sont effectivement insérés dans la phase HAp (Figure 14) mais également dans la phase β -TCP et ceci en l'absence de silice amorphe. L'apparition d'un nouveau signal du proton, corrélé à un nouveau signal du phosphore, et dont l'intensité est directement fonction du taux de silicium inséré indique que le proton présent dans HAp (c'est-à-dire l'anion hydroxyle) a modifié son comportement structural. Les déplacements observés pour ces nouveaux signaux seraient alors en accord avec la formation de liaisons hydrogène qui seraient induites par la présence des anions silicate (Figure 14).

Les analyses Rietveld menées sur les taux d'occupation des différents sites de l'HAp (cation, phosphate, silicate et hydroxyle) ont permis de vérifier les lois de substitution possibles entre anion phosphate par anion silicate de charge différentes. Les équilibres de substitution suivant été envisageable :



Seuls les mécanismes (1) et (4) sont compatibles avec les variations des populations observées, notamment la diminution du taux d'occupation des OH^- conjuguée avec l'arrivée des silicates. L'intégralité des évolutions de population (diminution du taux d'occupation des OH^- , avec une augmentation des populations O^{2-} et Ca^{2+}) est uniquement expliquée par le mécanisme (4). La teneur maximale en silicate de la phase HAp a été trouvée expérimentalement à $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{4.9(3)}(\text{SiO}_4)_{1.1(3)}(\text{OH})_{1.7(2)}\text{O}_{0.2(1)}\square_{0.1(1)}$. A teneur plus forte en silicate, cette phase HAp dopée-Si est en équilibre avec la silicocarnotite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_2(\text{SiO}_4)$, dont la formulation chimique correspond au mécanisme de substitution (1) mais qui possède sa propre structure cristallographique.

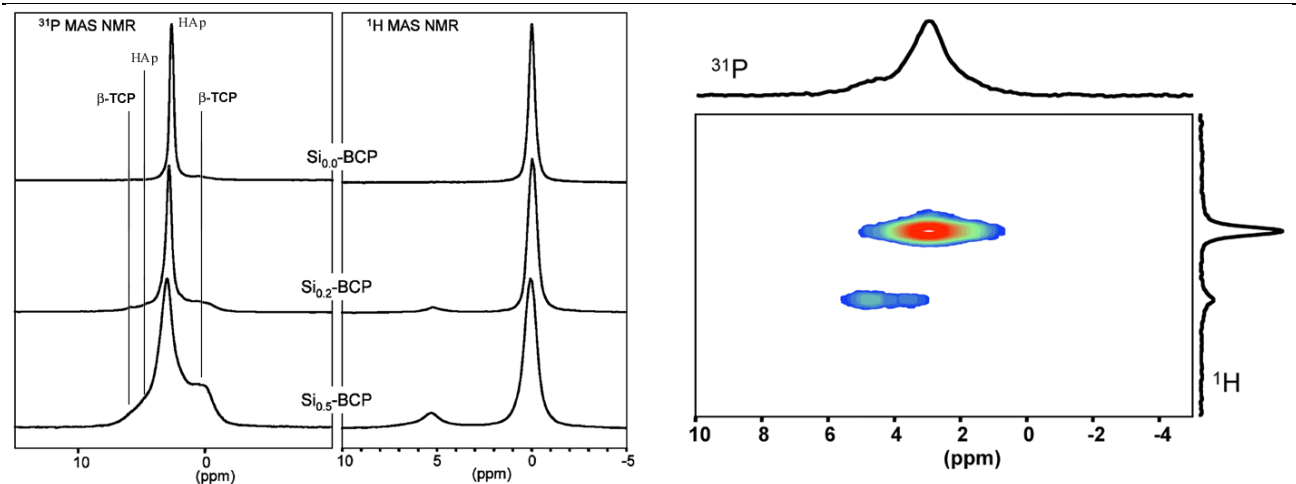


Figure 13. Spectres RMN MAS ^{31}P et ^1H enregistrés sur des échantillons BCP dopé en Si (gauche) et expérience ^1H - ^{31}P HETCOR réalisé sur l'échantillon $\text{Si}_{0.5}\text{-BCP}$ (droite).

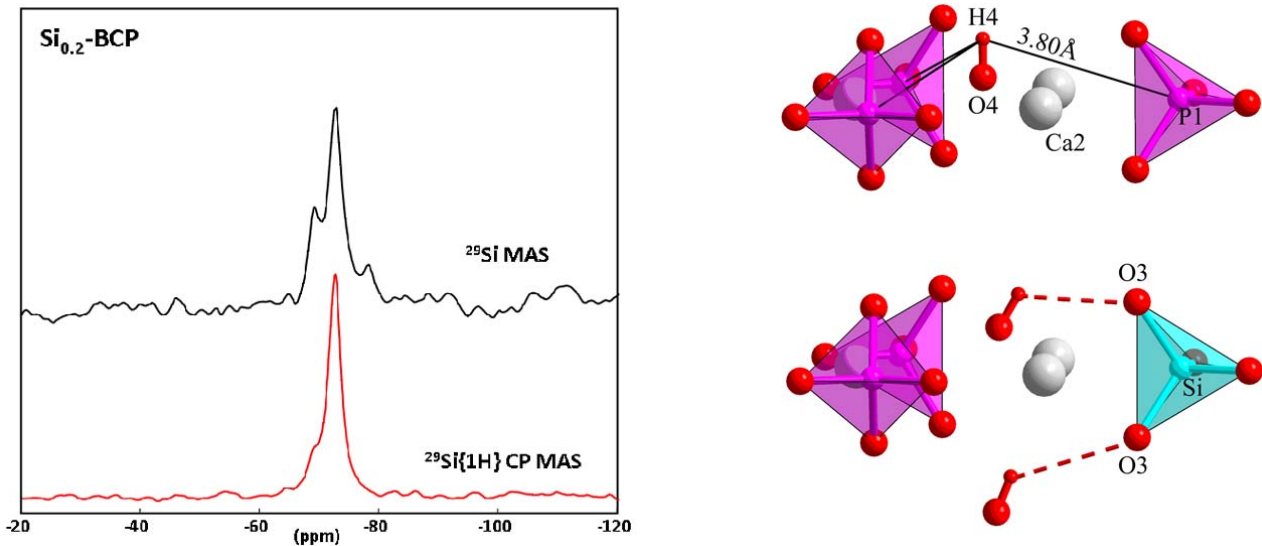


Figure 14. Spectres ^{29}Si MAS et $^{29}\text{Si}\{^1\text{H}\}$ CP MAS (gauche) et interprétation des différents spectres RMN indiquant la formation de liaison hydrogène lors de la présence de silicate (droite).

6. CONCLUSION

Les différentes études structurales menées sur les substitutions rencontrées dans l'HAp ne sont pas aussi évidentes qu'il n'y paraît au premier abord. Les exemples exposés ici, dont les études sont détaillées dans les articles cités en référence [2-6], concernent les substitutions cationiques Mg^{2+} , Sr^{2+} et Zn^{2+} et anionique SiO_4^{4-} . La formation de phosphate tricalcique, sous sa forme $\beta\text{-TCP}$ jusqu'à 1100°C , conduit à l'obtention de BCP ; phosphate calcique bi-phasique. Les rapports Ca/P proches entre HAp et $\beta\text{-TCP}$ (respectivement 1.67 et 1.5), et le rôle stabilisant de $\beta\text{-TCP}$ de certains éléments font qu'il est possible de gérer la composition minéralogique du BCP (i.e. le rapport massique entre HAp et $\beta\text{-TCP}$ en fonction des taux de substitution).

Le gros alcalino-terreux Sr^{2+} , substitue les cations Ca^{2+} sur leurs sites cristallographiques (préférentiellement sur le site Ca2 pour les faibles taux de substitution) et ce jusqu'à formation du composé totalement strontié $\text{Sr}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. La substitution par des cations de plus petite taille se fait de façon totalement différente. L'alcalino-terreux Mg^{2+} ne substitue quasiment pas les cations Ca^{2+} dans la structure HAp. En revanche, les cations Mg^{2+} stabilisent la structure de $\beta\text{-TCP}$ et favorisent donc sa formation au dépend de HAp. Les cations Zn^{2+} de petite taille eux aussi agissent encore différemment. Zn^{2+} pénètre dans la structure de HAp avec formation d'une solution solide d'insertion. Il n'y a pas de substitution $\text{Ca}^{2+} \leftrightarrow \text{Zn}^{2+}$ au niveau des sites de calcium, mais il y a insertion des cations Zn^{2+} dans les sites interstitiels de coordonnées (0,0,0) de géométrie bi-pyramide à base pseudo-hexagonale. Le cas du silicium est forcément différent ; les anions

silicate substituent les anions phosphate dans une proportion relativement importante et la compensation de charge est principalement assurée par la formation de lacunes sur le site d'hydroxyle.

L'ensemble de ces résultats montre qu'il est très important de convenablement caractériser les modes de substitution des différents éléments afin de régler convenablement les protocoles de synthèse et afin d'élucider par la suite le rôle de chacun de ces éléments en milieu biologique. Ces informations structurales sont également importantes pour la caractérisation d'HAp biologiques et de phosphates calciques pathologiques.

REFERENCES

- [1] J.-M. Nedelec, L. Courtheoux, E. Jallot, C. Kinowski, J. Lao, P. Laquerriere, C. Mansuy, G. Renaudin, S. Turrell, 'Materials doping through sol-gel chemistry: a little something can make a big difference', *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 46, 259-271, 2008.
- [2] G. Renaudin, P. Laquerrière, Y. Filinchuk, E. Jallot, J.-M. Nedelec, 'Structural characterization of sol-gel derived Sr-substituted calcium phosphates with anti-osteoporotic and anti-inflammatory properties', *J. Mater. Chem.*, 18, 3593-3600, 2008.
- [3] G. Renaudin, E. Jallot, J.-M. Nedelec, 'Effect of strontium substitution on the composition and microstructure of sol-gel derived calcium phosphates', *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 51, 287-294, 2009.
- [4] S. Gomes, G. Renaudin, E. Jallot, J.-M. Nedelec, 'Structural characterization and biological fluid interaction of sol-gel derived Mg-substituted biphasic calcium phosphate ceramics', *Appl. Mater. Interfaces*, 1, 505-513, 2009.
- [5] S. Gomes, G. Renaudin, A. Mesbah, E. Jallot, C. Bonhomme, F. Babonneau, J.-M. Nedelec, 'Thorough analysis of silicon substitution in biphasic calcium phosphate bioceramics: a multi-technique study', *Acta Biomater.*, 6, 3264-3274, 2010.
- [6] S. Gomes, G. Renaudin, E. Jallot, J.-M. Nedelec, 'Zn²⁺ insertion in calcium phosphate bioceramics revisited', en préparation.
- [7] J. Rodriguez-Carvajal, FullProf.2k, version 3.30; Laboratoire Léon Brillouin (CEA-CNRS): France, 2005.
- [8] L. M. Rodriguez-Lorenzo, J. N. Hart, K. A. Gross, 'Structural and chemical analysis of well-crystallized hydroxyfluorapatites', *J. Phys. Chem. B*, 107, 8316-8320, 2003.
- [9] M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa, 'Crystal structure analysis of beta-tricalcium phosphate Ca₃(PO₄)₂ by neutron powder diffraction', *J. Solid State Chem.*, 175, 272-277, 2003.
- [10] K. Sudarsanan, R. A. Young, 'Structure of strontium hydroxide phosphate, Sr₅(PO₄)₃OH', *Acta Cryst. B*, 28, 3668-36707, 1972.
- [11] F. Velard, D. Laurent-maquin, J. Braux, C. Guillaume, S. Bouthors, E. Jallot, J.-M. Nedelec, A. Belaaouaj, P. Laquerriere, 'Effect of zinc on hydroxyapatite-mediated activation of human polymorphonuclear neutrophils: potential modulatory role in bone implant-associated acute inflammation', *Biomaterials* 31, 2001-2009, 2010.
- [12] F. Velard, D. Laurent-maquin, C. Guillaume, S. Bouthors, E. Jallot, J.-M. Nedelec, A. Belaaouaj, P. Laquerriere, 'Zinc doped hydroxyapatite as immunomodulatory biomaterial', *Inter. J. Artificial Organs*, 32, 457, 2009.
- [13] L. Courtheoux, J. Lao, J.-M. Nedelec, E. Jallot, 'Controlled Bioactivity in Zinc-doped sol-gel binary bioactive glasses', *J. Phys. Chem.*, 112, 13663-13667, 2008.
- [14] A. Grandjean-Laquerriere, P. Laquerriere, E. Jallot, J.-M. Nedelec, M. Guenounou, D. Laurent-Maquin, T. Philips, 'Influence of the zinc concentration of zinc substituted hydroxyapatite on cytokines production by human monocytes in vitro', *Biomaterials*, 27, 3195-3200, 2006.