

## KOMPOZYT POLIMEROWO-CERAMICZNY JAKO POTENCJALNY IMPLANT KOSTNY

AGNIESZKA JELONEK\* , KATARZYNA KILAN,  
AGNIESZKA SKÓRSKA-STANIA, BARBARA OLEKSYN

WYDZIAŁ CHEMII UNIwersYTETU Jagiellońskiego,  
UL. INGARDENA 3, 30-060 KRAKÓW

\*MAILTO: AGNIESZKA.HEFLICH@UJ.EDU.PL

*[Inżynieria Biomateriałów, 99-101, (2010), 125-127]*

Wraz z rozwojem medycyny wzrasta zapotrzebowanie na biomateriały mające za zadanie odbudowę i przywrócenie funkcjonalności uszkodzonych tkanek i organów. Jedną z dziedzin medycyny, która często wykorzystuje biomateriały do naprawy uszkodzonych tkanek jest, szeroko pojęta, chirurgia kostna. Duże znaczenie odgrywają w tym przypadku biomateriały ceramiczne, które mogą być wykorzystywane do leczenia ubytków kostnych. Materiałem ceramicznym stosowanym od lat w medycynie jest hydroksyapatyt. Jest to materiał bioaktywny, który może tworzyć chemiczne wiązanie z kością. Dodatkowo, porowaty hydroksyapatyt, może także ulegać biologicznemu wiązaniu z kością (kość przerasta implant). Hydroksyapatyt nie ulega resorpcji ani biodegradacji w środowisku biologicznym, jest nietoksyczny i nierakotwórczy, a jego skład chemiczny jest zbliżony do składu chemicznego kości. Niestety, jak każdy materiał ceramiczny, hydroksyapatyt jest kruchy i podatny na kruche pękanie. Charakteryzuje się także modulem Younga dużo wyższym od modułu Younga ludzkich kości. Poprawa właściwości mechanicznych materiałów hydroksyapatytowych może być zrealizowana poprzez tworzenie kompozytów np. ceramiczno-ceramicznych lub ceramiczno-polimerowych. Zaletą takich kompozytów jest możliwość zaprojektowania ich w taki sposób, aby posiadały wymagane właściwości mechaniczne, odpowiednią porowatość i niższy moduł Younga.

Szeroko stosowanym w medycynie polimerem jest nietoksyczny i nierakotwórczy polilaktid. Ulega on bioresorpcji w środowisku biologicznym. Główny produkt jego rozkładu, tj. kwas mlekowy, nie jest groźny dla człowieka, gdyż jest wytwarzany w organizmie ludzkim na skutek naturalnych procesów.

Dzięki połączeniu hydroksyapatytu i polilaktidu możliwe jest stworzenie kompozytu o odpowiednich właściwościach mechanicznych oraz dobrej poręczności chirurgicznej. Dodatkowo kompozyt polimerowo-ceramiczny może pełnić funkcję nośnika leków.

Celem tej pracy było stworzenie materiału do produkcji implantów kostnych konkurencyjnego w stosunku do materiałów dostępnych na rynku. Materiał ten docelowo powinien znaleźć zastosowanie w chirurgii twarzoczaszki, a co za tym idzie powinien być poręczny chirurgicznie i ulegać możliwie szybkiej integracji z kością. Ponadto mógłby potencjalnie spełniać rolę nośnika antybiotyku-klindamycyny.

Aby spełnić powyższe oczekiwania wstępnie skupiono się na otrzymaniu porowatych granul hydroksyapatytowych impregnowanych klindamycyną. Próby połączenia antybiotyku i ceramicznych granul nie przyniosły oczekiwanych rezultatów i konieczne są dalsze badania tego układu. Zdecydowano się więc na zastosowanie kompozytu polimerowo-ceramicznego. Wybranymi materiałami do stworzenia kompozytu o wspomnianych właściwościach był syntetyczny hydroksyapatyt i poli(D,L-laktid). Kompozyt miał postać porowatych granul hydroksyapatytowych pokrywanych

## POLYMER-CERAMIC COMPOSITE AS A POTENTIAL BONE IMPLANT

AGNIESZKA JELONEK\* , KATARZYNA KILAN,  
AGNIESZKA SKÓRSKA-STANIA, BARBARA OLEKSYN

FACULTY OF CHEMISTRY, Jagiellonian University, UL. INGARDENA 3, 30-060 KRAKÓW

\*MAILTO: AGNIESZKA.HEFLICH@UJ.EDU.PL

*[Engineering of Biomaterials, 99-101, (2010), 125-127]*

For the last few years we can observe a progress in medicine and an increasing requirements for biomaterials which can help in reconstruction and restoring the functionality of damaged tissues and organs. An osteosurgery is one of the branches of medical science that often use biomaterials to repair damaged tissues. Bioceramics plays a significant role in healing bone defects. Hydroxyapatite is a bioceramic material which is used for many years in medicine. It is bioactive and able to create a chemical bond with bone. Moreover, in its porous form, it can bind to bone in biological way (bone grown into the implant). Hydroxyapatite does not resorb or biodegrade in biological environment. It is non-toxic and non-cancerogenic. Chemical composition of hydroxyapatite is similar to human bone. Unfortunately, it is brittle and has low fracture toughness. Young modulus of hydroxyapatite is much higher than Young modulus of human bone. To improve mechanical properties of hydroxyapatite materials we can create composite materials such as a ceramic-ceramic composite or a polymer-ceramic composite. The great advantage of composite materials is the fact that it is possible to tailor their properties to different requirements.

A polymer which is extensively used in medicine is polylactide. It is non-toxic and non-cancerogenic. In biological environment polylactide is resorbed in controlled way. The main product of its decomposition is lactic acid. It is harmless for human because it is formed in our bodies during natural process.

It is possible to create a composite that has good mechanical properties and is surgically convenient. Additionally it is possible to use a polymer-ceramic composite as a drug carrier.

The purpose of this work was to create a bone implant material that could be competitive to already used materials. Our material could be applied in oral and maxillofacial surgery. This material is required to be surgically convenient and binds to bone in short time after implantation. Potentially it also can be used as a drug carrier for clindamycin.

At first, to perform all requirements, porous hydroxyapatite granules impregnated with clindamycin were obtained. All efforts to connect directly clindamycin and ceramic granules did not bring expected effects and further research is necessary. That is why we created a polymer-ceramic composite. Materials that were used in this work were hydroxyapatite and poly(D,L-lactide). The composite was porous hydroxyapatite granules covered with poly(D,L-lactide). The function of polymer was to increase adhesion and to improve surgical convenience of the implant. Additionally it should allow to incorporate clindamycin into the system. Poly(D,L-lactide) was synthesized in The Centre of Polymer and Carbon Materials of Polish Academy of Sciences in Zabrze. Its molecular weight was 80 kDa.

Synthetic hydroxyapatite was obtained using wet precipitation method. The porous granules were produced by using a method based on liquids immiscibility effect [1]. A

poli(D,L-laktydem). Polimer miał za zadanie zwiększyć adhezję i poprawić poręczność chirurgiczną implantu oraz zapewnić inkorporację klindamycyny do układu. Wykorzystany poli(D,L-laktyd) zsyntetyzowany został w Centrum Materiałów Polimerowych i Węglowych Polskiej Akademii Nauk w Zabrze. Jego masa cząsteczkowa wynosiła około 80 kDa.

Czysty fazowo syntetyczny hydroksyapatyt otrzymano metodą strącaniową. Wykorzystano go do sporządzenia porowatych granul metodą niemieszających się płynów [1]. Do wodnego roztworu żelatyny dodano odpowiednią ilość proszku hydroksyapatytowego. Powstałą zawiesinę wkropiono do schłodzonego oleju, całość mieszano na mieszadle magnetycznym. Na skutek działania sił napięcia powierzchniowego utworzyły się granule, które następnie wypłukano i wysuszono. Wysuszone granule poddano wygrzewaniu w celu wypalenia żelatyny oraz spieczono. Granule hydroksyapatytowe zaprojektowano tak aby mogły być wykorzystywane w leczeniu głębokich kieszonek kostnych, do powiększania zanikłej krawędzi wyrostka zębodołowego, do uzupełniania ubytków kostnych po zabiegach hemisekcji, radektomii, amputacji korzenia zęba lub po operacji cyst korzeniowych oraz do wypełnień niewielkich ubytków kostnych po usuniętych torbielach i guzach lub powstałych na skutek urazów. Granule pokrywane były polimerem. W tym celu odpowiednią ilość poli(D,L-laktydu) rozpuszczono w rozpuszczalniku i dodano granule. Całość mieszano na mieszadle magnetycznym na wysokich obrotach przez kilka minut. Następnie granule suszono na polimerowym podłożu w atmosferze powietrza.

Analiza otrzymanych granul za pomocą metody mikroskopii elektronowej (SEM) wykazała, że ich rozmiar waha się w przedziale od około 200 do 900  $\mu\text{m}$ . Taki rozmiar granul powinien gwarantować zarówno możliwość ich zastosowania do uzupełniania nawet niewielkich ubytków kostnych, jak i dobrą poręczność chirurgiczną (możliwość aplikacji przez strzykawkę). Granule były porowate aby umożliwić kości przerastanie implantu [2,3,4] oraz ułatwić uwalnianie się klindamycyny. Otrzymano trzy serie granul o zaprojektowanej porowatości: pierwsza seria miała zostać zaimpregnowana lekiem zaś dwie następne miały być jedną z faz kompozytu. Porowatość wszystkich granul zbadano metodą hydrostatyczną i wynosiła ona odpowiednio: około 25% oraz 25% i 40%.

Aby zaimpregnować porowate granule klindamycyną przygotowano porcję granul o określonej objętości. Następnie umieszczono je we wcześniej przygotowanym wodnym roztworze klindamycyny, intensywnie wymieszano i pozostawiono do wyschnięcia w atmosferze powietrza.

W celu wytworzenia kompozytu granule pokrywano warstwą poli(D,L-laktydu)-amorficznego polimeru o niewielkiej masie cząsteczkowej, a co za tym idzie o niewysokiej wytrzymałości mechanicznej oraz stosunkowo krótkim czasie degradacji. Warstwa stanowiła odpowiednio 20% i 40% wagowych granul. Przy użyciu metody mikroanalizy rentgenowskiej potwierdzono obecność pokrycia polimerowego. Zbadano degradację polimeru w PBS w temperaturze około 37-40°C po 10 dniach. Ubytek masy odpowiednio dla danej serii granul wynosił około 15% i 18% wagowych polimeru.

Ważnym atutem implantu polilaktydowo-hydroksyapatytowego w postaci niewielkich granul jest możliwość mieszania go z klejem kostnym lub krwią i aplikacji przez strzykawkę, co dodatkowo zwiększa jego adhezję do ścian ubytku oraz poprawia poręczność chirurgiczną.

W przypadku granul hydroksyapatytowych, które były impregnowane klindamycyną (bez dodatku polimeru) przeprowadzono badania mające na celu charakterystykę układu. Ustalono, że klindamycyna nie jest związkami, którego wodne roztwory można efektywnie badać za pomocą

hydroksyapatite powder was added to aqueous solution of gelatin. Vegetable oil was cooled and a hydroxyapatite-gelatin suspension was dropped in. Mixture of this immiscible liquids was stirred on magnetic stirrer. Granules were formed due to the surface tension forces. Obtained granules were washed and dried. Afterwards, dry granules were heated due to burn of gelatine and sintered. Granules were designed to healing periodontal pockets, alveolar bone, to fill bone defects after: hemisection, radectomy, amputation the root of a tooth or root cyst and tumor surgery and also the defects formed after injuries.

Granules were covered with polymer. Poly(D,L-lactide) was dissolved and granules were added. It was stirred on magnetic stirrer for few minutes. Afterwards granules were dried on polymer base in air atmosphere.

The SEM analysis of granules showed that their dimensions range from 200 to 900  $\mu\text{m}$ . Granules of such dimensions should be appropriate to fill in even small bone defects and they should be surgically convenient (the possibility of injection by syringe).

To enable bone growth into implant the porous granules were designed [2,3,4]. Pores also facilitate the release of clindamycin. Three series of granules with designed porosity were produced: first one impregnated with clindamycin and two others that would be used as one of the phases of composite. Porosity of all series were examined using hydrostatic method and it was about 25%, 25% and 40%, respectively.

A portion of porous granules was prepared to impregnate it with clindamycin. Afterwards, the aqueous solution of clindamycin was prepared and the portion of granules was placed into it. Everything was mixed vigorously and left to dry in the air atmosphere.

Two other series of granules (25% and 40% porosity) were covered with poly(D,L-lactide). Poly(D,L-lactide) is an amorphous polymer with low molecular weight and low mechanical properties as well as relatively short time of degradation. The mass of the polymer layer in both mentioned series was about 20% and 40% of the total granules weight, respectively. The presence of polymer layer was confirmed by X-ray microanalysis. The degradation of polylactide was investigated in PBS at 37-40°C after 10 days of immersion. The mass loss for each granules series was 15% and 18%, respectively.

The important advantage of polylactide-hydroxyapatite implant in the form of small granules is the possibility of mixing it with bone glue or blood and injection by syringe which additionally improve adhesion and surgical convenience.

In the case of hydroxyapatite granules, which were impregnated with clindamycin (without polymer layer), the investigation of the system was carried out. It was shown that clindamycin is the compound the aqueous solutions of which can not be effectively investigated by UV-VIS spectroscopy [5]. Further investigations were focused on finding an experimental method to examine hydroxyapatite-clindamycin system. Raman spectroscopy methods were performed. Unfortunately, the Raman scattering cross-section of hydroxyapatite was much higher than that of clindamycin. The system was also characterised by IR spectroscopy method. However, the results were ambiguous.

In conclusion, the system: hydroxyapatite granules-clindamycin was difficult to describe and investigate, so the further examination is required.

In the case of polymer-hydroxyapatite composite - a potential bone implant, it was established that it is possible to obtain this material in form of porous hydroxyapatite granules covered with polylactide. The great advantage of these system is the possibility of modification the granule size,

spektroskopii UV-VIS [5]. Dalsze badania ograniczyły się do znalezienia metody doświadczalnej zbadania układu hydroksyapatyt-klindamycyna. Sprawdzono użyteczność metod spektroskopii ramanowskiej, niestety niekorzystny stosunek przekrojów czynnych na rozpraszanie Ramana klindamycyny w stosunku do hydroksyapatytu uniemożliwił wykorzystanie tej metody. Układ próbowano charakteryzować również metodą spektroskopii w podczerwieni, niestety otrzymane wyniki były niejednoznaczne.

Podsumowując wyniki tej pracy można stwierdzić, że charakterystyka układu: porowate granule hydroksyapatytowe - klindamycyna nie daje jednoznacznych wyników i układ powinien być dokładniej zbadany. W przypadku kompozytu ceramiczno – polimerowego, mającego służyć jako implant kostny, okazało się, że możliwe jest otrzymanie takiego materiału w formie porowatych granul hydroksyapatytowych pokrywanych polilaktydem. Zaletą takiego układu jest możliwość modyfikacji wielkości granul, ich porowatości oraz grubości pokrycia polimerowego. Kompozyt ten, po inkorporacji klindamycyny do polimeru, mógłby służyć jako nośnik leku.

porosity and thickness of polymer layer. After incorporation of clindamycin into polymer this composite material could be used as a drug carrier.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Komlev, V.S., Barinov S.M., Koplík E.V.: A method to fabricate porous spherical hydroxyapatite granules intended for time controlled drug release. *Biomaterials* 2002 23 s.3449 – 3454
- [2] Ślósaraczyk A. Biomateriały ceramiczne. [W:] *Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000. Tom 4. Biomateriały*. Redaktorzy tom: Błażewicz S., Stoch L. Warszawa: Akademicka Oficyna Wydawnicza EXIT, 2003 s.99-149. Redaktor serii: Maciej Nałęcz
- [3] Sopyan I., Melb M., Ramesh S., Khalid K.A.: Porous hydroxyapatite for artificial bone applications. *Science and Technology of Advanced Materials* 2007 8 s.116-123
- [4] Orlovski V.P., Komlev V.S., Barinov S.M.: Hydroxyapatite and Hydroxyapatite-Based Ceramics. *Inorganic Materials* 2002 vol. 38 nr 10, 2002 s.973-984
- [5] Amin A.S. Spectrophotometric and conductometric determination of clindamycin hydrochloride in pure form and pharmaceutical preparations, *Analisis* 1995 23 s.415-417