Patrycja Rosół¹, Jan Chłopek² Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków e-mail: patrycja@uci.agh.edu.pl, chlopek@uci.agh.edu.pl

NANOKOMPOZYTY POLIMEROWO-CERAMICZNE PRZEZNACZONE DO ZASTOSOWAŃ MEDYCZNYCH

Celem pracy była analiza właściwości mechanicznych, zarówno statycznych (wytrzymałość na rozciąganie, moduł Younga), jak i zmęczeniowych (pełzanie), oraz zbadanie zachowania biologicznego w warunkach in vitro kompozytów polimerowych, przeznaczonych na implanty przenoszące obciążenia mechaniczne. Jako osnowę kompozytów zastosowano biostabilny polisulfon (PSU), a fazami modyfikującymi były bioaktywne nanocząstki hydroksyapatytu naturalnego, otrzymanego z kości zwierzęcych (HAn) oraz pochodzenia syntetycznego (HAs). Trwałość badanych materiałów określono, opierając się na charakterystykach pelzania w warunkach in vitro, a bioaktywność na podstawie obserwacji SEM powierzchni próbek inkubowanych w sztucznym środowisku biologicznym. Analiza trwałości uzyskana z badań pełzania wskazuje, że polisulfon może bezpiecznie pracować na poziomie 27% wyjściowej wytrzymalości w czasie dopasowanym do zrostu kostnego (6 tygodni). Podobnie w przypadku kompozytu modyfikowanego hydroksyapatytem naturalnym wartość bezpiecznych naprężeń wynosi około 28% jego wytrzymałości wyjściowej, natomiast dla kompozytu modyfikowanego hydroksyapatytem syntetycznym jedynie 13%. Mniejsza trwałość PSU/HAs w warunkach in vitro może być związana ze zmianami stanu granic międzyfazowych: cząstki ceramiczne-polimer na skutek wnikania płynów fizjologicznych do wnętrza próbki. Ponadto, w przypadku tego kompozytu zaobserwowano nierównomierną dystrybucję syntetycznego hydroksyapatytu w osnowie polisulfonowej i tworzenie przez jego cząstki aglomeratów, co wywiera niekorzystny wpływ na właściwości użytkowe materialu. Przeprowadzone badania biologiczne wykazały, że modyfikacja polisulfonu poprzez wprowadzenie do niego nanocząstek hydroksyapatytowych nadaje mu cechy bioaktywne oraz że rodzaj hydroksyapatytu ma znaczący wpływ na proces narastania apatytu w warunkach sztucznego środowiska biologicznego.

Słowa kluczowe: kompozyty polimerowe, hydroksyapatyt, implanty, właściwości mechaniczne

POLYMER-CERAMIC NANOCOMPOSITES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

From the point of view of implant's application in bone-surgery, the most important properties of the material to be considered are: the ability of regeneration of surrounding tissues and the enhanced durability in biological environment. The regeneration function may be assured by the application of bioactive ceramic materials, including primarily the calcium phosphates, bio-glasses as well as glass-ceramics. The realization of biomechanical function requires on one hand the adjustment of Young's moduli of the implant and the surrounding tissue, and on the other, carrying the largest portion of stresses by the implant, according to the type of joint applied. In this work the effects of modifying phases on mechanical and biological properties of polysulfone (PSU) have been examined under in vitro conditions. Hydroxyapatite of nanoparticles both, natural origin (animal bones, Fig. 1) and synthetic have been used as modifying phases. Durability of testing materials was defined basing on creep tests in in vitro conditions (Fig. 5) and bioactivity was based on SEM observations of samples surface incubated in artificial biological environment (Fig. 6). Analysis of durability obtained from creep tests investigations indicated that polysulfone can be safetly worked on level 27% of initial strenght for specific healing times (6 weeks). Similarly, of composite modified by natural hydoxyapatite (PSU/HAn) value of permissible stress is about 28% his initial strenght, whereas for composite modified by synthetic hydroxyapatie (PSU/HAs) is only 13%. Lesser durability PSU/HAs in vitro conditions is possibly connected with change of state composite interfaces: ceramic-polymer particles in effect penetration of physiological liquid into samples. Moreover, in case of this composite, was observed non-uniform distribution of synthetic hydroxyapatite in polysulfone matrix and creating of agglomerate by his particles (Fig. 3), which exert a disadvantageous influence on exploitation properties of material. Biological investigations indicated that modification of polysulfone by introducing hydroxyapatie nanoparticles gives bioactive feature and also type of hydroxyapatite has a meaningful influence on process of growing hydroxyapatite in simulated body fluid.

Keywords: polymer composites, hydroxyapatite, implants, mechanical properties

WSTĘP

Tendencje ostatnich lat w rozwoju biomateriałów wskazują na coraz większe znaczenie w implantologii materiałów kompozytowych na bazie polimerów [1-3]. Zastosowanie fazy modyfikującej stwarza możliwość poprawy niskich właściwości mechanicznych polime-

rów, w szczególności wytrzymałości i odporności na kruche pękanie przy zachowaniu modułu Younga na poziomie modułu tkanki kostnej. Odpowiedni modyfikator pozwala również na zmianę właściwości biologicznych przez nadanie im cech bioaktywności. Idea

¹ mgr inż., ² prof. dr hab. inż.

wzmacniania kompozytów polimerowych bioaktywnymi czastkami ceramicznymi została wprowadzona w 1981 r. przez Bonfielda i in. [4]. Wynikała ona z podobieństwa tych materiałów do naturalnej kości, która jest kompozytem biologicznym złożonym z włókien kolagenowych i części mineralnych (m.in. hydroksyapa-Pierwszym bioaktywnym polimerowo-ceratvtu). micznym kompozytem był hydroksyapatyt wzmacniający polietylen (PE/HA) o handlowej nazwie HAPEXTM. Wykonany z niego w 1995 r. przez Smith & Nephev Richard Inc. implant ucha środkowego charakteryzował się właściwościami zbliżonymi do kości [5]. Sukcesy kliniczne przyczyniły się do rozwoju innych bioaktywnych kompozytów o osnowach polimerowych. Naukowcy z całego świata zaczęli przeprowadzać próby modyfikowania czastkami bioaktywnej ceramiki polimerów, takich jak np.: poli(etereterketon) (PEEK) [6], poli(hydroksymaślan) (PHB) [7] czy polilaktyd (PLLA) [8].

W chirurgii kostnej, gdzie implanty poddane są długotrwałym naprężeniom w środowisku biologicznym, istotne jest, aby materiały te charakteryzowały się odpowiednią trwałością. Problemy pojawiające się podczas działania obciążenia w warunkach *in vitro* zawężają pole wykorzystania kompozytów polimerowo-ceramicznych do niektórych aplikacji. Szczególnie w przypadku zastosowań, gdzie występują dość znaczne obciążenia mechaniczne, np. w ortopedii, materiały te wymagają dalszych modyfikacji i badań [9-11].

Celem pracy było określenie warunków, w jakich implanty otrzymane z kompozytów: polisulfon modyfikowany nanocząstkami hydroksyapatytu naturalnego, otrzymanego z kości zwierzęcych, i syntetycznego, mogą pełnić rolę implantów przenoszących naprężenia (funkcja biomechaniczna), oraz wpływu cząstek hydroksyapatytowych na ich zachowanie biologiczne.

MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na kształtkach w formie wiosełek otrzymanych metodą wtrysku w temperaturze 345°C, wykonanych z: polisulfonu C₂₇H₂₆O₆S (PSU) produkcji Aldrich Chemical Company, Inc. USA, $M = 26,000, T_g = 190$ °C, d = 1,24 g/cm³. Do wytworzenia kompozytów użyto proszków hydroksyapatytowych Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ w ilości 15% wag:

- 1) syntetycznego Mitsubishi (Japonia) (HA_s), $d = 3,16 \text{ g/cm}^3$, $S_w = 69,8 \text{ m}^2/\text{g}$, Ca/P = 1,68, skład tlenkowy [%] CaO: 51,65, MgO: 0,05, P₂O₅: 38,8;
- 2) naturalnego (HA_n), wytworzonego z kości wieprzowej w Katedrze Ceramiki Specjalnej AGH w Krakowie, *d* = 3,16 g/cm³, *S_w* = 71,4 m²/g, Ca/P = 1,72, skład tlenkowy [%] CaO: 51,37, MgO: 0,62, P₂O₅: 37,76 (rys. 1). Ponadto hydroksyapatyt naturalny charakteryzuje się obecnością grup węglanowych,

nieobecnych w hydroksyapatycie syntetycznym [12].



Rys. 1. Struktura hydroksyapatytu naturalnego badana za pomocą transmisyjnego mikroskopu elektronowego

Fig. 1. Structure of the natural hydroxyapatite examined by means of transmission electron microscope

Do symulacji środowiska biologicznego użyto płynu Ringera produkcji Baxter Terpol Sp. z o.o. o następującym składzie [g/dm³]: NaCl - 8,60; KCl - 0,30; CaCl₂ - 0,48 oraz płynu SBF (sztuczne osocze) o składzie jonowym [mmol/l]: Na⁺ - 142,0, K⁺ - 5,0, Ca²⁺ - 2,5, Mg²⁺ - 1,5, Cl⁻ - 148,8, HCO₃⁻ - 4,2, HPO₄²⁻ - 1,0, SO₄²⁻ - 0,5.

Pomiary właściwości mechanicznych przeprowadzono za pomocą uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435. Pełzanie w warunkach *in vitro* obserwowano przez 48 godzin wg PN-83/C-89041. Zmiany zachodzące na powierzchni próbek inkubowanych w symulowanym środowisku biologicznym obserwowano za pomocą mikroskopu skaningowego Jeol JSM-5400.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Na rysunku 2 przedstawiono typowe wykresy wytrzymałości na rozciąganie dla czystego polisulfonu i jego kompozytów z dodatkiem hydroksyapatytu pochodzenia naturalnego i syntetycznego.



Rys. 2. Przykładowe wykresy rozciągania dla: 1 - PSU, 2 - PSU/HA,, 3 - PSU/HA,

Fig. 2. Exemplary tensile curves for: 1 - PSU, 2 - PSU/HAn, 3 - PSU/HAs

Jak zaobserwowano, czysty polisulfon poddany próbie statycznego rozciągania zachowuje się jak tworzywo z wyraźną granicą plastyczności. Dodanie do polisulfonu cząstek hydroksyapatytu powoduje zmianę jego charakterystyki na odpowiadającą materiałowi kruchemu. W tabeli 1 przedstawiono wartości wytrzymałości na rozciąganie oraz modułów Younga dla badanych materiałów.

TABELA 1. Wytrzymałość na rozciąganie oraz moduły Younga badanych materiałów

TABLE 1. Tensile strengths and Young's moduli of the examined materials

Materiał	σ _r , MPa	E, GPa
PSU	73,1 ±2,6	2,25 ±0,66
PSU/HA _s	44,3 ±1,0	3,36 ±1,02
PSU/HA _n	51,7 ±0,9	3,87 ±0,96

Badania wykazały, że dodatek cząstek hydroksyapatytu do polisulfonu obniża wartość wytrzymałości na rozciąganie otrzymanych kompozytów w stosunku do wyjściowego polimeru, co jest związane z ich kruchą naturą. Dla kompozytu modyfikowanego hydroksyapatytem naturalnym zaobserwowano 30% spadek wartości wytrzymałości na rozciąganie w stosunku do czystego polimeru, natomiast dodatek syntetycznego hydroksyapatytu obniża tę wartość o 40%. Jest to związane z nierównomierną dystrybucją cząstek hydroksyapatytu syntetycznego w osnowie polimerowej i tworzeniem przez nie aglomeratów, co wywiera niekorzystny wpływ na właściwości mechaniczne kompozytów (rys. 3).

a)



b)



Rys. 3. Obrazy SEM przełamów kompozytów: a) PSU/HA_n, b) PSU/HA_s
Fig. 3. SEM micrographs of fracture surfaces of composites: a) PSU/HA_n, b) PSU/HA_s

Jednocześnie badania wykazały wzrost sztywności dla obu kompozytów w stosunku do wyjściowego polimeru, co jest spowodowane znacznie wyższą wartością modułu Younga hydroksyapatytu ($E_{HA} = 95$ GPa) w stosunku do czystego polisulfonu (tab. 1).

Ponieważ implanty są w żywym organizmie narażone na działanie agresywnego środowiska płynów ustrojowych, badane materiały inkubowano w warunkach *in vitro* (płyn Ringera, temperatura 37°C) przez 7 dni. Po tym czasie zbadano zmianę ich właściwości mechanicznych. Otrzymane wyniki pokazano na rysunku 4.



- Rys. 4. Zmiany wytrzymałości na rozciąganie oraz modułów Younga badanych materiałów w warunkach *in vitro*
- Fig. 4. Variation of the tensile strengths and Young's moduli of the examined materials in *iv vitro* conditions

W wyniku inkubacji czystego PSU zaobserwowano spadek wytrzymałości na rozciąganie o około 10%, a modułu Younga o 7%, co jest spowodowane jego większą podatnością na deformację w warunkach *in* vitro. Dla kompozytów PSU/HA_n otrzymane różnice w wartościach wytrzymałości na rozciąganie przed i po inkubacji zawarte są w granicach błędu, natomiast dla PSU/HA_s wynoszą około 10%. Za osłabienie właściwości mechanicznych w przypadku kompozytów modyfikowanych hydroksyapatytem syntetycznym mogą być odpowiedzialne reakcje zachodzące na granicach międzyfazowych cząstki-osnowa polimerowa, będące wynikiem penetracji płynu Ringera w głąb materiału. Wartości modułów Younga po inkubacji dla kompozytów nie ulegają istotnym zmianom, co jest spowodowane procesem powstawania apatytu na ich powierzchni w symulowanym środowisku biologicznym. Warstwa hydroksyapatytowa, lokując się na powierzchni, blokuje możliwość penetracji płynu do wnętrza próbek.

W celu określenia trwałości polisulfonu i jego kompozytów modyfikowanych proszkami hydroksyapatytowymi przeprowadzono badania pełzania w czasie 48 godzin w warunkach *in vitro*. W wyniku działania na próbki zróżnicowanych naprężeń mechanicznych otrzymano tzw. rodziny krzywych pełzania (rys. 5). Ich analiza pozwoliła przewidzieć zachowanie badanych materiałów w warunkach zbliżonych do naturalnych, tj. poddanie długotrwałemu działaniu naprężeń mechanicznych i agresywnego środowiska płynów ustrojowych. Dla materiałów kompozytowych zaobserwowano korzystne ograniczenie nadmiernych odkształceń, jednak próbki te ze względu na mniejsze wartości wytrzymałości statycznej pękały wcześniej niż czysty polimer przy takim samym poziomie naprężeń.



PSU/HA_n



Rys. 5. Rodziny krzywych pełzania dla badanych materiałów w warunkach in vitro

Fig. 5. Creep curves at various stress levels under in vitro conditions

Zróżnicowane zachowanie się czystego polimeru i kompozytów z cząstkami hydroksyapatytu w próbie pełzania stwarza konieczność oszacowania tzw. czasu życia (trwałości) w określonych warunkach naprężeń. Wielkość te wyznaczono na podstawie rodzin krzywych pełzania poprzez wyznaczenie zależności między wybranymi obciążeniami (σ) a odpowiadającymi im czasami zniszczenia (t): $\sigma = C_0 - C \ln t (C_0, C - stałe$ wyznaczone empirycznie) [13]. Dla badanych materiałów wyznaczono następujące równania: PSU - σ = = 65,0955 – 2,9924 lnt (współczynnik korelacji = = 0,9924), PSU/HA_s - σ = 56,3835 - 3,3572 lnt (współczynnik korelacji = 0,9743), PSU/HA_n - σ = = 53,9829 – 2,6074 lnt (współczynnik korelacji = = 0,9665). Wstawiając do powyższych równań odpowiedni czas leczenia, można wyznaczyć wielkości obciążeń pozwalających na bezpieczną pracę badanych materiałów (bez zniszczenia) w tym okresie. Na przykład czas leczenia złamań w obrębie części twarzowej czaszki obejmuje najczęściej 4-6 tygodni [14]. Wielkości największych obciążeń, jakie można bezpiecznie stosować przez 6 tygodni dla badanych materiałów, wynoszą odpowiednio: dla PSU - 19,9 MPa, dla PSU/HAs - 5,7 MPa oraz 14,6 MPa w przypadku PSU/HAn. Oznacza to, że polisulfon może przez założony okres czasu bezpiecznie realizować funkcję biologiczną przy poziomie naprężeń odpowiadających ok. 27% jego wytrzymałości wyjściowej. Podobną wartość otrzymano dla kompozytu modyfikowanego hydroksyapatytem naturalnym, dla którego wartość bezpiecznych naprężeń wynosi 28% jego wytrzymałości wyjściowej. Natomiast w przypadku kompozytu modyfikowanego hydroksyapatytem syntetycznym poziom bezpiecznie przenoszonych obciążeń wynosi jedynie 13% jego wytrzymałości wyjściowej. Jest to spowodowane aglomeracją cząsteczek hydroksyapatytu syntetycznego w osnowie oraz zmianami stanu granic międzyfazowych, co zaobserwowano już w przypadku badań statycznych właściwości mechanicznych.

Natomiast dodatek bioaktywnych cząstek do osnowy polimerowej wywiera korzystny wpływ na zachowanie biologiczne kompozytów, które mogą utworzyć mocne połączenie z kością po implantacji. Dla zbadania bioaktywności próbek PSU/HA_s i PSU/HA_n inkubowano je w sztucznym osoczu - SBF w temperaturze 37°C przez 60 dni, a następnie za pomocą mikroskopu skaningowego obserwowano zmiany, które zaszły na ich powierzchni. Za tworzenie bioaktywnych warstw na powierzchni próbek jest odpowiedzialny proces rozpuszczania i wytrącania się hydroksyapatytu w SBF, dlatego w celu ciągłego dostarczania jonów Ca^{2+} i PO_4^{3-} płyn zmieniano co kilka dni.

W zależności od rodzaju cząstek hydroksyapatytowych użytych do modyfikacji polisulfonu zaobserwowano różną szybkość narastania apatytu na powierzchni kompozytów w warunkach *in vitro* (rys. 6). droksyapatytu syntetycznego znacznie obniża poziom przenoszonych obciążeń w stosunku do wytrzymałości wyjściowej, podczas gdy dodatek hydroksyapatytu naturalnego nie powoduje istotnych zmian. Jak stwierdzono, cząstki hydroksyapatytu syntetycznego tworzą aglomeraty w osnowie polimerowej, co niekorzystnie wpływa na właściwości mechaniczne wytworzonych kompozytów. Ponadto zaobserwowano niekorzystne zmiany stanu granic międzyfazowych cząstki ceramiczne-polimer związane z wnikaniem płynów fizjologicznych do kompozytów.

Przeprowadzone badania biologiczne wykazały, że modyfikacja polisulfonu poprzez wprowadzenie do niego nanocząstek hydroksyapatytowych nadaje mu cechy bioaktywne oraz że rodzaj hydroksyapatytu ma znaczą-



Rys. 6. Obrazy SEM powierzchni kompozytów PSU/HA_s i PSU/HA_n: a) wyjściowych, b) po inkubacji w SBF przez 10 dni, c) po inkubacji w SBF przez 60 dni

Fig. 6. SEM micrographs of PSU/HA_s and PSU/HA_n composites: a) starting materials, b) after 10 days of incubation in SBF, c) after 60 days of incubation in SBF

Badania wykazały powstawanie na powierzchni kompozytu PSU/HA_n pojedynczych obszarów drobnych wydzieleń hydroksyapatytu już po 10 dniach inkubacji. Dla kompozytów z cząstkami syntetycznego hydroksyapatytu w żadnym miejscu próbki nie zaobserwowano takich wydzieleń, a nieliczne pojedyncze obszary pojawiły się dopiero po 60 dniach inkubacji. Po tym czasie dla kompozytów z nanocząstkami hydroksyapatytu naturalnego zaobserwowano większe i gęstsze wydzielenia apatytu, które pokrywały prawie całą powierzchnię próbki.

WNIOSKI

Badania wykazały, że dodatek cząstek hydroksyapatytowych do polisulfonu zmienia jego właściwości mechaniczne i biologiczne. Analiza trwałości w sztucznym środowisku biologicznym, uzyskana z badań pełzania, wskazuje, że wprowadzenie do polimeru cząstek hycy wpływ na proces narastania apatytu w warunkach sztucznego środowiska biologicznego. Po jednakowym czasie inkubacji dla kompozytów PSU/HA_n zaobserwowano większe i gęstsze wydzielenia apatytu niż dla kompozytów PSU/HA_s, gdzie widoczne były jedynie ich pojedyncze obszary.

Badania finansowane przez Ministra Nauki i Informatyzacji w ramach grantu KBN nr 3T08D 05228.

LITERATURA

- Mano J.F., Sousa R.A., Boesel L.F., Neves N.M., Reis R.L., Bioinert, biodegradable and injectable polymeric matrix composites for hard tissue replacement: state of the art and recent developments, Comp. Sci. Technol. 2004, 64, 789-817.
- [2] Chłopek J., Kompozyty w medycynie, Kompozyty (Composites) 2001, 1, 1, 50-54.
- [3] Chłopek J., Kmita G., Non-metallic composite materials

for bone surgery, Engineering Transactions 2003, 51, 2, 3, 307-323.

- [4] Bonfield W., Grynpas M.D., Tully A.E., Bowman J., Abram J., Hydroxyapatite reinforced polyethylene a mechanically compatible implant material for bone replacement, Biomaterials 1981, 2, 185.
- [5] Swain R.E., Wang M., Beale B., Bonfield W., HAPEXTM for otologic applications, Biomedical Engineering: Appl. Basis Commum 1999 11, 315.
- [6] Abu Bakar M.S., Cheang P., Khor K.A., Mechanical properties of injection molded hydroxyapatite - polyetheretherketone biocomposites, Comp. Sci. Technol. 2003, 63, 421-425.
- [7] Boeree N., Dove J., Cooper J.J., Knowles J., Hastings G.W., Developmant of a degradable composite for orthopaedic use - mechanical evaluation of an hydroxyapatitepolyhydroxybutyrate composite materials, Biomaterials 1993, 14(10), 793.
- [8] Shikinami Y., Okuno M., Bioresorbable devices made of forged composites of hydroxyapatite (HA) particles and poly
 - L-lactide (PLLA), Part II: practical properties of miniscrews and miniplates, Biomaterials 2001, 22(23), 3197.

- [9] Szaraniec B., Rosół P., Chłopek J., Carbon composite material and polysulfone modified by nano-hydroxyapatite, e-Polymers 030 (2005).
- [10] Rosół P., Chłopek J., Trwałość implantów polimerowoceramicznych, Ceramika/Ceramics 2003, 80, 2003, 211--216.
- [11] Chłopek J., Błażewicz M., Szaraniec B., Wpływ sztucznego środowiska biologicznego na właściwości mechaniczne kompozytów węglowo-fosforanowych, Kompozyty (Composites) 2002, 2, 4, 163-166.
- [12] Haberko K., Bućko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J., Hydroksyapatyt naturalny - preparatyka, właściwości, Inż. Biomateriałów 2003, VI, 30-33, 32-38.
- [13] Wilczyński A.P., Mechanika polimerów w praktyce konstrukcyjnej, Warszawa 1984.
- [14] Cieślik T., Pogorzelska-Stronczak B., Kliniczna ocena płytek i śrub z materiału złożonego węgiel-węgiel stosowanych do zespolenia złamanej żuchwy, Czas. Stomatol. 1996, XLIX, 559-562.

Recenzent Tadeusz Wierzchoń