



## CEISAM

Chimie **E**t **I**nterdisciplinarité: **S**ynthèse, **A**nalyse, **M**odélisation

UMR 6230

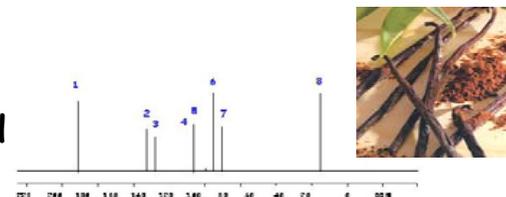
Unité mixte CNRS (INC) / Université de Nantes

Création au 01/01/2008 via le regroupement de trois laboratoires :  
UMR 6513 (ex-LSO), UMR 6006 (ex-LAIEM) et EA 1149 (ex-LSM)

<http://www.sciences.univ-nantes.fr/CEISAM/ceisam.php>

Cinq équipes: savoir-faire centrés autour de **Synthèse**, **Analyse**, et **Modélisation**  
61 permanents

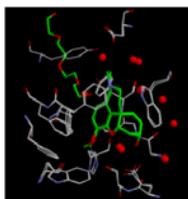
Elucidation de Biosynthèse et  
Spectrométries Isotopiques  
R. Robins, S. Akoka, G. Remaud



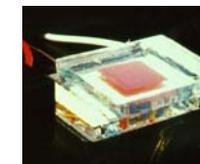
Méthodologies en Chimie  
Organométallique et  
Hétérochimie  
D. Deniaud, J.-P. Quintard



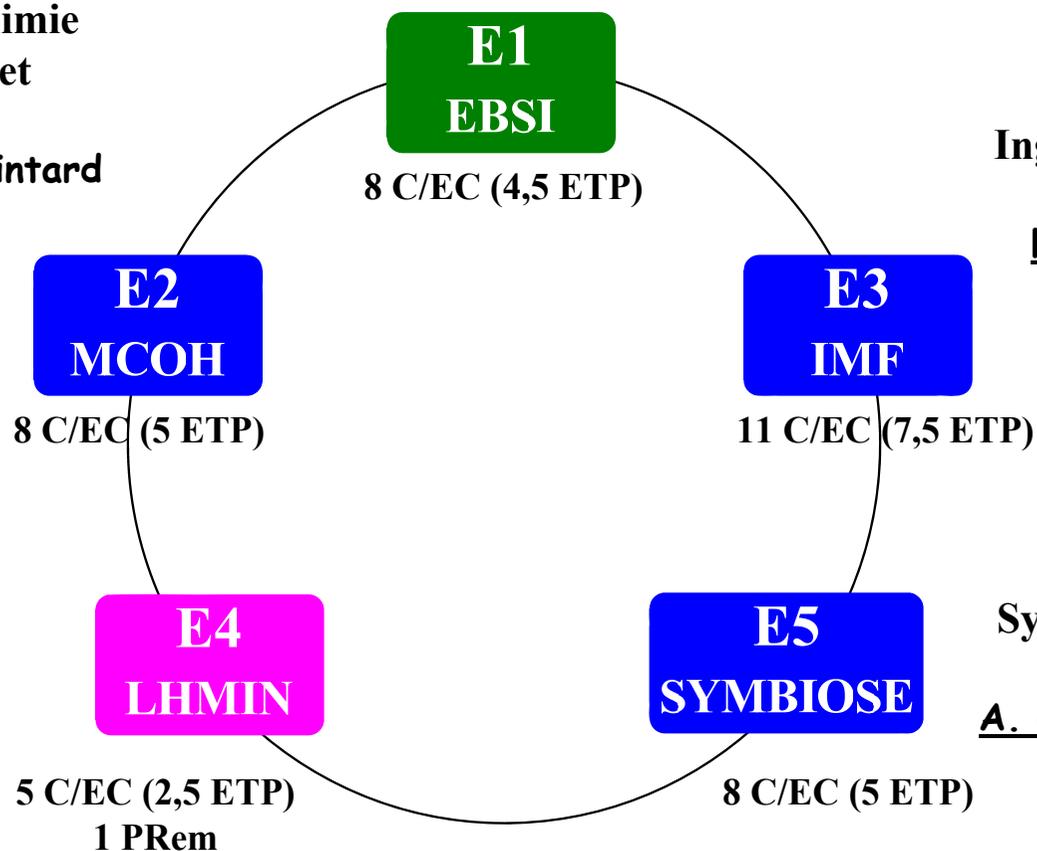
Liaison Hydrogène et  
Molécules d'Intérêt  
Neurobiologique  
J.-Y. Le Questel



Ingénierie des Matériaux  
Fonctionnels  
F. Odobel, B. Bujoli,  
M. Boujtita



Synthèse Multiétapes et  
BIOScience  
A. Guingant, D. Dubreuil,  
J. Lebreton





*Bruno BUJOLI*

## Phosphates de calcium, une chimie au service de l'os

*Journée des Enseignants de Sciences Physiques et Chimiques*  
**15 Juin 2011**



L'homme dispose d'un endosquelette

## Constitution

### Organique

~ 33% (principalement collagène-I)

### Inorganique

~ 67% (principalement apatite biologique)

= stock principal de calcium et de phosphore

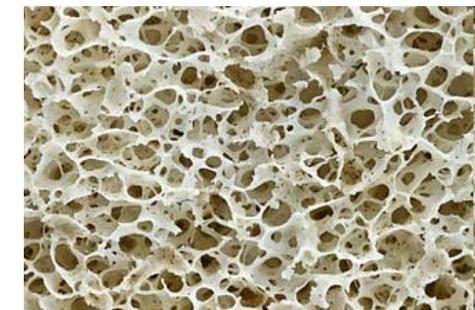
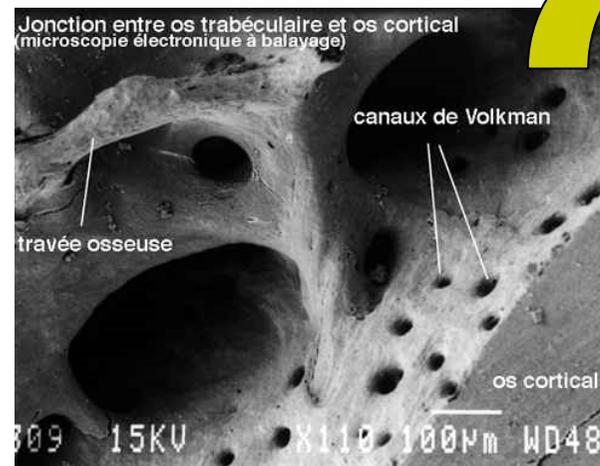


## Arrangement des constituants

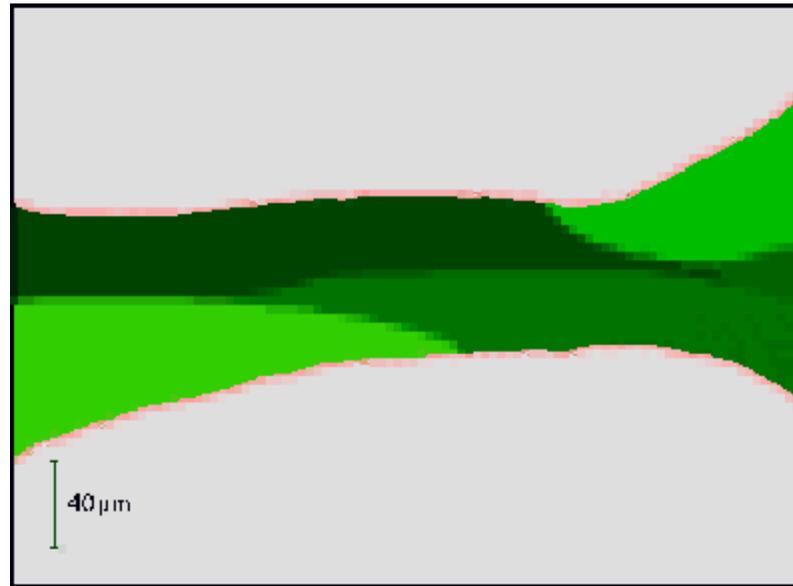
Réseau tridimensionnel à base de fibres de collagène sur lesquelles se déposent des microcristaux d'apatite orientés (structure lamellaire)

→ propriétés mécaniques

- **Os cortical**
- **Os trabéculaire**



## Remodelage osseux assuré principalement par 2 types de cellules: ostéoclastes (résorption) et ostéoblastes (reconstruction)



**Ce phénomène ne permet pas de « réparer l'os endommagé » dans certains cas cliniques:**

- Trauma (défauts de taille critique)
- Cancers osseux
- Maladies dégénératives (en particulier l'ostéoporose)



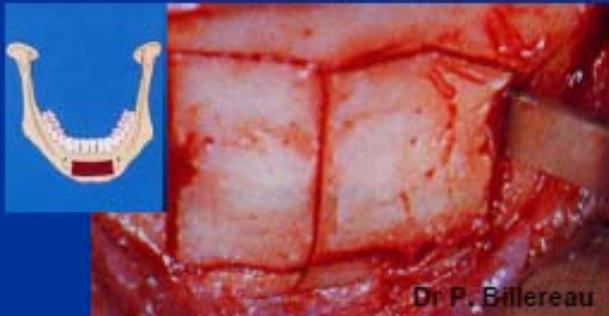
....une solution, les greffes osseuses

# Les greffes osseuses autologues

## Les sites de prélèvement :

### SYMPHYSE MENTONNIERE

*Misch 1992, Cranin 2001*



Dr P. Billereau



Dr P. Billereau



Dr P. Billereau

### CRETE ILIAQUE

*Isono 2002, Matsumoto 2002*



### OS PARIETAL

*Tulasne 1990, Zerbib 1994*



Dr H. Martinez

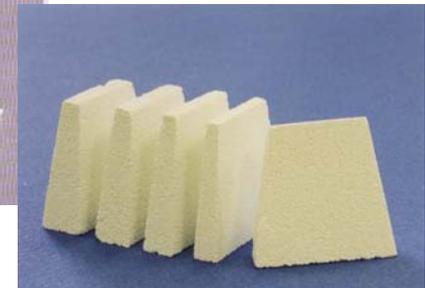
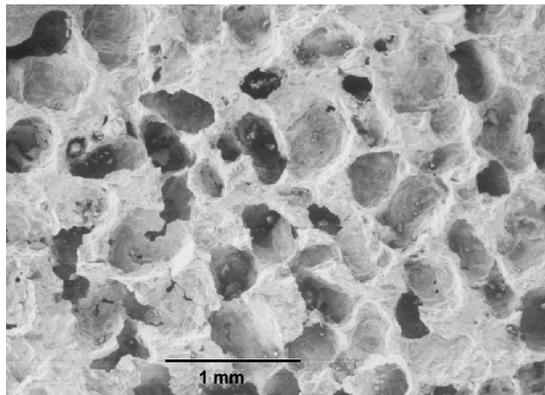
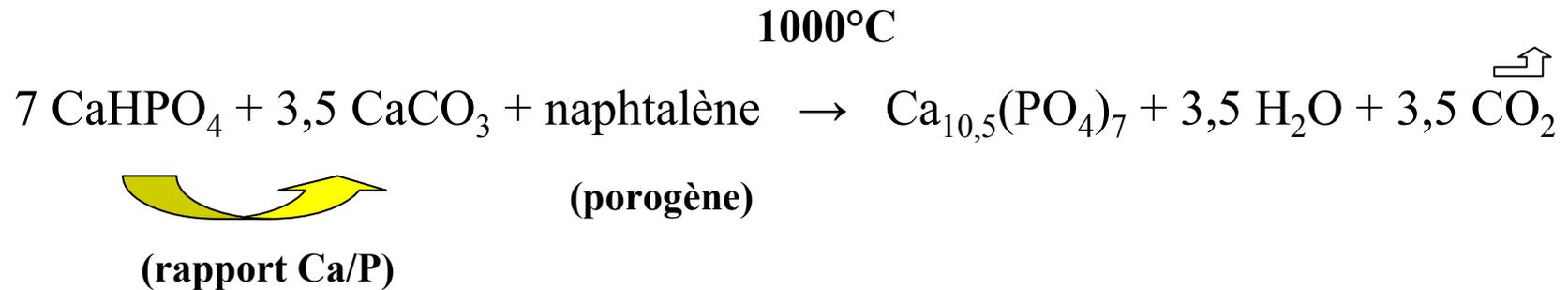
**Inconvénients :**  
**Stock limité,**  
**Douleurs & morbidité,**  
**Coût**

## Les phosphates de calcium d'intérêt biologique: une alternative aux greffes osseuses.....

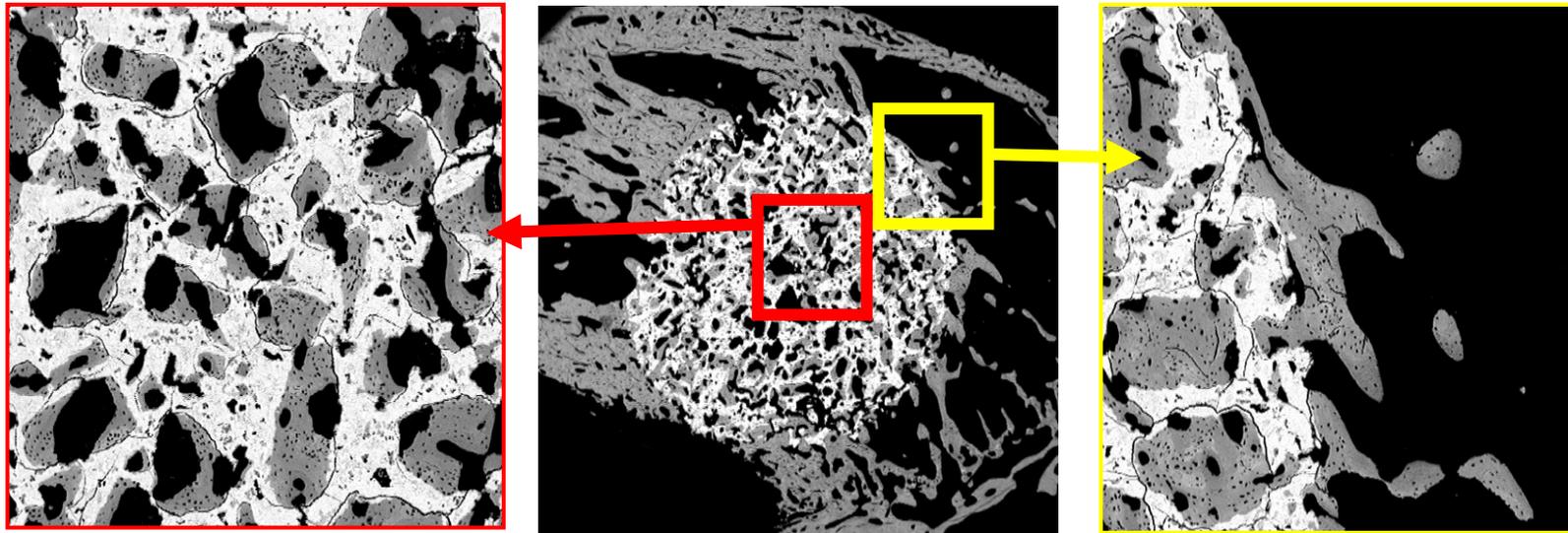
Dénomination	Symbole	Formule	Ca/P
Phosphate dicalcique anhydre	DCPA	$\text{CaHPO}_4$	1
Phosphate dicalcique dihydraté	DCPD	$\text{CaHPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$	1
Phosphate Octocalcique	OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6, 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Phosphate Tricalcique $\beta$	$\beta$ -TCP	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Hydroxyapatite	HA ou HAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Hydroxyapatite déficiente en calcium	CDA	$\text{Ca}_{10-x}[\ ]_x(\text{HPO}_4)_y(\text{PO}_4)_{6-y}(\text{OH})_{2-z}[\ ]_z$	< 1,67
Phosphate tétracalcique	TeCP ou TCMP	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2
Phosphate de calcium biphasé (mélange HA + $\beta$ -TCP)	BCP	Voir au dessus	1,5 – 1,67

**Avantages:** Biocompatibles  
Sûrs  
Peu coûteux  
Résorbables  
Ostéoconducteurs

# Comment ça marche: une affaire de solubilité et de porosité.....



Compromis entre **propriétés mécaniques** (résistance en compression) et **macroporosité** (diamètres > 100 μm) pour permettre la percolation des fluides biologiques (colonisation par les ostéoblastes et ostéoclastes)



Dissolution / hydrolyse, précipitation d'apatite biologique  
 (matériau = réservoir d'ions  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$ )



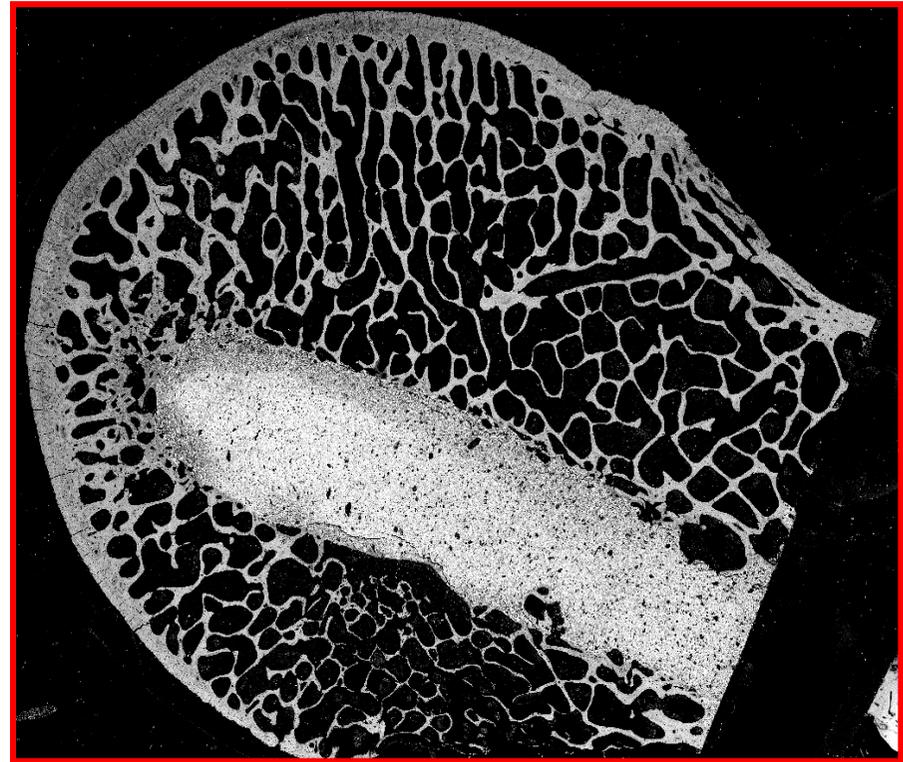
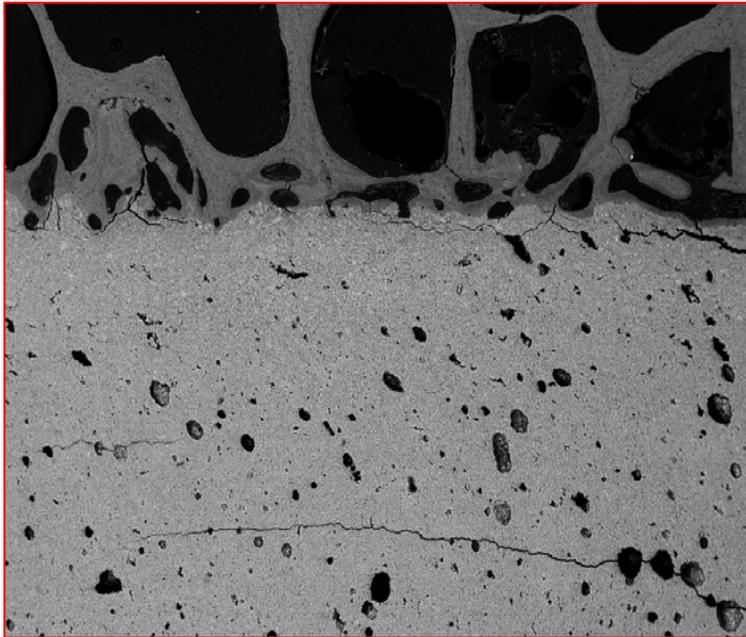
## **Les céramiques de phosphate de calcium : principales limitations.....**

- Propriétés mécaniques initiales faibles
  - Pas de mise en charge immédiate sans instrumentation stable associée
- Mise en place parfois délicate
  - Conservation de l'architecture macroporeuse
  - Usinage délicat des pièces

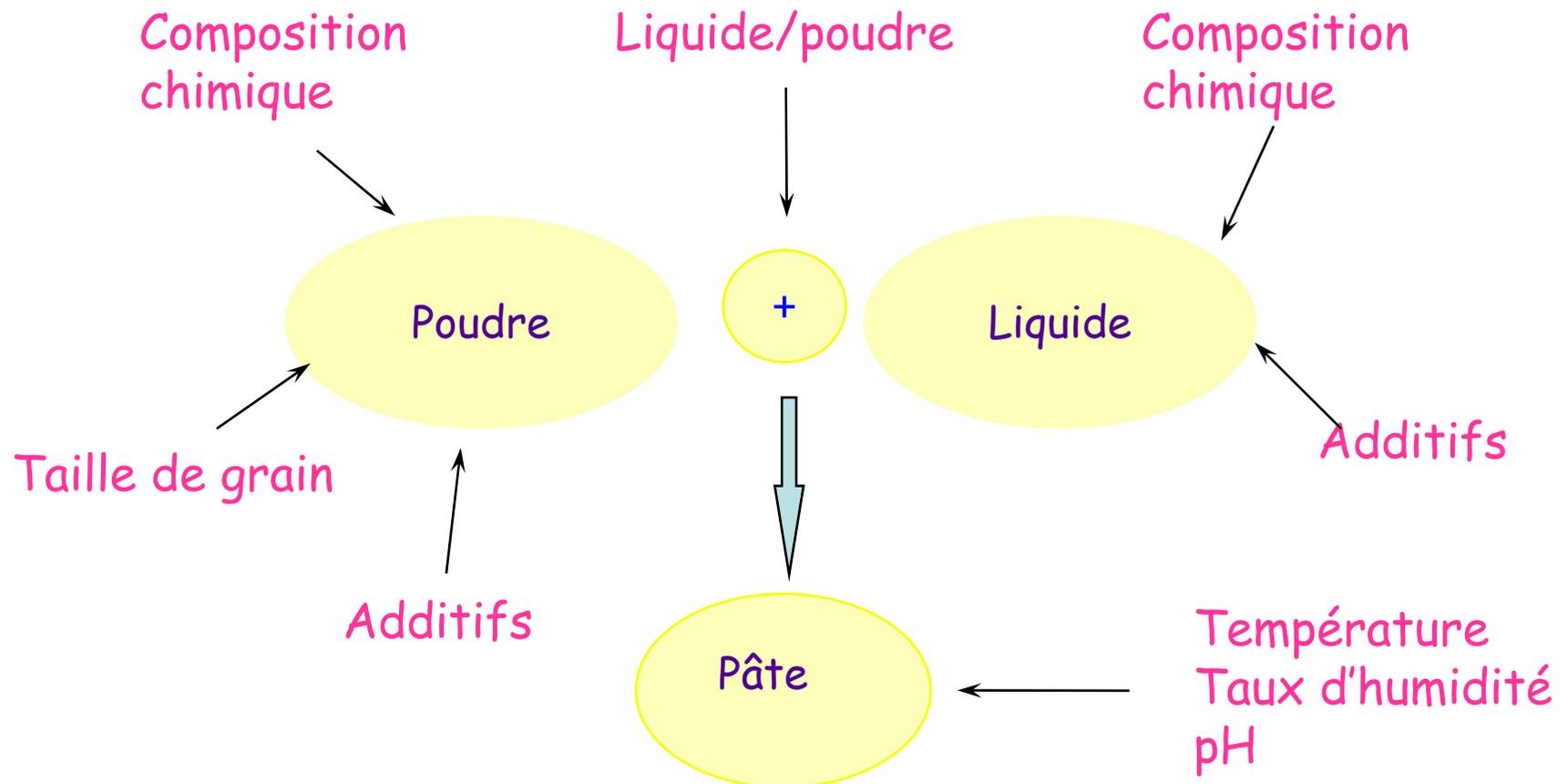
**Les ciments à base de phosphate de calcium, la génération d'après?**

**.....injectables (implantation mini-invasive), moulables, résistants mécaniquement.....tout en restant résorbable, un vrai défi de chimie et de physique!**





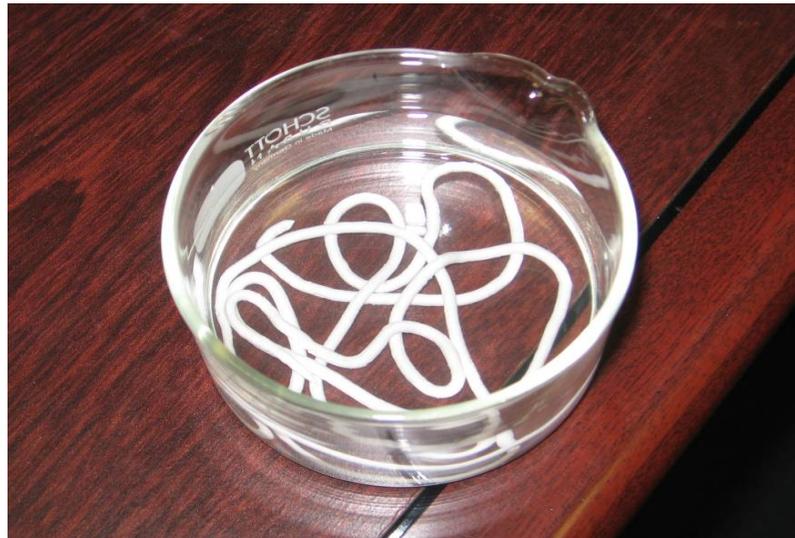
# Facteurs influençant la réaction de prise



# Méthodes de suivi et de caractérisation de la réaction de prise de ciments phosphocalciques

Le temps de cohésion ( $T_C$ ) ou temps de désintégration est le temps à partir duquel un échantillon de ciment peut être mis en contact avec une solution aqueuse sans se désintégrer, c'est-à-dire que sa prise restera effective.

Test visuel



# Méthodes de suivi et de caractérisation de la réaction de prise de ciments phosphocalciques



$\text{Ø} = 1,06 \text{ mm}$   
453,6 g

$\text{Ø} = 2,12 \text{ mm}$   
113,4 g

**Le temps de prise** est défini comme l'intervalle de temps séparant le moment où le mélange a été commencé de celui où une aiguille (Gillmore ASTM C266-89) ne s'enfonce plus.

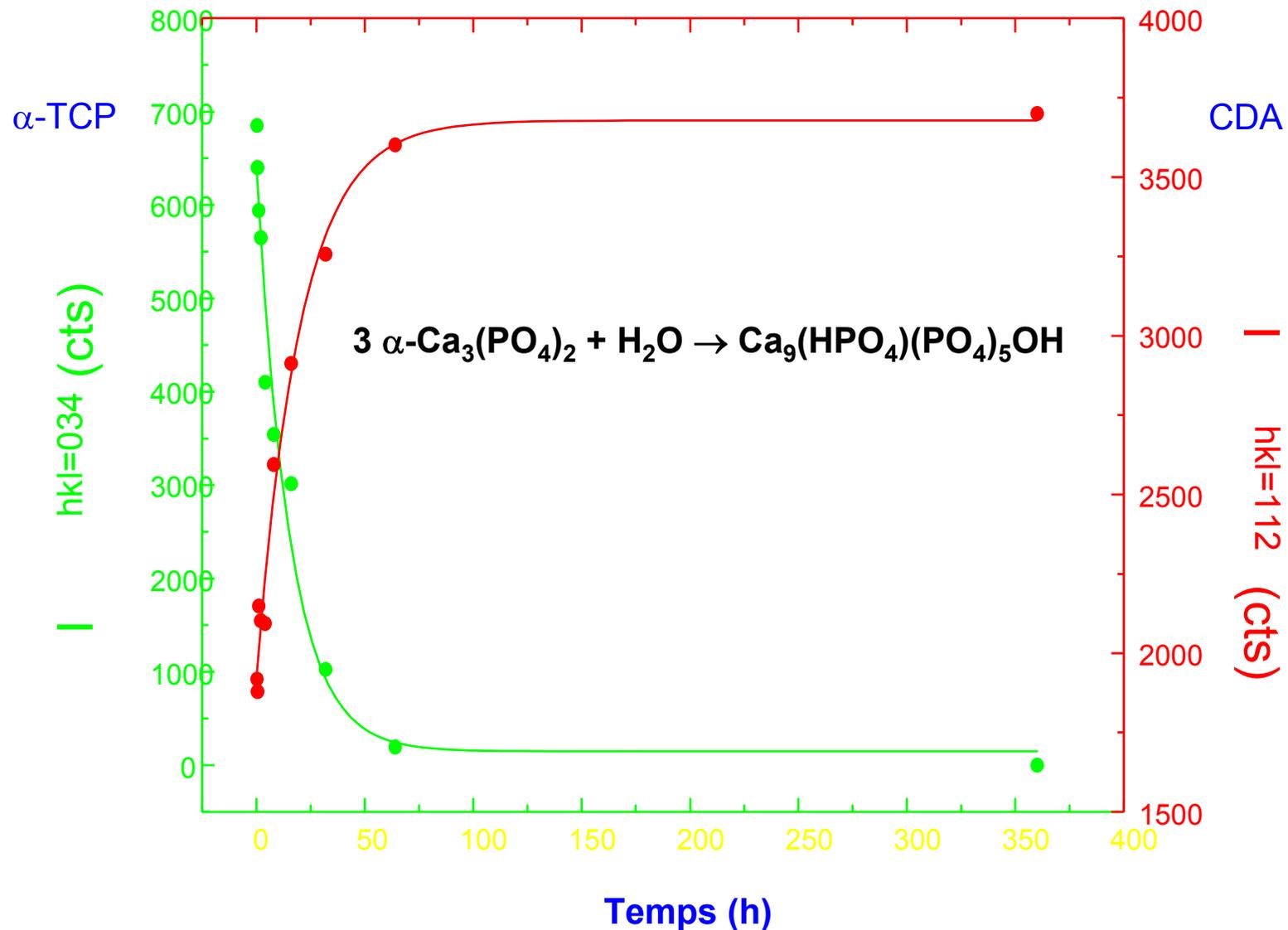
**Le temps de prise initial ( $t_i$ )** correspond plus ou moins au temps à partir duquel le ciment ne peut plus être touché sans risquer de détruire la microstructure qui se forme et qui doit assurer la solidité du ciment.

**Le temps de prise final ( $t_f$ )** est celui à partir duquel le ciment est suffisamment dur pour que l'échantillon soit manipulé sans dommage.

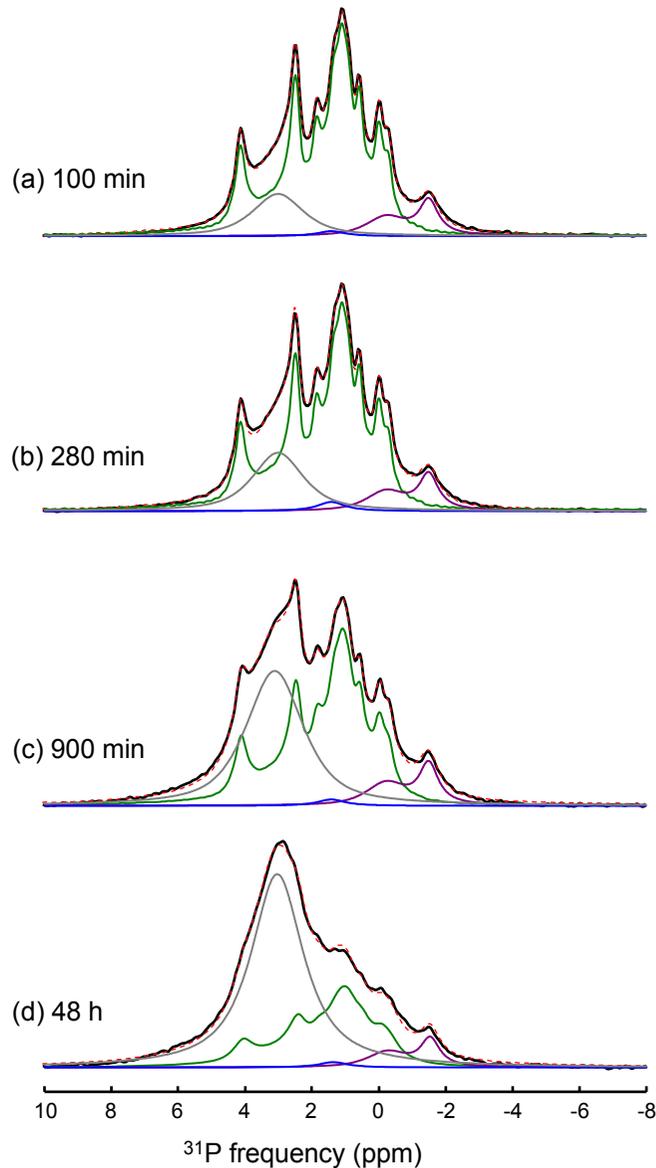
Idéalement,  $t_f \approx 10$  minutes à  $37^\circ\text{C}$

# Méthodes de suivi et de caractérisation de la réaction de prise de ciments phosphocalciques

Transformation de l' $\alpha$ -TCP en CDA (diffraction des rayons X)



# Méthodes de suivi et de caractérisation de la réaction de prise de ciments phosphocalciques



(vert)

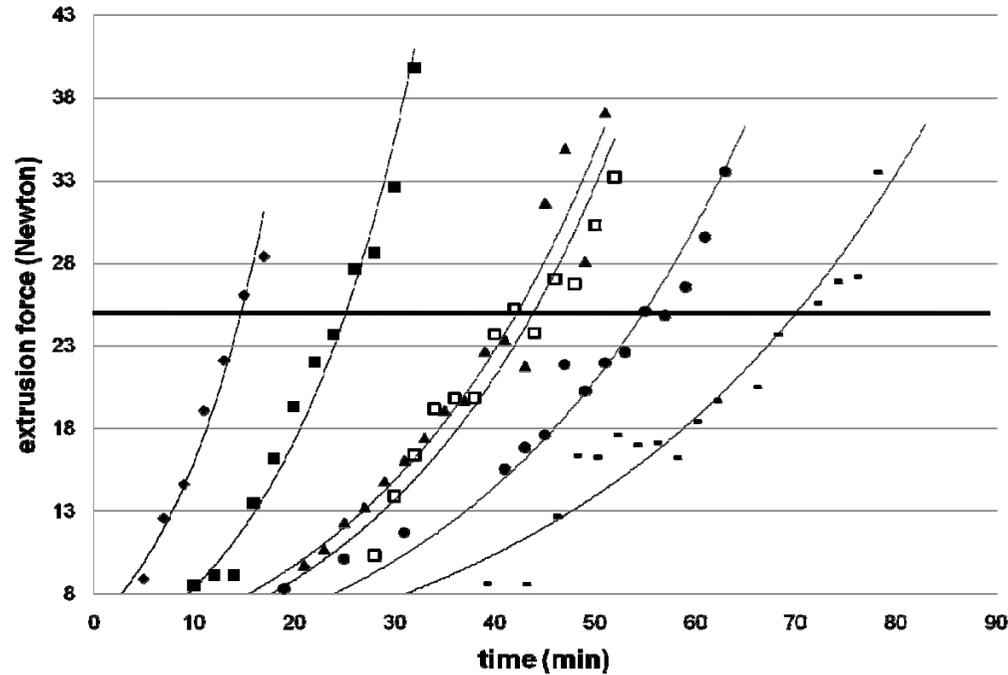
(gris)

(rose)  $\text{Ca}(\text{HPO}_4)$

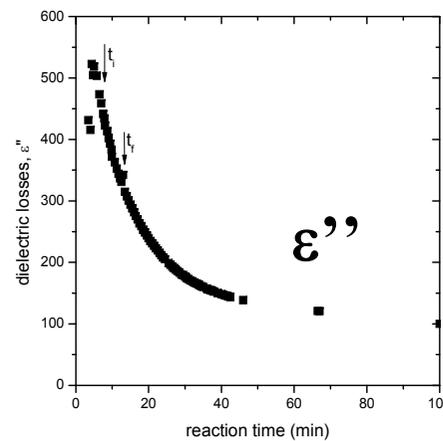
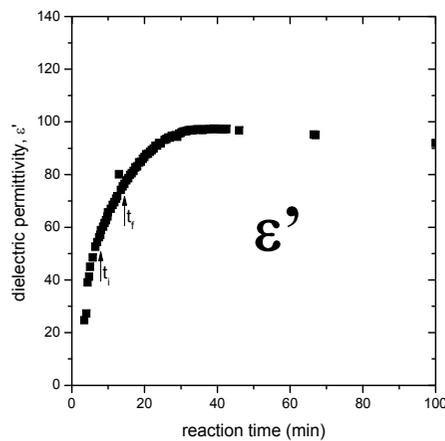
(bleu)  $\text{Ca}(\text{HPO}_4) \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Transformation de l' $\alpha$ -TCP en CDA (RMN  $^{31}\text{P}$  MAS [rotation à l'angle magique])

# Méthodes de suivi et de caractérisation de la réaction de prise de ciments phosphocalciques



Analyseur de texture



## Mesures d'impédance à hautes fréquences :

- ◆ Permittivité diélectrique  $\epsilon'$   
→ polarité de l'interface solide/liquide  
(conductivité de surface)
- ◆ Pertes diélectriques  $\epsilon''$   
→ mobilité des espèces ioniques en solution



**UMR CNRS 6457 Nantes**  
**G Montavon**



**UPR CNRS 3079 Orléans**  
**F Fayon, D Massiot**



**UMR CNRS 6502 Nantes**  
**P Deniard**



**UMR INSERM 791 Nantes**  
**JM Bouler, J Guicheux, O Gauthier**



**Assistance Publique Hôpitaux de Marseille**  
**Pr. JN Argenson, Dr. S Paratte**



**UMR CNRS 7564 Nancy**  
**C Despas, A Walcarius**

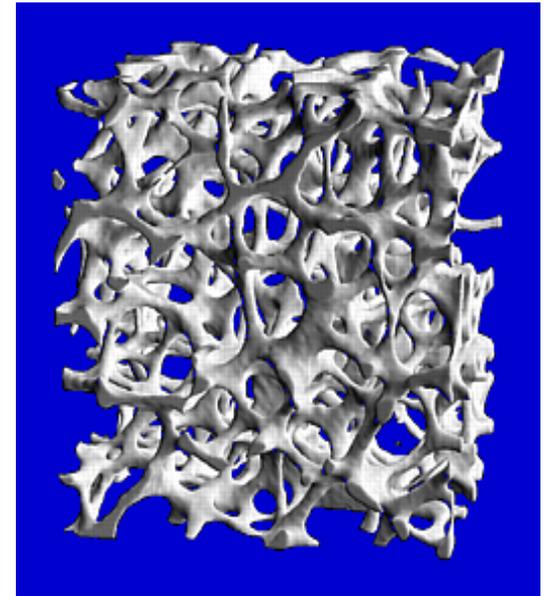


**Graftys**

**Matériaux innovants actifs contre les dérèglements  
de la résorption osseuse**

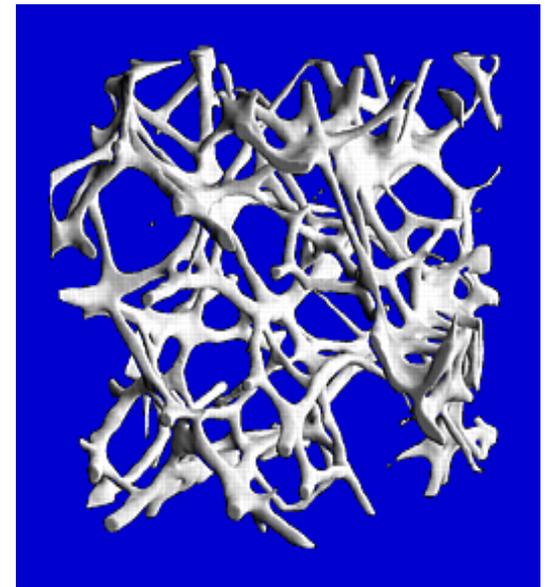
# Ostéoporose: contexte clinique

- **Ostéoporose: dégradation de la microarchitecture osseuse conduisant à un risque de fracture élevé (résorption osseuse >> néo-formation d'os)**
- **Taux de fracture ostéoporotique**  
~40% des femmes au-delà de 50 ans  
(principalement fémur, vertèbre, poignet....)
- **Fracture de la hanche:**
  - Impact élevé sur le taux de mortalité (24%)
  - Risque de seconde fracture élevé : ~ 15% (mais 50% interviendront la 1<sup>ère</sup> année suivant la chirurgie)
- **Traitement: bisphosphonate par voie systémique**  
Principaux problèmes:
  - Faible observance
  - Nombre croissant de rapports sur des effets indésirables



↑ Os sain

Os ostéoporotique ↓

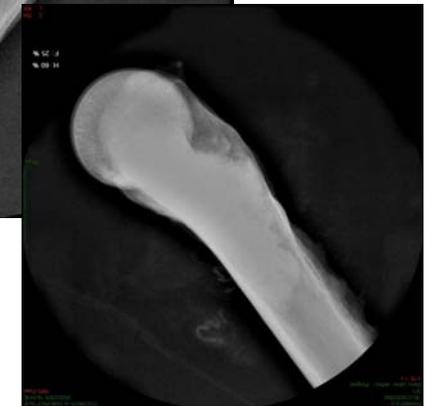


**Notre stratégie: Système médical injectable, implantable par chirurgie mini-invasive, pour la prévention des fractures du col du fémur.**

→ Stimulation de la reconstruction osseuse dans le fémur ostéoporotique

**Ciment à base de phosphate de calcium**  
(stimulation de la repousse osseuse)

- ◆ Composition proche de la phase minérale de l'os
- ◆ Résorbable *in situ* pour être remplacé par de l'os naturel
- ◆ Support du bis-phosphonate
- ◆ Renforcement mécanique immédiat du site implanté

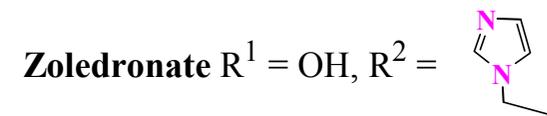


**Bis-phosphonate**  
(inhibiteur de résorption)

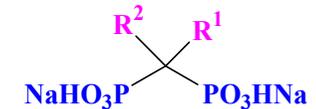
- ◆ Médicament anti-ostéoporotique



(Aclasta, I.V., 5 mg dans 100mL 1 fois/an)



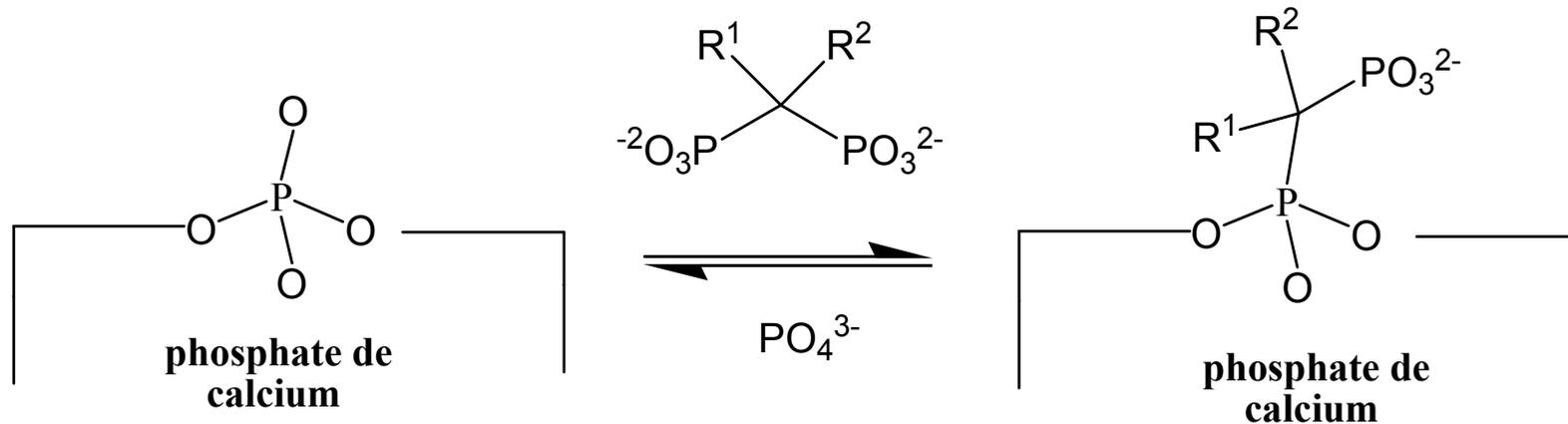
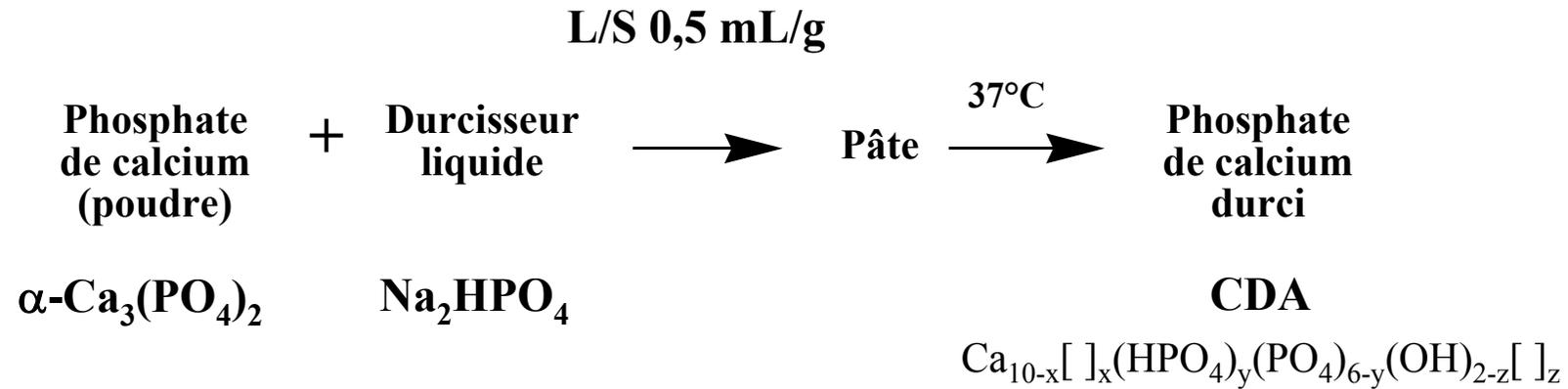
(Fosamax, voie orale, 10 mg/jour)



**Problème à résoudre:**  
*Les bisphosphonates sont des retardateurs de prise de ciment*



**Comment introduire le BP dans la formulation?**



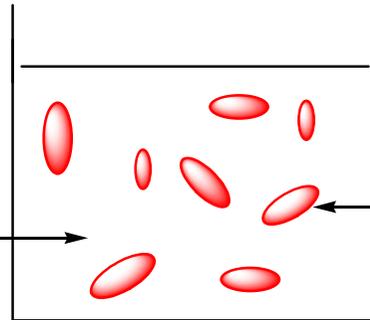
**Analogie entre groupe phosphate et groupe phosphonate :  $\text{O-PO}_3 \equiv \text{C-PO}_3$**

# Hydroxyapatite Déficiente en Calcium [CDA] - Conditions de réaction



*COT-métrie*  
*Dosage phosphore (UV-vis)*

Solution aqueuse  
de  
bisphosphonate



Suspension de  
phosphate de  
calcium

*RMN <sup>31</sup>P MAS*



*Distribution du bisphosphonate [BP]  
entre solution et solide*

$$Kd = \frac{[\text{BP}]_{\text{ads}}}{[\text{BP}]_{\text{solution}}} \times \frac{L}{S}$$

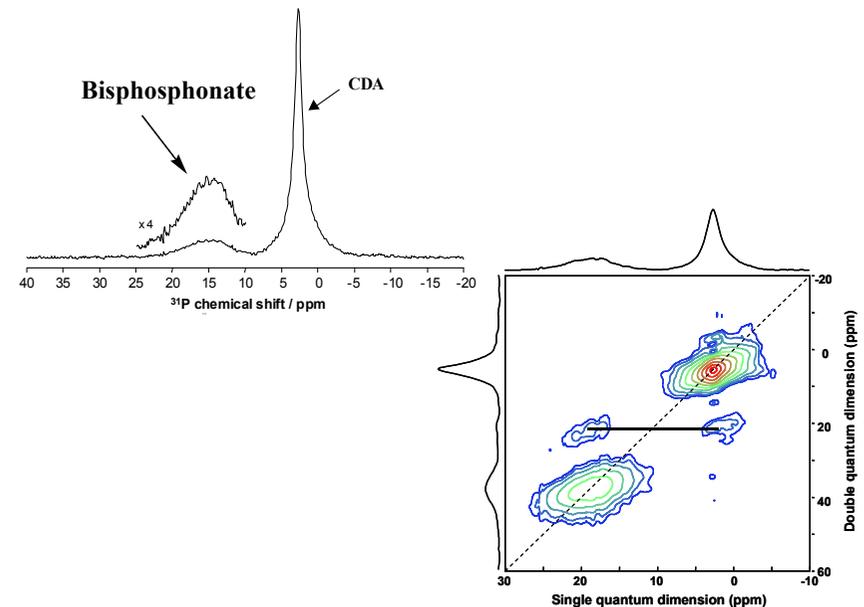
à l'équilibre

volume de liquide

masse de CDA

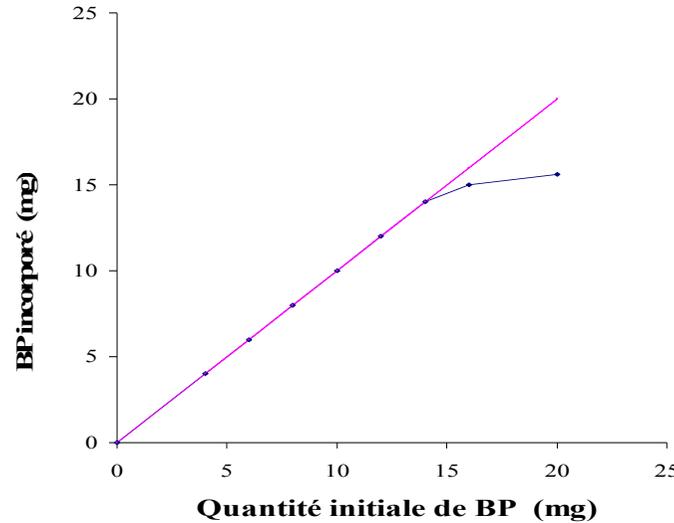
→  $Kd = f([\text{BP}]_{\text{initiale}})$

*Caractérisation du mode  
d'association entre bisphosphonate  
et phosphate de calcium*

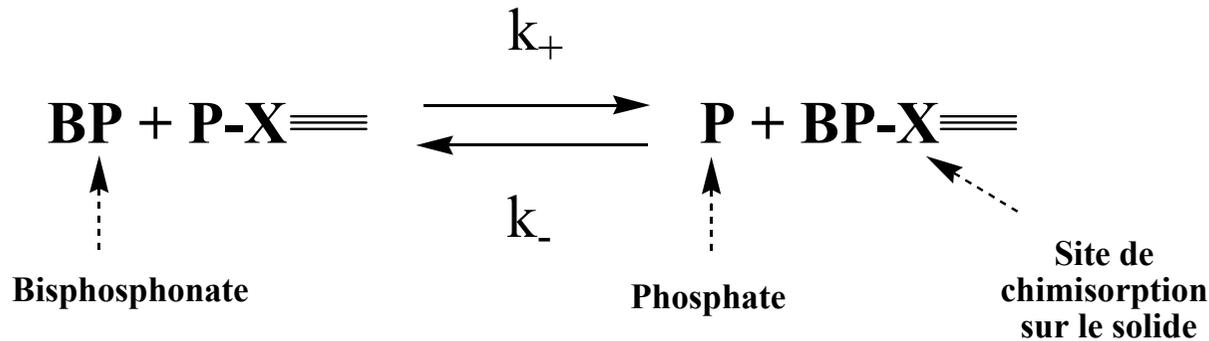


# Mise au point d'un modèle mathématique décrivant l'interaction bisphosphonate / CDA

**CDA**  
(chimisorption du BP sur la surface jusqu'à saturation)

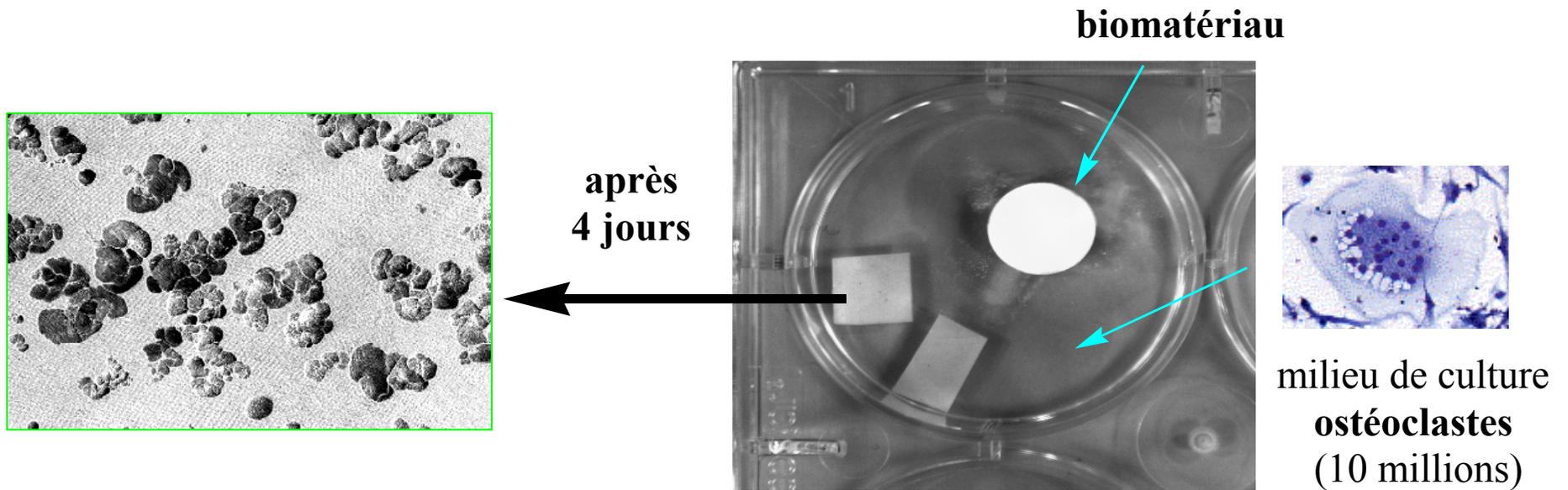


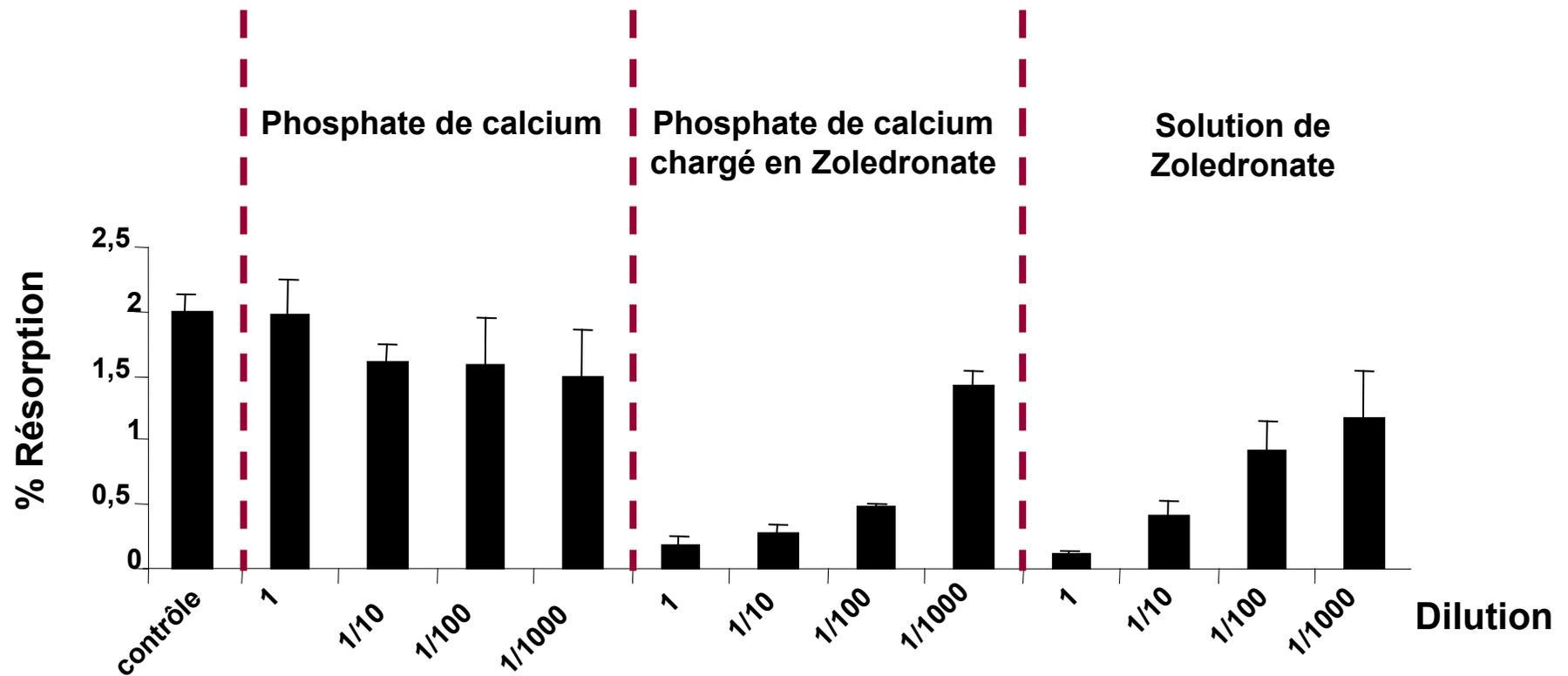
Bujoli et al., *Adv. Mater.*, **2004**, *16*, 1423  
Bujoli et al., *J. Mater. Chem.*, **2005**, *15*, 3869  
Brevet **WO03074098**



- ◆ Nombre de sites échangeables (0,23 mmol g<sup>-1</sup> pour le Zoledronate & 0,26 mmol g<sup>-1</sup> pour l'Alendronate)
- ◆ Libération du principe actif contrôlée par la concentration en phosphate dans le milieu (modèle prédictif en désorption)
- ◆ Profil de libération du principe actif modulable via le taux de chargement du support

**Modèle *in vitro* de résorption (ostéoclastes extraits d'os longs de lapins nouveaux-nés )**





**Phosphate de calcium chargé en Zoledronate :**

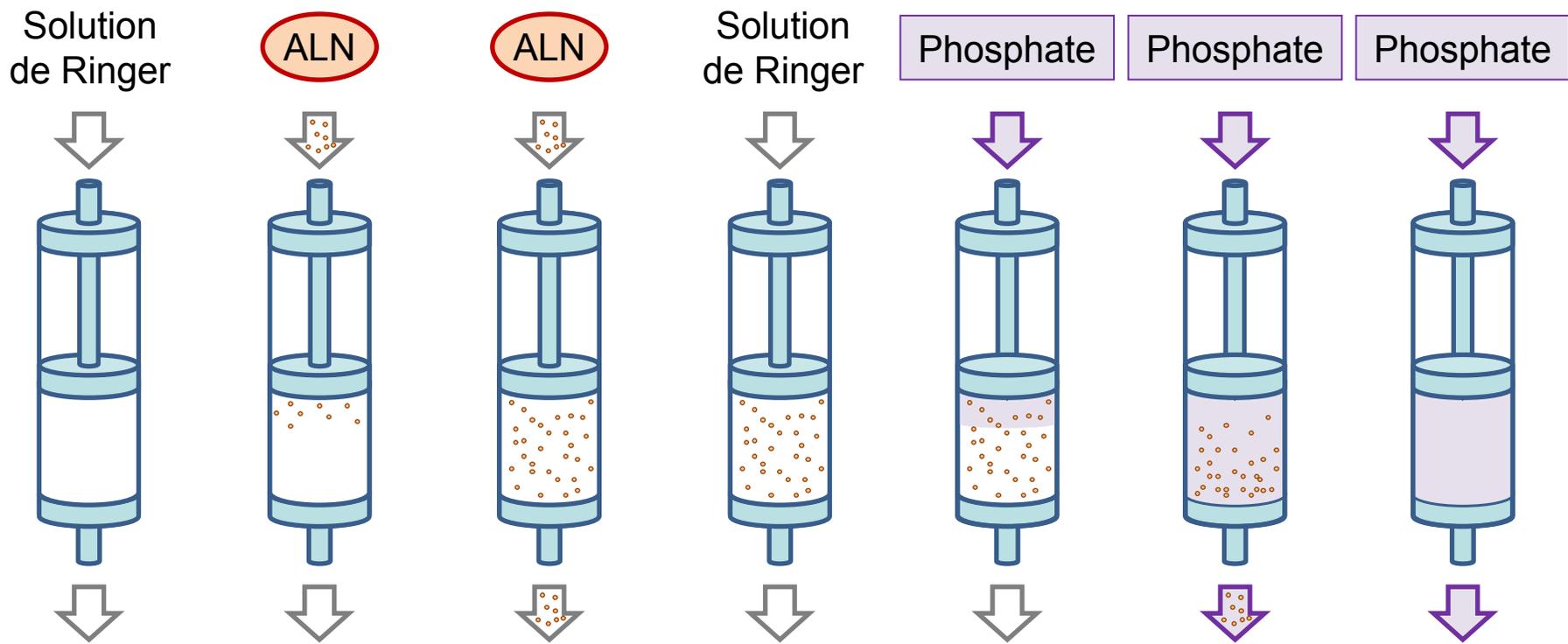
**- Inhibition de la résorption avec un effet dose/réponse analogue à celui observé avec le Zoledronate en solution**

## Modélisation du relargage du principe actif dans des conditions *in vivo* simulées, utilisant une expérience en flux continu et à débit imposé

### Problème :

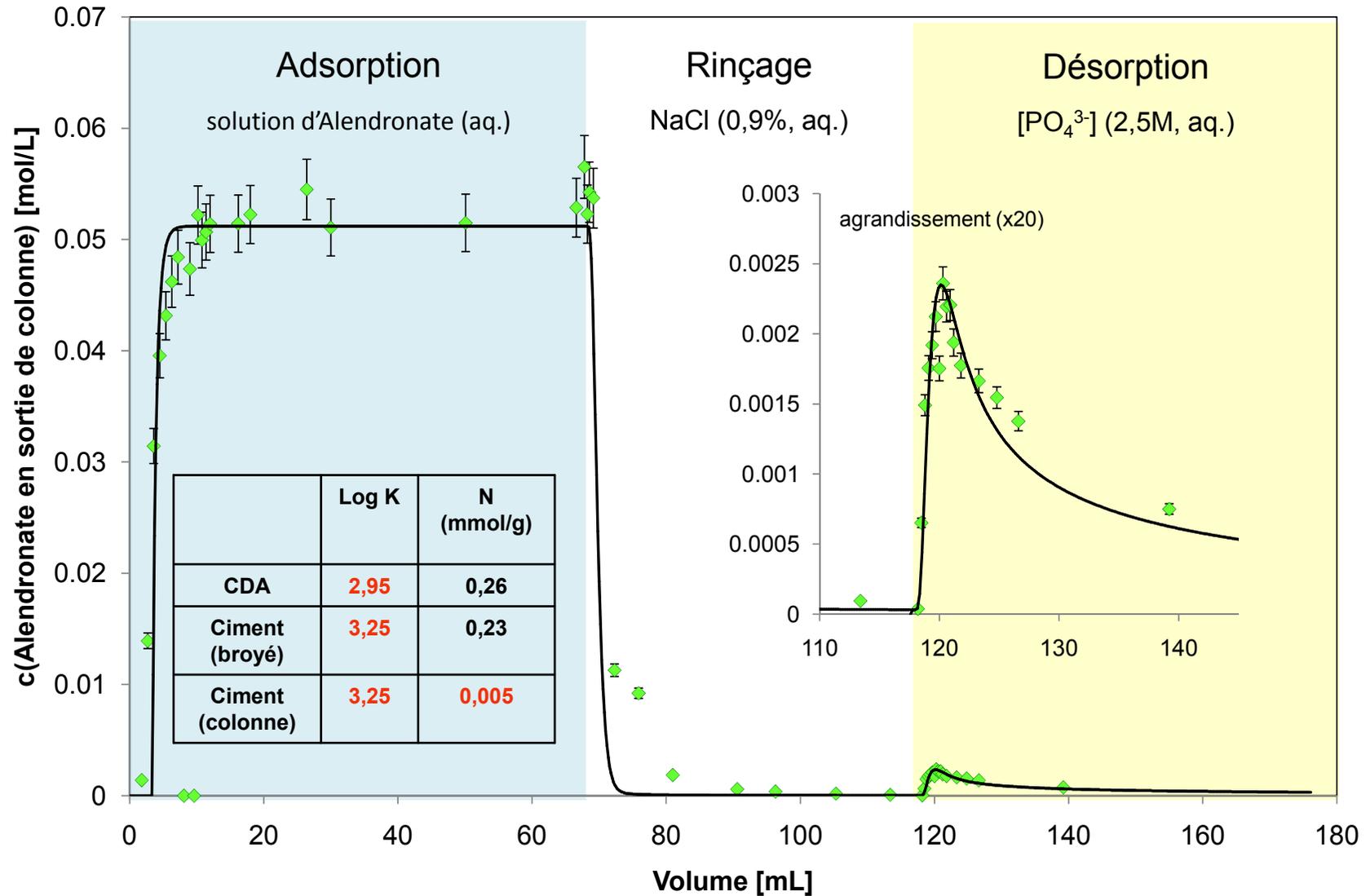
La quantité de bisphosphonate est très faible → Mesure de la libération impossible

Stratégie : Ciment pris = CDA. La libération peut être modélisée

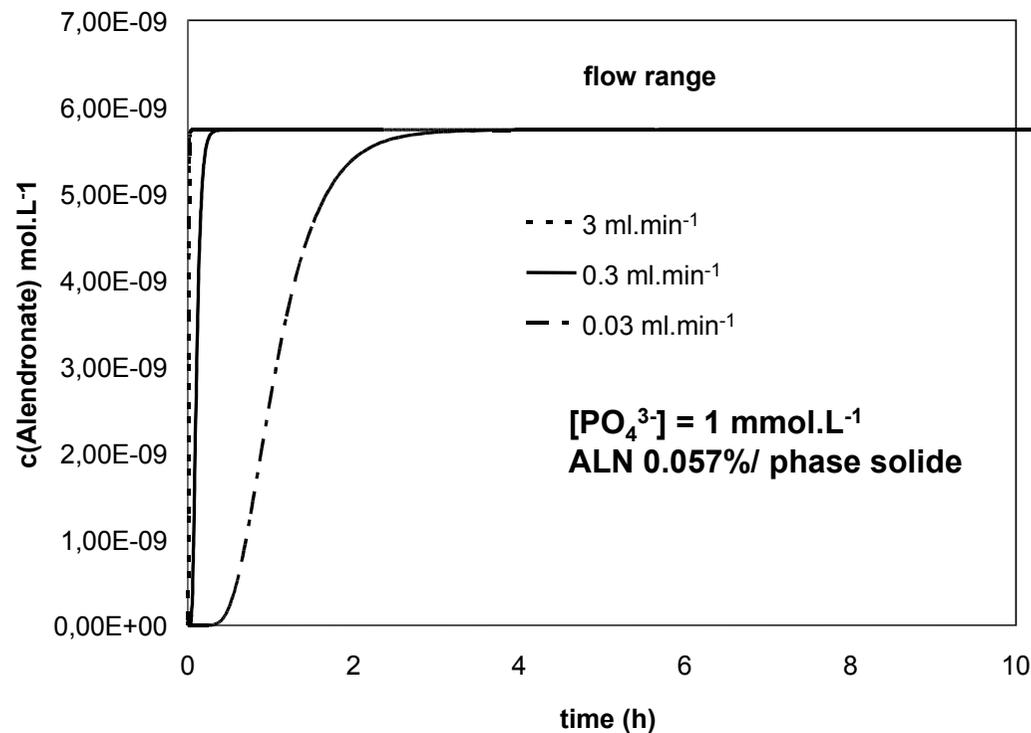


flux 0,3 mL/min

# Expérience en flux continu - Résultats



## Expérience en flux continu – Résultats

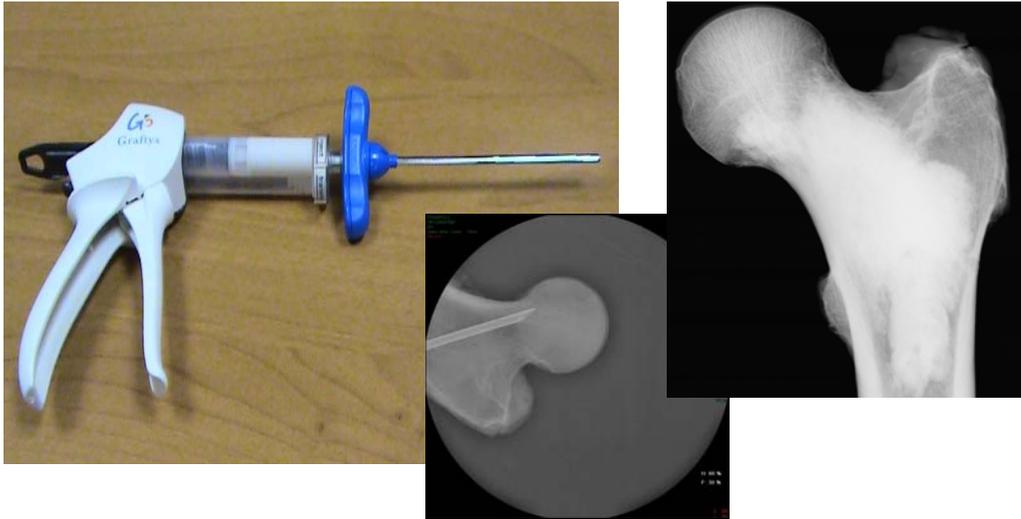


- ◆ Pas de libération flash
- ◆ Libération directement contrôlée par l'interaction Alendronate/ciment
- ◆ Libération constante et faible, même en considérant un accès total aux sites de fixation du BP



Après 32 heures seulement 0,018% d'Alendronate sont libérés

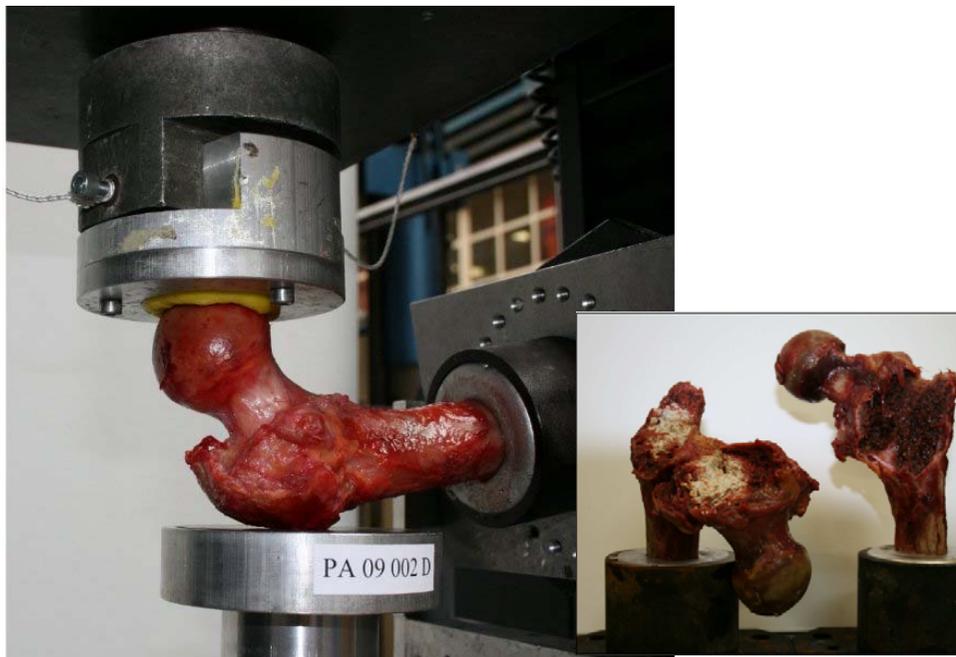
## Etudes biomécaniques (cadavre humain)



*ENSAM- Cochin – Clinique des St Pères*

**Simulation de fractures pertrochantériennes  
→ 12 paires de fémurs ostéoporotiques**

**Age moyen des cadavres :  
86.3 ans**



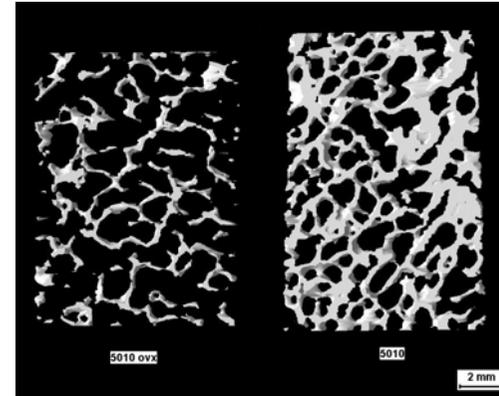
### Résultats:

**Force nécessaire pour la fracture  
est ~ 2 fois plus élevée pour le  
fémur injecté comparativement au  
fémur non injecté**

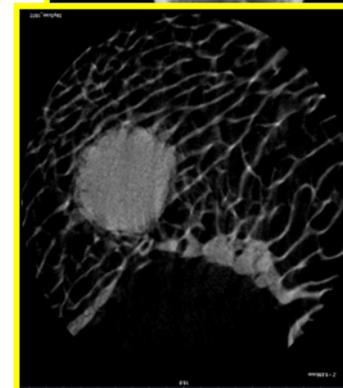
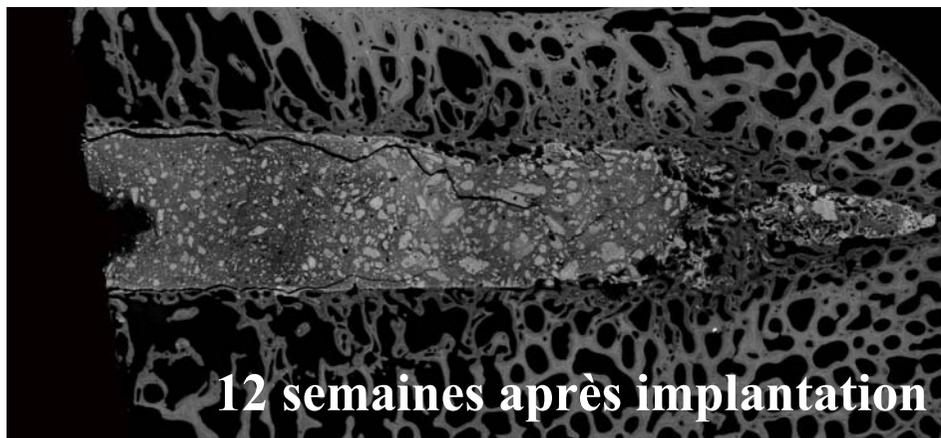
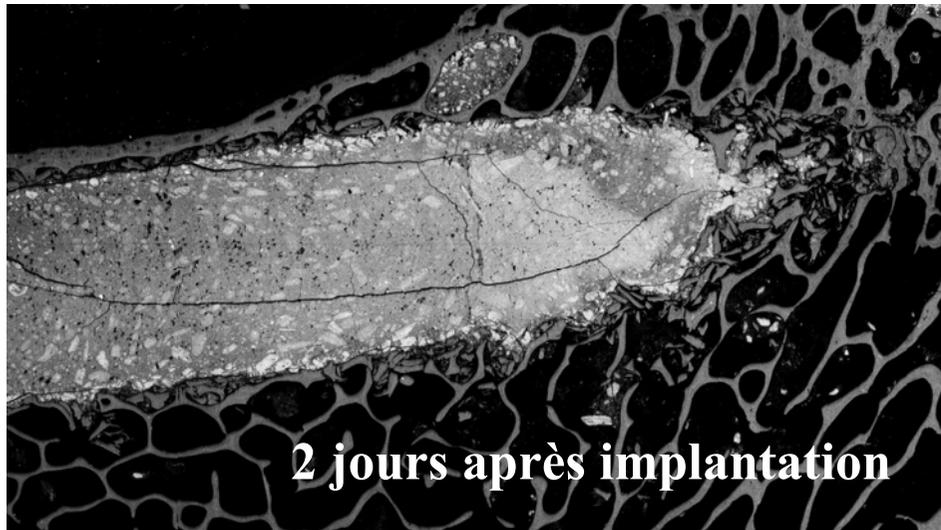
**→ Renforcement immédiat**

# Démonstration d'une stimulation de la repousse osseuse *in vivo* sur un modèle animal d'ostéoporose

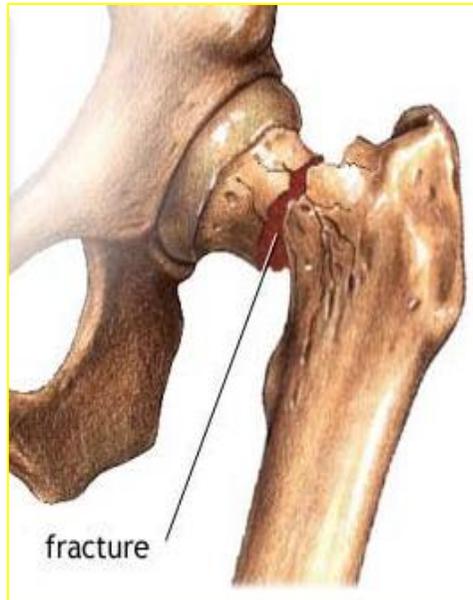
6 mois  
après  
ovariectomie



avant  
ovariectomie



# Prochaines étapes



## Essais cliniques chez l'homme (renforcement du fémur ostéoporotique)

- **Sécurité :**
  - **Monocentrique** (APHM, Pr J.N. Argenson) : 50 patients – 2 ans
- **Performances :**
  - **Multicentrique** (Marseille, Pavie, Budapest, Edimbourg) : 200 patients – 2 ans

## Prochaines étapes

- ▶ Développement d'une 2<sup>nd</sup>e génération pour le rachis



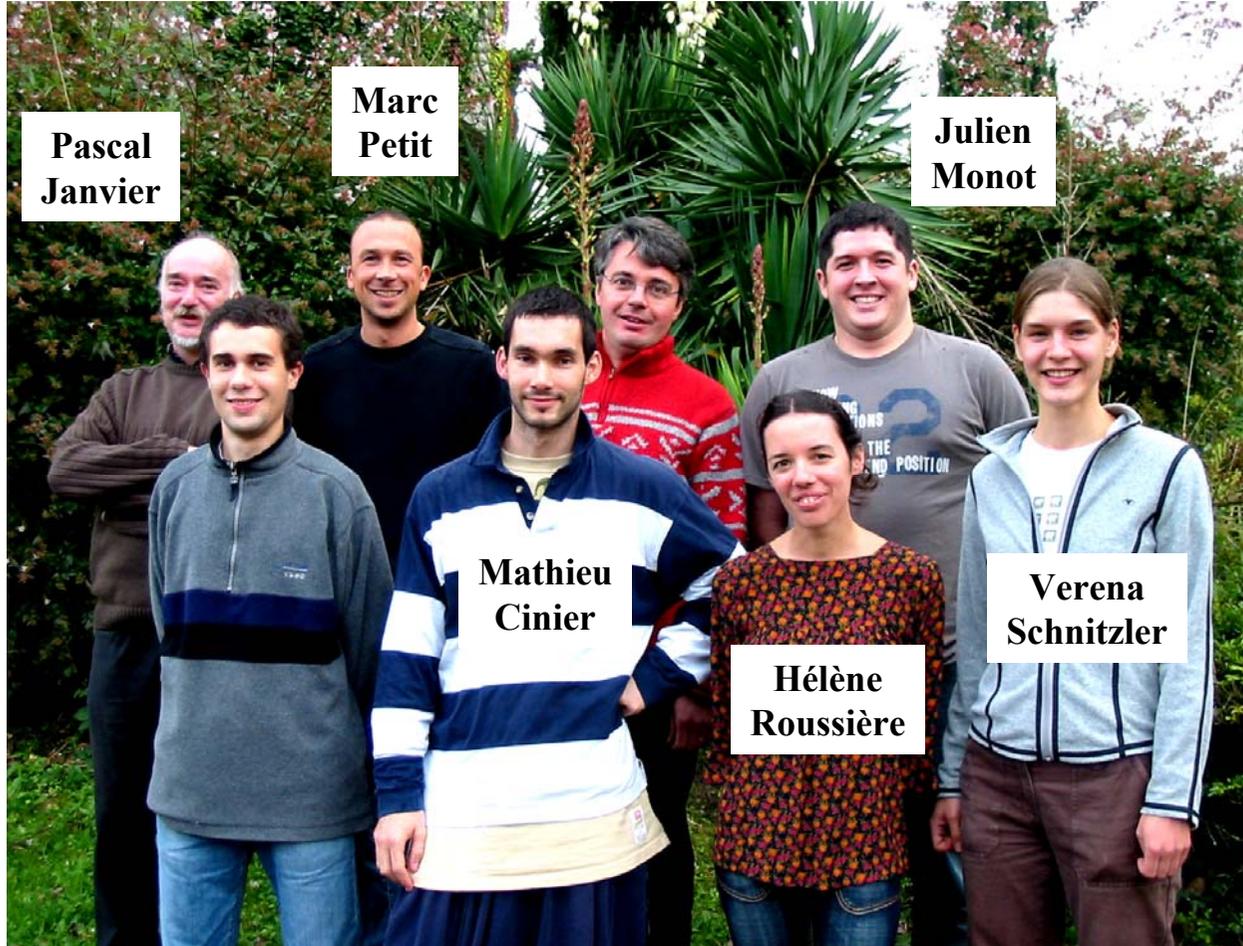
# Conclusion

- Les biomatériaux à base de phosphate de calcium ont un très gros potentiel en Santé humaine (orthopédie) et dans le vétérinaire.
- Ce sont de bons compléments des implants métalliques
- D'importants développements sont à attendre dans le futur sur des systèmes combinant phosphates de calcium et:
  - ◆ médicaments (ostéoporose, cancers, trauma, infection, douleur)
  - ◆ sang
  - ◆ facteurs de croissance, facteurs de signalisation....
- Domaine transversal et transdisciplinaire aux frontières des domaines « Biologie – Chimie – Physique »

  
Propriétés *in vivo*  
Besoins cliniques

  
Conception  
Formulation

  
Propriétés mécaniques  
et texturales



*PICS CNRS-USA 2005-2007*  
*DGA REI 2005-2008 et 2008-2010*  
*ANR « RNTS 2005 » et « BiotecS 2008 »*