

## BIOAKTYWNE KOMPOZYTY GRADIENTOWE

JAN CHŁOPEK, BARBARA SZARANIEC, MAŁGORZATA MICHALSKA

AGH, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ I CERAMIKI,  
KATEDRA BIOMATERIAŁÓW  
AL. MICKIEWICZA 30, 30 – 059 KRAKÓW,

### Streszczenie

*W pracy przedstawiono wyniki badań kompozytów o osnowie z polimeru resorbowalnego PGLA modyfikowanych proszkami, takimi jak: HAp naturalny (HAp<sub>n</sub>), HAp syntetyczny (HAp<sub>M</sub>), bioszkló, TCP i proszek alginianowy. Kompozyty inkubowano w wodzie destylowanej i na podstawie obserwacji mikroskopowych oraz pomiarów przewodnictwa płynu oceniano ich zachowanie „in vitro”. W badaniach mechanicznych określano również wytrzymałość na rozciąganie kompozytów. Uzyskane wyniki badań pozwoliły na zaprojektowanie i wykonanie kompozytów gradientowych o kontrolowanej szybkości rozpuszczania poszczególnych faz.*

[Inżynieria Biomateriałów, 58-60,(2006),94-97]

### Wprowadzenie

Nową grupę materiałów implantacyjnych mogą stanowić biomimetyczne kompozyty o budowie gradientowej. Większość naturalnych tkanek wykazuje taką budowę i charakteryzuje się zmiennymi właściwościami w określonych kierunkach. Z punktu widzenia zastosowań biomedycznych do najważniejszych gradientów możemy zaliczyć gradient modułu Younga obecny szczególnie w tkance kostnej, który decyduje o właściwościach mechanicznych i kierunkowym rozkładzie naprężeń [1,2]. Inne gradienty mogą być rezultatem złożonej warstwowej budowy kości, zawartości i gęstości faz mineralnych oraz zdolności do przebudowy [3]. Wykorzystanie wielofunkcyjnych implantów w medycynie regeneracyjnej wymaga zastosowania kombinacji różnych biozgodnych faz, z których wydają się, że największe znaczenie mogą mieć kompozycje polimerowo-ceramiczne [4,5]. Mogą one prowadzić do otrzymania implantów czasowych z polimerów resorbowalnych modyfikowanych cząstkami ceramicznymi o właściwościach bioaktywnych. Połączenie idei materiału kompozytowego i materiału gradientowego może otworzyć nowe możliwości otrzymywania biofunkcyjnych implantów, lepiej dopasowanych pod względem budowy i właściwości do otaczających tkanek. Celem pracy było opracowanie metody otrzymywania materiałów kompozytowych gradientowych o kontrolowanej bioaktywności i szybkości rozpuszczania w środowisku biologicznym.

### Materiały i metody

Badania wykonywano na foliach kompozytowych o osnowie polimerowej z poli(laktydu-ko-glikolidu), PLA:PGA-83:17,  $M_n = 75$  kDa, dyspersja masy  $D = 2.1$ , wytworzonego w Centrum Chemii Polimerów PAN w Zabrzu [6]. Jako fazy modyfikujące użyto następujących proszków:

1. hydroksyapatyt pochodzenia naturalnego, uzyskany z części korowej kości wołowej w Katedrze Ceramiki Specjalnej AGH, o następującej charakterystyce: powierzchnia właściwa 71,4 [m<sup>2</sup>/g], gęstość 3,16 [g/cm<sup>3</sup>], skład tlenkowy [%]: CaO - 51,37; MgO - 0,62; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 37,76; Ca/P - 1,72. [7];
2. syntetyczny HAp firmy Mitsubishi (Japonia): powierzchnia

## BIOACTIVE GRADED COMPOSITES

JAN CHŁOPEK, BARBARA SZARANIEC, MAŁGORZATA MICHALSKA

AGH-UST, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND CERAMICS,  
DEPARTMENT OF BIOMATERIALS,  
AL. MICKIEWICZA 30, 30-684 KRAKÓW

### Abstract

*The results are reported on investigation of composites with resorbable polymer PGLA matrix, modified with powders such as natural HAp (HAp<sub>n</sub>), synthetic HAp (HAp<sub>M</sub>), bioglass, TCP and alginate powder. Composites were incubated in distilled water and based on microscopic observations and measurements of conductivity of the liquid, their „in vitro” behaviour has been evaluated. Tensile strengths of composites were determined in standard mechanical tests. Obtained results enabled to design and manufacture graded composites with controlled solubility of specific component phases.*

[Engineering of Biomaterials, 58-60,(2006),94-97]

### Introduction

The biomimetic composites with graded structure may constitute the new group of implant materials. The majority of natural tissues represent the same structure and can be characterized by properties varying with directions. The Young modulus gradient existing in bone tissue may be considered as one of the most important gradients from the point of view of biomedical applications. It determines both the mechanical properties and the directional stress distribution [1,2]. Other gradients may result from complex bone composition, the content and density of mineral phases and the reconstruction capability [3].

The utilization of multifunctional implants in regenerative medicine requires the application of combination of various biocompatible phases, among which the polymer-ceramic compositions seem to be of major importance [4,5]. They may be conducive to fabrication of temporary implants made of resorbable polymers modified with ceramic particles having bioactive properties. The combination of the concept of composite material and the graded material may open new opportunities for manufacturing of biofunctional implants with better adjustment of their structure and properties to the surrounding body cells.

The goal of this work was to develop the method of obtaining graded composite materials with controlled bioactivity and the velocity of dissolution in biological environment.

### Materials and methods

The experiments were carried out on composite foils with polymer matrix of poly(lactide-co-glycolide), PLA: PGA-83:17,  $M_n = 75$  kDa, mass dispersion  $D = 2.1$ . Materials were made at the Centre for Polymer Chemistry PAN in Zabrze, Poland [6]. Following powders were applied as modifying phases:

1. Hydroxyapatite of natural origin, obtained from the core part of steer bone at the Chair of Special Ceramics AGH Krakow, Poland, with following characteristics: specific surface 71,4 [m<sup>2</sup>/g], density 3,16 [g/cm<sup>3</sup>], oxide composition [%]: CaO - 51,37; MgO - 0,62; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 37,76; Ca/P - 1,72. [7];
2. Synthetic HAp made by Mitsubishi (Japan): spec. surface

właściwa 69,8 [m<sup>3</sup>/g], gęstość 3,16 [g/cm<sup>3</sup>], skład tlenkowy [%]: CaO - 51,65; MgO - 0,05; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 38,88; Ca/P - 1,68.

3. TCP firmy Aldrich: Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>≥96.0%;

4. bioszko (symbol A2) o składzie: SiO<sub>2</sub>=40 %mol, CaO=54 %mol, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>=6 %mol otrzymano metodą zol-żel w Katedrze Technologii Szkła i Powłok Amorficznych AGH, stosując jako substancje wyjściowe następujące związki: tetraetoksykrzemian (TEOS), fosforan (V) trietylu (OP(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>), uwodniony azotan wapnia (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>\*4H<sub>2</sub>O) [8].

5. Proszek alginianowy (alginian wapnia) o masie cząsteczkowej ok. 198 kDa, zawierający: 18-27% popiołu [9].

Wyjściowe materiały modyfikujące oraz kompozyty polimerowe inkubowano w wodzie destylowanej w temperaturze 37°C i mierzono zmiany przewodnictwa elektrycznego wody destylowanej za pomocą konduktometru mikrokomputerowego firmy Elmetron typ CC-315.

Obserwację zmian zachodzących na powierzchni próbek inkubowanych wykonano za pomocą mikroskopu optycznego Nikon Epiphot 300 oraz mikroskopu skaningowego Jeol JSM-5400 z mikroanalizatorem rentgenowskim LINK ISIS Seria 300.

Właściwości mechaniczne zbadano przy użyciu uniwersalnej maszyny wytrzymałościowej Zwick 1435.

Na podstawie uzyskanych wyników zaprojektowano materiał gradientowy o kontrolowanej szybkości rozpuszczania poszczególnych faz.

## Wyniki i dyskusja

Na RYSUNKU 1 przedstawiono zmiany przewodnictwa elektrycznego wody destylowanej w trakcie inkubacji różnego typu modyfikatorów. Największe zmiany przewodnictwa obserwuje się dla proszku alginianowego oraz bioszka (rys. 1a). W zakresie przewodnictwa od 0-100 μS/cm (rys.1b) niewielkie różnice występują pomiędzy hydroksyapatytami (w zależności od ich pochodzenia), polimerem resorbowalnym oraz TCP. Podkreślenia wymaga fakt, że największą rozpuszczalnością z pośród badanych cząstek hydroksyapatytów charakteryzuje się hydroksyapatyt pochodzenia naturalnego o nanometrycznej wielkości ziaren. Najmniejszą rozpuszczalność wykazuje natomiast czysty polimer resorbowalny.

69,8 [m<sup>3</sup>/g], density 3,16 [g/cm<sup>3</sup>], oxide composition [%]: CaO - 51,65; MgO - 0,05; P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 38,88; Ca/P - 1,68.

3. TCP by Aldrich: Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>≥96.0%;

4. Bioglass (denoted as A2) of composition: SiO<sub>2</sub> - 40 mol %, CaO - 54mol%, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> - 6mol%, obtained by sol-gel method at the Chair of Technology of Glass and Amorphous Films AGH Krakow, Poland, using following substances as initial components: tetraetoxysilicate (TEOS), triethyl phosphate (V) (OP(OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>), hydrated calcium nitrate (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>\*4H<sub>2</sub>O) [8].

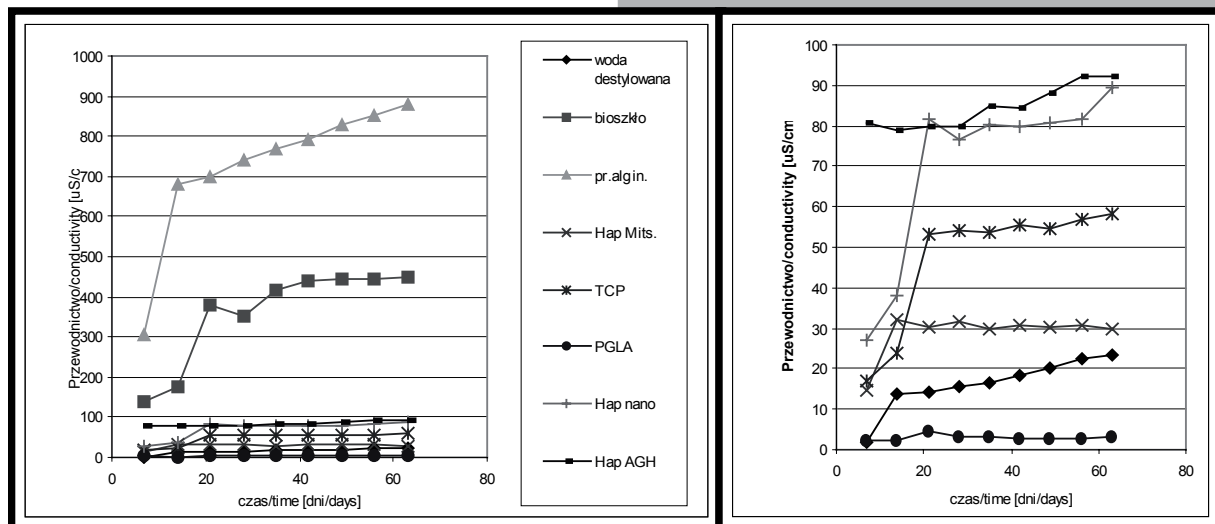
5. Alginate powder (calcium alginate) of molecular weight around 198 kDa, with 18-27% ash content [9].

Initial modifying materials as well as polymer composites were incubated in distilled water at the temperature of 37°C. Variations of electrical conductivity were measured using the conductometer Elmetron typ CC-315. Observations of changes occurring on surfaces of incubated samples were performed using both optical microscope Nikon Epiphot 300 as well as scanning electron microscope (Jeol JSM-5400) equipped with X-ray microanalyzer (LINK ISIS Series 300). Mechanical properties were examined using universal testing machine (Zwick 1435). Based on obtained results new graded material was designed with controlled solubility of specific phases.

## Results and discussion

FIG.1 shows the variation of electrical conductivity of distilled water during incubation of various types of modifying agents. The most significant changes of conductivity can be observed for alginate powder and the bioglass (FIG.1a). Small variations occur among the hydroxyapatites (depending on their origin), resorbable polymer and TCP (FIG.1b). It should be pointed out that natural origin hydroxyapatite with nanometric grain size shows the highest solubility among the examined hydroxyapatite particles. The lowest solubility is shown by the pure resorbable polymer.

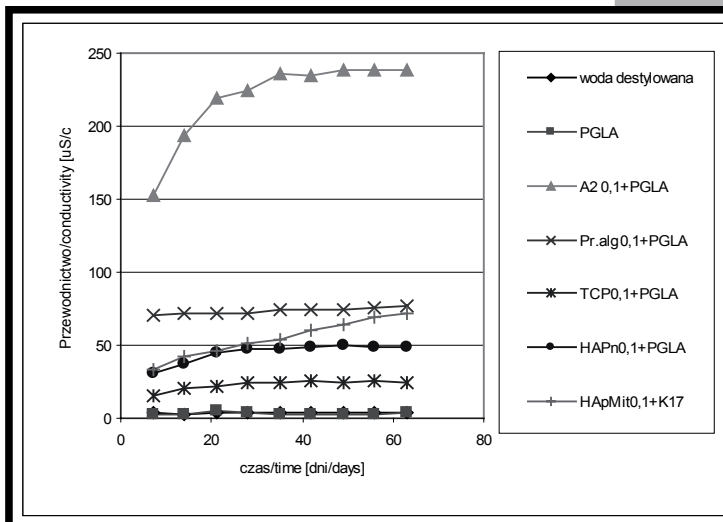
Modifying agents of varying solubility constituted the filler material in composites with resorbable polymer matrix. The results of measurements of electrical conductivity of water during incubation of composite samples (FIG.2) indicate that



**RYS.1. Zmiany przewodnictwa wody destylowanej w funkcji czasu inkubacji badanych próbek.**

**FIG.1. Variations of conductivity of distilled water as a function of incubation time of the examined samples.**

composites with bioglass filler present the most pronounced changes. These results prove that the resorption process can be affected by many other factors, related mainly to the existence of interphase boundaries and also particle agglomeration within the composite. In each case the introduction of modifying particles examined the electric conductivity of



**RYS.2.** Zmiany przewodnictwa wody destylowanej w funkcji czasu inkubacji folii kompozytowych.  
**FIG.2.** Variations of conductivity of distilled water vs incubation time of composite foils.

Modyfikatory o różnej rozpuszczalności stanowiły wypełniacz w materiałach kompozytowych, w których funkcję matrycy spełniał polimer resorbowalny. Jak wykazały badania zmian przewodnictwa elektrycznego wody (RYS.2) w trakcie inkubacji próbek kompozytowych największymi zmianami charakteryzują się kompozyty z wypełniaczem z bioszkiełka. Świadczy to o tym, że o przebiegu procesu resorpcji mogą decydować także inne czynniki związane głównie z obecnością granic międzyfazowych oraz aglomeracją cząstek w kompozycie. W każdym przypadku wprowadzenie badanych cząstek modyfikujących podwyższa przewodnictwo elektryczne wody destylowanej.

Analiza mikroskopowa pokazała, że proces rozpuszczania ma miejsce na wprowadzonych cząstkach modyfikatora, a proces resorpcji polimeru zaczyna się na granicy faz cząstka-polimer (RYS.3).

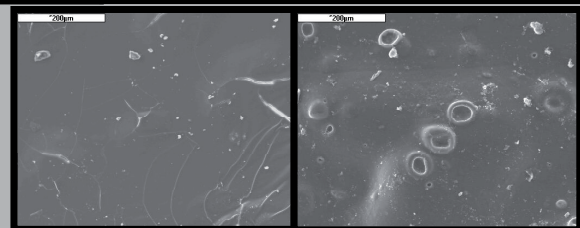
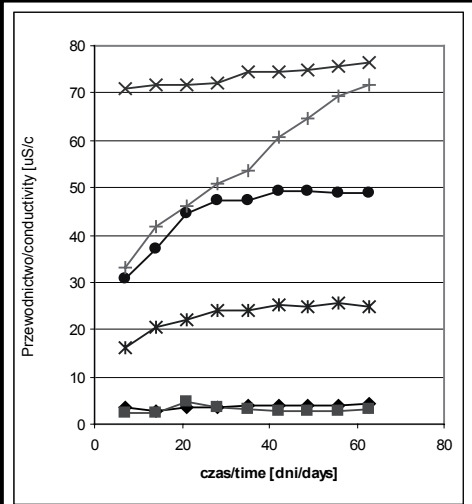
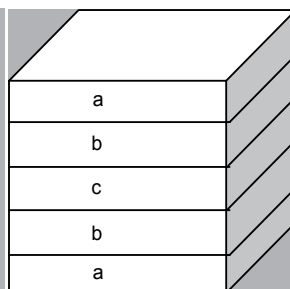
W pracy badano także właściwości mechaniczne błonek kompozytowych w próbie rozciągania. Wyniki przedstawiono w TABELI 1. Najlepszą wytrzymałość na rozciąganie wykazują błonki modyfikowane TCP oraz hydroksyapatytem o nanometrycznej wielkości ziaren.

Na podstawie uzyskanych wyników przedstawiono projekt kompozytu gradientowego o zmieniającej się rozpuszczalności: największej wewnątrz kompozytu i stopniowo zmieniającej się do powierzchni (RYS.4). Tego typu kompozyt może stymulować wzrost regenerujących się tkanek w określonym miejscu i określonych kierunkach.

1. Kompozyt z Hap-u naturalnego – gradient bioaktywności

- HAP natur. (25 %mas)
- HAP natur. (12.5 %mas)
- HAP natur. (3.1 %mas)

**RYS.4.** Schemat kompozytu gradientowego.  
**FIG.4.** Schematic diagram of graded composite.



**RYS.3.** Obrazy SEM powierzchni próbek po trzymiesięcznej inkubacji w warunkach in vitro: a) folia z PGLA, b) PGLA+HAP naturalny (25 %mas).  
**FIG.3.** SEM microphotographs of samples surfaces after 3 months incubation a) PGLA foil, b) PGLA+Hap natural (25 mass%).

distilled water increases.

The results of microscopic analysis indicate that the dissolution process occurs on particles of modifying agent introduced, while the polymer resorption process commences at the particle-polymer boundary (FIG.3).

Mechanical properties of composite thin foils have been examined in this work in tensile strength tests. The results are summarized in TABLE 1. The best tensile strength is shown by foils modified with TCP and hydroxyapatite with nanometric grain size.

Based on obtained results the design has been proposed for new graded composite of varying solubility: largest inside and gradually decreasing towards surface (FIG.4). Such composite can stimulate growth of tissues undergoing regeneration in the specific area and in desired directions.

Rodzaj materiału Type of material	PGLA	PGLA+ HAp naturalny PGLA+	PGLA+HAp Mit- subishi	PGLA+TCP	PGLA+ proszek alginiano- wy PGLA+	PGLA+ bioszkiełko PGLA+ bioglass
Rm	32,27	38,85	36,61	48,85	30,42	35,90
E	1,43	1,68	1,51	2,43	1,42	1,73

**TABELA 1.** Właściwości mechaniczne błonek kompozytowych ( udział 6,25% mas).  
**TABLE 1.** Mechanical properties of composite thin foils (contribution 6,25 mass %).

- b) HAP natur. (12.5 %mas)  
 a) HAP natur. (25 %mas)
2. Kompozyt z gradientem resorpcji + bioaktywności
- a) HAP natur.  
 b) TCP  
 c) HAP Mits.  
 b) TCP  
 a) HAP natur.

## Wnioski

Wprowadzenie bioaktywnych proszków modyfikujących przyspiesza degradację kompozytów w porównaniu z czystym polimerem PGLA. Rodzaj cząstek, ich udział objętościowy, aglomeracja oraz wielkość ziaren ma wpływ na proces rozpuszczania kompozytowych faz w środowisku wodnym. Pozwala to sterować procesem degradacji polimeru oraz otwierania się porów w materiale kompozytowym. Na podstawie uzyskanych wyników opracowano materiał gradientowy o zróżnicowanej zdolności poszczególnych faz do rozpuszczania w środowisku biologicznym i tym samym o zróżnicowanej zdolności do przerastania odbudowującą się tkanką.

## Podziękowania

*Praca finansowana przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach projektu PBZ-KBN-100/T08/2003*

## Piśmiennictwo

- [1] Błażewicz S., Stoch L.: Biomateriały, tom 4, Biocybernetyka i inżynieria biomedyczna 2000, Akademicka oficyna wydawnicza ELIT, Warszawa 2003.
- [2] Będziński R.: Biomechanika inżynierska, Wrocław 1997.
- [3] Szamański A.: Biomineralizacja i biomateriały, PWN, Warszawa 1991.
- [4] Chłopek J., Morawska A., Adwent M., Cieślak-Bielecka A., Cieślak M.: Degradacja kompozytów kompozytów polimerów resorbowlanych w warunkach in vivo. Inżynieria biomateriałów 47-53, (2005), 197-202.
- [5] Rosół P., Chłopek J., Pielichowska K., Pielichowski J., Mulica D.: Wpływ dodatków modyfikujących na właściwości poli(laktydo-glikolidu) w warunkach in vitro, Inżynieria biomateriałów 47-53, (2005), 88-92.

1. Composite with natural HAp – bioactivity gradient
- a) HAP natur. (25 mass%)  
 b) HAP natur. (12.5 mass%)  
 c) HAP natur. (3.1 mass%)  
 b) HAP natur. (12.5 mass%)  
 a) HAP natur. (25 mass%)
2. Composite with resorption gradient + bioactivity
- a) HAP natur.  
 b) TCP  
 c) HAP Mits.  
 b) TCP  
 a) HAP natur.

## Conclusions

Introduction of bioactive modifying powders accelerates the degradation of composites as compared to pure PGLA polymer. Type of particles, their volume content, state of agglomeration as well as their grain size affect the process of dissolution of composite phase in aqueous environment. This allows to control the polymer degradation process and the opening of pores within the composite material. Based on obtained results the design for graded material has been developed with differential solubility of particular phases in biological environment, thus with differential ability of ingrowth of tissue being restored.

## Acknowledgements

*This work was supported by Ministry of Science and Higher Education. Project PBZ-KBN-100/T08/2003*

## References

- [6] Dobrzyński P., Kasperczyk J., Bero M., Nowe możliwości syntezy i zastosowania w medycynie biodegradowalnych kopolimerów glikolidu nie zawierających cyny. Inżynieria Biomateriałów 23-25, (2002), 27-29.
- [7] Haberko K., Bućko M., Haberko M., Mozgawa W., Pyda A., Zarębski J., Hydroksyapatyt naturalny – preparatyka, właściwości. Inżynieria Biomateriałów 30-33, (2003), 32-38.
- [8] Sindut R., Łączka M., Cholewa-Kowalska K., Kajman J., Szymońska J.: Porowate spieki bioaktywne, Inżynieria Biomateriałów 45, (2005), 16-23.
- [9] Stodolak E.: Włókniste materiały węglowe modyfikowane alginianami. Inżynieria Biomateriałów 27, (2003).