

Mechanische und rheologische Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen

Dissertation zur Erlangung des
naturwissenschaftlichen Doktorgrades
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Dipl.-Chem. Kerstin Spatz
aus Gerbrunn

Würzburg, 2013



Eingereicht bei der Fakultät für Chemie und Pharmazie am

27.03.2013

Gutachter der schriftlichen Arbeit

1. Gutachter: Prof. Dr. Jürgen Groll

2. Gutachter: Prof. Dr. Gerhard Sextl

Prüfer des öffentlichen Promotionskolloquiums

1. Prüfer: Prof. Dr. Jürgen Groll

2. Prüfer: Prof. Dr. Gerhard Sextl

3. Prüfer: Prof. Dr. Uwe Gbureck

Datum des öffentlichen Promotionskolloquiums

17.11.2015

Doktorurkunde ausgehändigt am

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	1
2. KENNNTNISSTAND	5
2.1 Chemie der Abbindereaktion von Calciumphosphat-Zementen	5
2.2 Reaktivität von Calciumphosphaten in Calciumphosphat-Zementen.....	8
2.3 Hydroxylapatit-Zemente	10
2.4 Bruschit-Zemente	11
2.5. Rheologische Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen	14
3. MATERIAL UND METHODEN	19
3.1 Chemikalien.....	19
3.2 Herstellung und Mahlung von Calciumphosphaten	20
3.2.1 Nassmahlung von Calciumcarbonat und Calciumhydrogenphosphat	20
3.2.2 Tetracalciumphosphate	20
3.2.3 α -Tricalciumphosphate	22
3.2.4 Calciumphosphat-Zemente auf Basis von TTCP und DCPA.....	23
3.2.5 Calciumphosphat-Zemente auf Basis von α -Tricalciumphosphat.....	24
3.2.5 Synthese von Hydroxylapatit	24
3.3 Charakterisierung von Materialeigenschaften	25
3.3.1 Oberflächen- und Partikelanalyse	25
3.3.2 Ermittlung des Protolysegrads.....	28
3.3.3 Potentiometrische Bestimmung von Calciumionen	29
3.3.4 Zetapotentiale (ζ -Potential, Oberflächenpotential).....	32
3.3.5 Initiale Abbindezeit	33
3.4 Mechanische Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen.....	35
3.4.1 Mechanische Stabilität mit Vorverdichtung der Zementpaste.....	36
3.4.2 Mechanische Eigenschaften ohne Vorverdichtung der Zementpaste.....	38
3.5 Rheologie und Injizierbarkeit von Calciumphosphat-Zementen.....	38
4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION	40
4.1 Dotierung von Calciumphosphat-Zementen mit Metalloxiden	41
4.1.1 Metalloxiddotierte Tetracalciumphosphate	42
4.1.2 Metalloxiddotierte Calciumphosphat-Zemente	47
4.1.3 Diskussion	53
4.1.4 Ausblick	59

4.2	Injizierbare TTCP/DCPA-Zemente durch Einstellung der Partikelladung	61
4.2.1	Calciumphosphat-Zemente auf Basis von TTCP und DPCA.....	63
4.2.2	Diskussion	72
4.2.3	Ausblick.....	77
4.3	Einfluss der Partikelgrößen-Verteilung im α -TCP-System.....	78
4.3.1	Calciumphosphat-Zemente aus mechanisch aktiviertem α -TCP	80
4.3.2	Diskussion	90
4.3.3	Ausblick.....	93
5.	ZUSAMMENFASSUNG.....	94
6.	SUMMARY.....	96
7.	LITERATURVERZEICHNIS.....	98

Abkürzungen

ASTM	American Society for Testing and Materials (heute: ASTM International)
ACP	Amorphous Calcium Phosphate, amorphes Calciumphosphat
BSE	Backscattering Electrons, Rückstreuelektronen
CaCl ₂	Calciumchlorid
CaCO ₃	Calciumcarbonat
CaHPO ₄	Dicalciumphosphat Anhydrid (Monetit)
Ca(OH) ₂	Calciumhydroxid
CaO	Calciumoxid
CaP	Calciumphosphat(e)
Ca/P	Calcium/Phosphat-Verhältnis
CaSiO ₃	Calciumsilikat
CaTiO ₃	Calciumtitanat
CaZrO ₃	Calciumzirkonat
CC	Calciumcarbonat
CDHA	calcium-deficient hydroxyapatite, Calciumarmer Hydroxylapatit
CPC	Calciumphosphat-Zement
CS	Compressive Strength, Druckfestigkeit
CSD	Critical size defect
CT	Cohesion time, Kohäsionszeit
Cts	Counts, Zählereignisse
d ₅₀	Medianwert, Maß für die mittlere Partikelgröße
DCPA	Dicalciumphosphat Anhydrid (Monetit)
DCPD	Dicalciumphosphat Dihydrat (Bruschit)
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DTS	Diametral Tensile Strength, Diametrale Zugfestigkeit
EDX	Energy Dispersive X-ray Spectroscopy, Energiedispersive Röntgenspektroskopie
EtOH	Ethanol
FAP	Fluorapatit
HA	Hydroxylapatit
HAC	Hydroxylapatit-Zement
HEPES	N-(2-Hydroxyethyl)piperazin-N'-(2-ethansulfonsäure)hemi-natriumsalz, C ₈ H ₁₈ N ₂ O ₄ S
H ₂ O dest.	destilliertes Wasser
H ₃ PO ₄	Phosphorsäure
ISA	Ionic Strength Adjustor
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards (heute: International Centre for Diffraction Data, ICDD)

KBr	Kaliumbromid
KCl	Kaliumchlorid
N	Newton
LP	Löslichkeitsprodukt
MCPA	Monocalciumphosphat Anhydrid
MCPM	Monocalciumphosphat Monohydrat
MO ₂	Metalloxid, Metall(IV)oxid
MPa	Megapascal (N/mm ²)
NaCl	Natriumchlorid
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
Na ₃ zitrat	tri-Natriumzitrat Dihydrat
NH ₄ Cl	Ammoniumchlorid
OCP	Octacalciumphosphat
OHAp	Hydroxylapatit
PBS	Phosphate Buffered Saline, phosphatgepufferte Salzlösung
pHA	Precipitated Hydroxyapatite
PGA	Polyglycolic Acid
P/L	Pulver/Lösungsmittel
PLA	Polylactic Acid
PLR	Powder/Liquid-Ratio
PMMA	Polymethylmethacrylat
iso-PrOH	iso-Propanol
REM	Rasterelektronenmikroskopie
RT	Raumtemperatur
SE	Secondary Electrons, Sekundärelektronen
SiO ₂	Silicium(IV)oxid
ST	Setting Time, Abbindezeit
α- / β-TCP	α- / β-Tricalciumphosphat (Whitlockit)
TG	Thermogravimetrie
TiO ₂	Titanium(IV)oxid (Rutil)
TTCP	Tetracalciumphosphat (Hilgenstockit)
m-TTCP	Tetracalciumphosphat, versetzt mit Metall(IV)oxid
V	Volt
wt%	Weight Percent, Percent By Weight, Gewichtsprozent
XRD	X-Ray Diffraction, Röntgendiffraktometrie
ζ-Potential	Zetapotential, Oberflächenpotential
ZrO ₂	Zirkonium(IV)oxid

1. EINLEITUNG

Der Verlust von Knochenmaterial durch tumoröse oder infektiöse Erkrankungen, unfallbedingte Traumata oder Abnutzungen infolge von Fehlbelastungen (Verschleiß) wird ebenso wie kongenitale Knochendefekte durch die Transplantation körpereigener Hartschubstanz oder Implantation künstlicher Materialien ausgeglichen. Neben der Biokompatibilität stellen Osseoinduktion und -integration wichtige Parameter in der Verwendung von Knochenersatzwerkstoffen dar. Die Einheilungsrate sowie das Abbauverhalten solcher Ersatzwerkstoffe werden von den Oberflächeneigenschaften des Implantats und den daraus resultierenden Wechselwirkungen mit den Strukturen des Biosystems bestimmt. Die Imitation der natürlichen Knochenstruktur ohne weitere Beeinflussung des Heilungsprozesses und Notwendigkeit einer Zweitoperation zur Entfernung der Materialien nach Erfüllung ihrer Funktion ist das Ziel der heutigen Forschung. Die Vorteile der Biokompatibilität und interkonnektierenden Porenstruktur zur Einwanderung von Osteoblasten bieten autogene oder allogene Transplantate (Spongiosa und Corticalis) ^[1]. Die fehlende freie Formbarkeit und damit unzureichende Defektanpassung, begrenzte Entnahmemöglichkeiten, die durch eine Zweitoperation bedingte längere Rekonvaleszenz und höhere Gesamtbelastung des Patienten führen neben dem hohen viralen Infektionsrisiko ^[2] bei allogenen Transplantaten zum Einsatz synthetischer Materialien ^[3,4]. Diese müssen neben einer guten Haftung zum umliegenden Gewebe und einer anwendungsbezogenen schnellen Anfertigung oder Aushärtung ohne größere Wärmeentwicklung eine hohe mechanische Festigkeit sowie einfache Handhabbarkeit aufweisen.

Eine relativ neue Werkstoffgruppe stellen mineralische Knochenzemente aus Calciumorthophosphaten dar ^[5,6]. Diese wurden erstmalig 1982 durch LeGeros et al. ^[7] und 1983 durch Brown und Chow ^[8] beschrieben. Calciumphosphat-Zemente (CPC) bestehen aus ein- oder mehrkomponentigen Mischungen von amorphen oder kristallinen Calciumorthophosphaten, die in wässriger Umgebung unter physiologischen Bedingungen in relativ kurzer Zeit abbinden. Heute repräsentieren CPC eine Klasse von Knochenersatzwerkstoffen, die nach zahlreichen Weiterentwicklungen mittlerweile als Medizinprodukte der Klasse III zur Therapie von Knochendefekten klinisch eingesetzt werden ^[9,10]. Diese in-situ aushärtenden CPC vereinen die notwendigen Verarbeitungseigenschaften sowie eine hohe Biokompatibilität und die Möglichkeit der intraoperativen Defektanpassung (im Gegensatz zu z.B. Granulaten). Die Aushärtung führt zu einem stabilen Implantatkörper, der den Defekt zumindest primär auch mechanisch stabilisiert. Die chemische und strukturelle Ähnlichkeit mit Knochenmaterial nach der Aushärtung

sowie die langsame Degradation ohne Volumenverlust am Anwendungsort stellen zusätzliche Vorteile in der regenerativen Medizin dar ^[5]. Selbstabbindende CPC bieten sogar die Möglichkeit als Drug-Delivery-Systeme zu fungieren. Der Wirkstoff wird hierbei entweder in fester Form dem Zementpulver untergemischt oder vorab in der wässrigen Phase gelöst und im Kontakt mit der extrazellulären Flüssigkeit am Anwendungsort langsam freigesetzt ^[11].

Die für CPC verwendeten Calciumorthophosphate liegen als feinkörnige Pulver vor, deren Korngrößen zwischen 1 und 20 μm variieren. Diese geringen Partikelgrößen sind notwendig, um eine schnelle Abbindereaktion und damit eine kurze Abbindezeit zu gewährleisten und das Operationsfeld zeitnah wieder verschließen zu können. Die Triebkraft der Abbindereaktion ist hierbei die unterschiedliche Stabilität bzw. Löslichkeit der Reaktanten und Produkte. Nach der Anmischung des Zementpulvers mit einer wässrigen Flüssigkeit wird die wässrige Phase mit Calcium- und Phosphationen angereichert, bis das Löslichkeitsprodukt der Edukte in dem gegebenen Medium erreicht ist. Gleichzeitig wird in der flüssigen Phase eine Übersättigung des unter gegebenen pH-Bedingungen thermodynamisch stabilsten Calciumphosphats erreicht ^[12,13]. Dieses kristallisiert kontinuierlich aus der Zementflüssigkeit aus, die anschließende dreidimensionale Verfilzung der wachsenden Mikrokristalle bewirkt die Aushärtung der Paste. Der Vorgang Präzipitation – Vernetzung schreitet solange fort, bis die Zementedukte quantitativ in das Abbindeprodukt umgesetzt sind oder diffusionslimitierende Präzipitate auf den Edukten eine weitere Umsetzung unmöglich machen.

Hinsichtlich des Abbindeprodukts werden zwei Arten von CPC unterschieden: apatitbildende und bruschitbildende Zemente. Unter neutralen oder basischen Anmischungsbedingungen ist Hydroxylapatit (HA) oder calciumdefizitärer Apatit (CD-HA) das thermodynamisch stabilste Calciumphosphat, während im stark sauren pH-Bereich ($\text{pH} < 4,2$) das sekundäre Phosphat Bruschit (Dicalciumphosphat Dihydrat, DCPD) als das thermodynamisch stabilste Zementprodukt auskristallisiert ^[14]. Die Produkte und die Ausbildung des dreidimensionalen Zementgefüges sind stark mit der Lösungsrate der einzelnen Komponenten und dementsprechend deren spezifischer Oberfläche verknüpft. Lösungsrate und spezifische Oberfläche korrelieren wiederum mit Korngrößen und -formen. Die Eigenschaften eines abbindenden und abgebundenen Zements werden somit von der Gesamtoberfläche des Zementpulvers sowie der thermodynamischen und kinetischen Löslichkeit der Reaktanten bestimmt ^[15].

Aufgrund ihrer mechanischen Eigenschaften sind CPC zurzeit vor allem für nicht-kraftbelastete Defekte im cranio- und maxillofacialen Bereich indiziert ^[16,17,18,19]. Eine Erweiterung dieses klinischen Anwendungsspektrums auf kraftbelastete Defekte, wie z.B. durch Osteoporose verursachte Wirbelkörperbrüche und -frakturen, erfordert neben einer höheren Festigkeit auch die Entwicklung injizierbarer Zementformulierungen für minimal-invasive Methoden (Vertebroplastie und Kyphoplastie) ^[20]. Bisher werden für die Stabilisierung von Wirbelkörpern polymere Knochenzemente aus Polymethylmethacrylat (PMMA, „Plexiglas“) eingesetzt ^[21,22]. Nachteile stellen aber die stark exotherme Aushärtung der PMMA-Zemente, die zur Schädigung benachbarter Knochen- und Nervenzellen führen kann, die Freisetzung toxischer Monomere und die sehr hohe Steifigkeit der Ersatzmaterialien im Vergleich zum osteoporotisch geschädigten Knochen dar ^[23,24]. Als problematisch für den Einsatz von CPC in der Vertebroplastie und Kyphoplastie erweist sich die mangelhafte Injizierbarkeit der keramischen Zemente. Oftmals kommt es während der Applikation durch eine Hohnadel zu einer Phasenseparation von festen und flüssigen Zementbestandteilen („filter-pressing phenomenon“). Infolge dessen wird überwiegend Flüssigkeit aus der Kanüle heraus gepresst, während die festen Zementbestandteile in der Spritze verbleiben ^[25]. Der wissenschaftliche Ansatz ist also auf die Anpassung anwendungsrelevanter Eigenschaften von CPC durch Variation der Komponenten und ihrer Herstellungsparameter zu konzentrieren, um die klinischen Anforderungen erfüllen zu können.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Problem der mechanischen Stabilität von CPC in Kombination mit ihrer Injizierbarkeit. Die Basis der Untersuchungen sollten die bisher bekanntesten Calciumphosphat-Zementsysteme sein: das Tetracalciumphosphat/Dicalciumphosphatanhydrid-System (TTCP/DCPA-System) und das α -Tricalciumphosphat-System (α -TCP-System). In einem ersten Ansatz zur Steigerung der Festigkeit sollte in einem TTCP/DCPA-System das Zementedukt TTCP mit verschiedenen biokompatiblen Metalloxiden (SiO_2 , TiO_2 , ZrO_2) dotiert werden. Ziel war es dabei, die Löslichkeitsrate des TTCP durch Bildung von Calciummetallaten herabzusetzen und durch die dann langsamer ablaufende Abbindereaktion eine bessere Verfilzung der Zementkristallite zu erreichen. Ein zweiter Ansatz zur Verbesserung der Injizierbarkeit sollte zusätzlich die Wechselwirkungen der Partikeloberflächen mit der flüssigen Zementphase betrachten. Analog zu traditionellen Techniken der keramischen Technologie sollte durch Additive eine repulsive elektrostatische Wechselwirkung eingestellt werden, um Partikelagglomerate effektiv zu dispergieren und eine verflüssigende Wirkung zu erreichen. Zentrale Anforderung an solche Additive ist deren Biokompatibilität. Aus

diesem Grund sollten Zitronensäure bzw. Natriumzitrat als pharmakologisch unbedenkliche Additive zum Einsatz kommen.

Abschließend wurde der Einfluss der Partikelgrößenverteilung auf die Festigkeit und Injizierbarkeit einer α -TCP-basierten Zementmatrix untersucht. Hierzu wurden unreaktive, feinkörnige Füllstoffpopulationen der Matrix zugesetzt und systematisch deren Effekt (in Verbindung mit einer Partikelaufladung) auf die rheologischen und mechanischen Eigenschaften untersucht. Ziel des Füllstoffzusatzes war es, die Porosität der Zemente zu erniedrigen und gleichzeitig die interpartikulären Abstände zu verringern, um den Effekt der Oberflächenaufladung zu verstärken. Solche derart optimierten mineralischen Zementsysteme sollten für den minimalinvasiven Einsatz in gering kraftbelasteten Bereichen des Skelettsystems geeignet sein.

2. KENNTNISSTAND

Calciumphosphat-Zemente stellen im Gegensatz zu den seit dem Altertum bekannten Calciumsilikat-Zementen ^[26] eine relativ junge Werkstoffklasse im Bereich der anorganischen Biomaterialien dar, eine erstmalige Beschreibung erfolgte Anfang der 80er Jahre des 20. Jahrhunderts ^[7,8]. Die Zemente bestehen aus feinkörnigen Mischungen verschiedener Calciumphosphat-Verbindungen und gehen nach der Mischung mit einem wässrigen Elektrolyten eine Abbindereaktion über einen Lösungs-Fällungsmechanismus ein. Seit Mitte der 90er Jahre des 20. Jahrhunderts sind verschiedene CPC als Medizinprodukte der Klasse III in den Markt eingeführt worden. Die Klasseneinteilung von Medizinprodukten beruht auf der Beurteilung des Gefahrenpotentials für den menschlichen Körper nach der EU-Richtlinie 93/42EWG aus dem Jahr 1993 ^[27]. Maßgebend für die Einordnung in die Klassen I – III sind die Dauer der Anwendung und der Anwendungsort. Medizinprodukte der Klasse III sind im Wesentlichen invasive Produkte, etwa Implantate des Herz-Kreislauf-Systems und dafür eingesetzte chirurgische Instrumente oder Knochenersatzwerkstoffe. Im Folgenden soll die Chemie der Abbindereaktion und die darauf Einfluss nehmenden Parameter kurz dargelegt werden.

2.1 Chemie der Abbindereaktion von Calciumphosphat-Zementen

Die von der dreibasigen mittelstarken Orthophosphorsäure H_3PO_4 abgeleiteten Calciumsalze können nach dem Ausmaß der Dissoziation in drei Gruppen eingeteilt werden ^[28], die sich in Bezug auf ihre Löslichkeit und den im Gleichgewicht der Dissoziation einstellenden pH Wert stark unterscheiden (siehe Tabelle 2.1). Während primäre Calciumphosphate (Dihydrogenphosphat, $pK_1 = 1,96$) noch relativ gut löslich in Wasser sind (Löslichkeit ca. 17 – 18 g/l), haben bereits sekundäre Salze (Hydrogenphosphat, $pK_2 = 6,92$) wie Monetit ($CaHPO_4$) oder Bruschit ($CaHPO_4 \cdot 2 H_2O$) nur noch eine Löslichkeit von ca. 40 – 80 mg/l. Tertiäre Calciumphosphatsalze (Phosphat, $pK_3 = 11,74$) sind nur noch sehr schwer in wässrigen Elektrolyten löslich, so ist eine Aufsättigung einer wässrigen Phase unter Gleichgewichtsbedingungen für Hydroxylapatit bereits bei ca. 0,2 mg erreicht. Eine detaillierte Übersicht über die Herstellung sowie die physikalisch – chemischen Eigenschaften der Verbindungen findet sich in der Literatur ^[29,30].

Tabelle 2.1: Zusammensetzung und Löslichkeitsprodukte verschiedener Calciumorthophosphate ^[31,6]; alle Verbindungen finden Einsatz als Edukte für die Herstellung von CPC; die in Klammern angeführten Abkürzungen beziehen sich auf die englischen Trivialnamen

Calciumphosphat-Salz	Summenformel	Ca/P-Verhältnis	-log(Ksp) bei 37 °C	Löslichkeit [mg/l]
Calcium- <i>bis</i> -dihydrogenphosphat Monohydrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5	--	18,0
Calcium- <i>bis</i> -dihydrogenphosphat (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	--	17,0
Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (DCPD, Bruschit)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	6,63	85,2
Calciumhydrogenphosphat (DCPA, Monetit)	CaHPO_4	1,0	7,04	41,1
Octacalciumphosphat (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	95,9	0,47
α -Tricalciumphosphat (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	25,5	2,46
β -Tricalciumphosphat (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	29,5	0,39
Hydroxyapatit (OHAp)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,67	58,6	0,20
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	37,4	1,66

Die Löslichkeit der aufgeführten Calciumphosphat-Verbindungen variiert in Abhängigkeit des pH-Werts der Lösung um mehrere Größenordnungen. Die Löslichkeitsisotherme der Calciumphosphate kann auf der Basis des Löslichkeitsprodukts, der Dissoziationskonstanten von Phosphorsäure und Calciumhydroxid, sowie den Stabilitätskonstanten der Ionen-Paare und einem Modell für die Berechnung der Aktivitätskoeffizienten der verschiedenen involvierten Ionen berechnet werden (siehe Abbildung 2.1) ^[32]. Im neutralen und basischen pH-Bereich stellt dabei Hydroxylapatit das am schwersten lösliche Calciumphosphat dar, dies erklärt warum die mineralische Phase des menschlichen Knochens und der Zähne aus diesem Mineral bestehen. Im sauren Bereich steigt die Löslichkeit stark an, dieses Verhalten ist von Bedeutung etwa bei der Demineralisierung der Zahnhartsubstanz bei Aufnahme saurer Speisen oder dem Abbau von Knochenmineral durch eine von Osteoklasten hervorgerufene, lokale pH-Wert-Absenkung im Knochen ^[33]. Unterhalb eines pH-Werts von 4,2 stellen dann die sekundären Calciumphosphate Bruschit und Monetit die geringst-löslichen Calciumphosphat-Verbindungen dar.

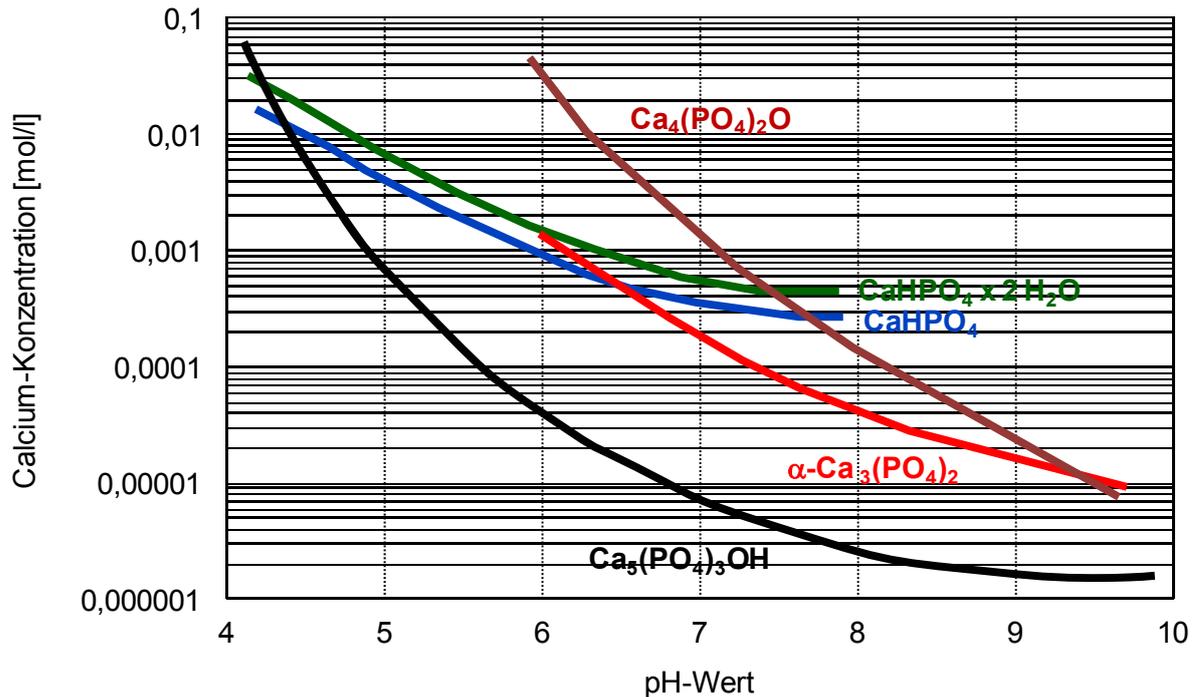


Abbildung 2.1: Berechnete Löslichkeitsisothermen von Calciumphosphaten in Abhängigkeit des pH-Werts der Lösung, entnommen und modifiziert aus Lit. ^[32]

Die unterschiedliche Löslichkeit der einzelnen Calciumphosphate wird bei der Zementreaktion ausgenutzt. Hierbei werden jeweils besser lösliche Ausgangsstoffe als Reaktanden eingesetzt (z.B. TCP, TTCP, DCPA), die sich in eine schwerer lösliche Verbindung (HA bei neutralem / basischen pH) über einen Lösungs-Fällungsmechanismus umsetzen. Bei Mischung der genannten Calciumphosphat-Pulver mit einem wässrigen Elektrolyten kommt es zur Dissoziation der Salze und der pH-Wert abhängigen Einstellung eines Gleichgewichtszustands. In diesem Zustand ist die wässrige Phase übersättigt gegenüber dem Reaktionsprodukt, das spontan aus der Lösung auskristallisiert und damit die Ionenkonzentration der wässrigen Zementphase erniedrigt. Die beiden genannten Vorgänge laufen simultan ab und enden erst, wenn kein Ausgangsstoff mehr vorhanden ist oder diffusionsinhibierende Präzipitate die weitere Auflösung der Reaktanden verhindern. Die makroskopisch zu beobachtende Verfestigung der Zementpaste ist auf eine dreidimensionale Verfilzung der präzipitierten Kristallite zurückzuführen. Die Art des Reaktionsprodukts wird maßgeblich durch den pH-Wert der Zementpaste bestimmt. Da oberhalb von pH 4,2 Hydroxylapatit das am geringsten lösliche Calciumphosphat darstellt, wird dieser als nanokristallines Material in Pasten mit neutralem oder basischen pH gebildet. Im stark sauren Bereich, etwa bei Verwendung primärer Calciumphosphate oder Phosphorsäure als Zementreaktanden werden dagegen die sekundären Calciumphosphate aus der Zementpaste präzipitiert. Hierbei bildet sich vornehmlich das Dihydrat DCPD (Bruscht) aufgrund der stärkeren

Kristallwachstumsrate. Unter bestimmten Bedingungen wird auch das Anhydrid Monetit gebildet, etwa bei Verwendung strontiumsubstituierter Tricalciumphosphate^[34] oder bei Zusatz von Natriumchlorid zur Zementflüssigkeit^[35]. Vereinzelt wurde auch Octacalciumphosphat (OCP) als Endprodukt der Abbindereaktion von CPC beschrieben, wenn der Zementpaste Carbonsäuren als Additive zugesetzt waren^[36]. Übersichtsartikel über die Vielfalt der Zusammensetzungen von CPC finden sich in der Literatur^[5,37,38].

2.2 Reaktivität von Calciumphosphaten in Calciumphosphat-Zementen

Die Reaktivität von Calciumorthophosphaten in Zementformulierungen und die damit einhergehende Reaktionsgeschwindigkeit wird maßgeblich von der Löslichkeit der Verbindungen in der wässrigen Zementphase beeinflusst. Dabei ist die thermodynamische Löslichkeit (Löslichkeitsprodukt) der Reaktanden von der kinetischen Löslichkeit (Lösungsrate pro Zeiteinheit) zu unterscheiden. Während erstere vornehmlich durch das Löslichkeitsprodukt bestimmt ist (vgl. Tabelle 1), wird letztere durch die spezifische Oberfläche der Calciumphosphat-Partikel und damit der Partikelgrößenverteilung dominiert. Diese wird durch Mahlung der Partikel eingestellt^[39,40,41,42], wobei Korngrößen im Bereich $> 5 - 10 \mu\text{m}$ durch Trockenmahlung zugänglich sind, während für feinere Partikelgrößen $< 5 \mu\text{m}$ eine Mahlung in Suspension (z.B. Alkohole) notwendig ist^[43,44]. Werden unterschiedliche CaP-Pulver in einer Zementmischung verwendet, etwa um die Stöchiometrie im Hinblick auf das Reaktionsprodukt einzustellen, dann müssen die einzelnen Lösungsraten der Komponenten aneinander angepaßt werden. So muss etwa für das weithin verwendete Zementssystem aus basischem Tetracalciumphosphat und leicht saurem Calciumhydrogenphosphat ein Aspektverhältnis der Partikelgrößen von etwa 10:1 durch Mahlung erreicht werden, um abbindefähige Zementformulierungen mit annähernd physiologischem pH-Wert zu erhalten^[45].

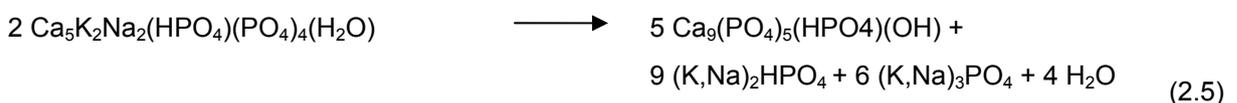
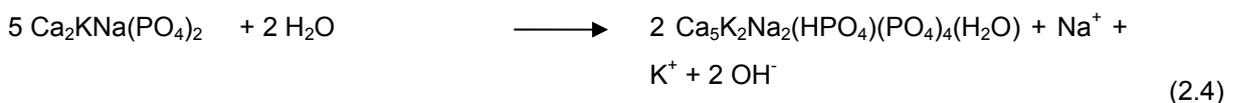
Die Auflösung der Zementpartikel führt nach kurzer Zeit zu einer Übersättigung der Zementflüssigkeit gegenüber dem Reaktionsprodukt, wobei in der Praxis der Grad der Übersättigung ein Mehrfaches des Löslichkeitsprodukts des Reaktionsprodukts betragen muss, um eine heterogene Kristallisation desselben auszulösen und schlussendlich eine Aushärtung des Zements zu bewirken. Ein prominentes Beispiel für diesen Sachverhalt stellt das unterschiedliche Verhalten der beiden Tricalciumphosphat-Modifikationen, α - und β -TCP, in wässriger Phase dar. Obwohl beide Verbindungen löslicher sind als Hydroxylapatit (Löslichkeit ca. 0,2 mg/l), kommt es im wässrigen Elektrolyten nur zur Umwandlung von α -TCP (Löslichkeit ca. 2,5 mg/l) zu calciumarmen Hydroxylapatit. Kristallines β -TCP

(Löslichkeit ca. 0,5 mg/l) ist dagegen in Wasser oder neutraler Phosphatlösung unreaktiv, da die geringere Löslichkeit von β -TCP keine ausreichende Übersättigung der Reaktionsphase im Hinblick auf CDHA erbringt. Abbindefähige Zemente aus β -TCP werden nur erhalten, wenn durch den Effekt der mechanischen Aktivierung durch langzeitige, energieintensive Mahlung eine partielle Amorphisierung von β -TCP eintritt und hierdurch sowohl die Lösungsrate als auch die absolute Löslichkeit gesteigert werden kann ^[46]. Es konnte dabei gezeigt werden, dass sowohl die Umsetzungsrate zu CDHA, als auch die mechanischen Eigenschaften dieser Zementmatrix linear mit der Menge der durch Mahlung erzeugten amorphen Bestandteile korreliert sind. Der Effekt der mechanischen Aktivierung ist auch aus anderen Bereichen der Werkstofftechnik bekannt ^[47,48,49] und begründet sich in den beim Mahlen entstandenen Defekten im Kristallgitter. Mechanistisch kommt es dabei aufgrund von größenabhängigen Änderungen der mechanischen Eigenschaften (E-Modul, Bruchzähigkeit) des Mahlguts nicht mehr zu einer Spaltung der Partikel an Netzebenen, sondern zu einer plastischen Verformung, die im Kristallgitter Punktdefekte und Versetzungen bildet und die innere Energie der Verbindungen erhöht. Dies führt zur Ausbildung von Nanokristalliten im Korn bzw. bei genügend langer Mahldauer zum Verlust der Kristallinität und einer Erhöhung sowohl der absoluten Löslichkeit als auch der Lösungsrate unabhängig von der Partikelgröße. Dieser Effekt wurde erstmals für kristallines β -TCP beschrieben ^[46] und stellte sich im Folgenden als ein universell einsetzbarer Parameter zur Einstellung der Reaktivität von Calciumphosphaten in Zementen dar. So konnten etwa weitere einkomponentige Zemente aus TTCP ^[50] oder alkalidotierten Calciumphosphaten ^[51] nach mechanischer Aktivierung erhalten werden, deren kristalline Ausgangsstoffe unter physiologischen Bedingungen weitgehend inert waren.

Ein weiterer geschwindigkeitsbestimmender Faktor ist die Kristallbildungsrate des Reaktionsprodukts. Die Bildungsrate von Hydroxylapatit in wässriger Lösung ist gering ($2,7 \cdot 10^{-7}$ mol $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ^[52]), sodass in der Regel Abbindebeschleuniger wie Alkaliphosphate oder Phosphorsäure dem Zement zugegeben werden, um klinisch akzeptable Abbindezeiten im Minutenbereich zu ermöglichen ^[53,54,55]. Im Gegensatz hierzu ist die Bildungsrate von Brushit nahezu drei Größenordnungen schneller ($3,32 \cdot 10^{-4}$ mol $\text{DCPD min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ ^[56]), was die Verwendung von Abbindeverzögerern, wie beispielsweise Pyrophosphate, Sulfate oder Zitate, notwendig macht ^[57,58].

2.3 Hydroxylapatit-Zemente

Hydroxylapatit wird in Zementpasten bei einem pH-Wert der Paste $> 4,2$ als Reaktionsprodukt gebildet, wobei die Zusammensetzung des Reaktionsprodukts sich im Bereich zwischen calciumarmen HA ($\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_5\text{HPO}_4\text{OH}$, $\text{Ca/P} = 1,50$) und stöchiometrischem HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, $\text{Ca/P} = 1,67$) bewegt. Hydroxylapatit-bildende Zemente waren die ersten, in der Literatur beschriebenen, mineralischen Knochenzemente und stellen den Gegenstand der meisten Studien zum Thema CPC dar. Ebenso sind der überwiegende Teil der sich auf dem Markt und in klinischer Anwendung befindlichen CPC Hydroxylapatit-bildende Formulierungen. Als Edukte dafür werden oftmals basische Calciumphosphate, wie Tetracalciumphosphat (TTCP) ^[59,60,61] oder Calciumoxid (CaO) ^[62,63] in Verbindung mit leicht sauren Verbindungen wie Calciumhydrogenphosphat (DCPA), Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (DCPD) oder Octacalciumphosphat (OCP) ^[64] verwendet. Einkomponentige Zementsysteme können durch Hydrolyse von α -Tricalciumphosphat (α -TCP) zu calciumarmen Hydroxylapatit mit einem Ca/P-Verhältnis von 1,5 erhalten werden ^[65,66,67,68], während bei der Hydrolyse einkomponentiger TTCP-Zemente neben Hydroxylapatit noch stark basisches Calciumhydroxid erhalten wird ^[69]. Gegenstand aktueller Forschung sind Zementsysteme basierend auf alkalisubstituierten Calciumphosphaten, wie Calciumkaliumphosphat (CPP) oder Calciumkaliumnatriumphosphat (CPSP), entweder allein oder in Kombination mit α -TCP und dem primärem Calciumphosphat MCPM ^[70,71,72]. Diese Zemente binden zu Apatit der allgemeinen Summenformel $\text{Ca}_5\text{K}_{4-x}\text{Na}_x(\text{HPO}_4)_4(\text{PO}_4)_2(\text{H}_2\text{O})$ mit $0 < x < 2$ und einem Ca/P-Verhältnis zwischen $0,8 < \text{Ca/P} < 1,5$ ab, der sich nach Auslaugung der Alkaliionen in calciumarmen Hydroxylapatit umwandelt. Die Abbindereaktion erfolgt jeweils über einen Lösungs-/Präzipitationsmechanismus nach Zusatz der als Reaktionsphase dienenden wässrigen Phase nach folgenden Gleichungen:





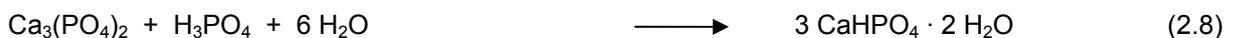
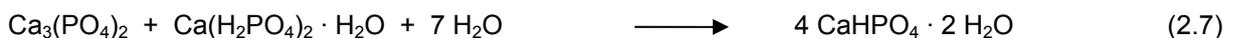
Ein anderer Abbindemechanismus umfasst die Kristallisation metastabiler, amorpher Calciumphosphate. Die Herstellung amorpher Calciumphosphate erfolgt durch die Fällung aus einer übersättigten Lösung unter gleichzeitiger Stabilisierung der amorphen Phase durch Zusatz von Magnesiumionen und anschließender Gefriertrocknung des Produkts [73,74,75]. Das Abbindeverhalten dieser Zementsysteme verläuft weitgehend unabhängig von der Partikelgröße aufgrund der thermodynamischen Instabilität der Verbindungen gegenüber HA. Eine weitere Möglichkeit zur Herstellung amorpher Calciumphosphate stellt die mechanische Aktivierung kristalliner Verbindungen durch den Mahlvorgang dar, wie sie in Kapitel 2.2 beschrieben wurde.

Apatit-Zemente sind unter physiologischen Bedingungen thermodynamisch nicht resorbierbar, da die umgebende Körperflüssigkeit in Bezug auf Hydroxylapatit stark übersättigt ist. Eine Resorption dieser Zementklasse ist nur durch einen säurekatalysierten, zellulären Mechanismus durch Osteoklasten von der Oberfläche aus möglich. Hierbei ermöglicht allerdings die geringe Kristallitgröße des im Zementgefüge enthaltenen Apatits eine schnellere Resorptionsrate verglichen mit gesinterten HA Strukturen. Eine Volumendegradation über diesen Mechanismus ist aufgrund der mangelnden Makroporosität nicht möglich, da die vorhandenen Porengrößen der Zemente im Bereich von ca. 1 – 5 µm das Einwachsen von Zellen verhindern. Die teilweise in der Literatur beschriebene schnelle Resorption von Apatit-Zementen ist vermutlich auf eine primäre, mechanische Destruktion des Zementimplantats zurückzuführen. Die hierbei entstehenden Bruchstücke sind dann aufgrund ihrer größeren Kontaktfläche mit dem umliegenden Gewebe einer besseren Oberflächendegradation ausgesetzt. Eine Resorption massiver Zementimplantate mit klinisch relevanten Größen (1 – 20 cm³) in kurzen Zeiträumen < 1 Jahr ist nicht bekannt.

2.4 Bruschit-Zemente

Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (DCPD, Bruschit) wird als Abbindeprodukt in CPC unter stark sauren Bedingungen gebildet. Hierzu wird der Zementpaste entweder ein saures primäres Calciumphosphat oder Phosphorsäure zugesetzt, so dass ein pH-Wert < 4,2 eingestellt wird [76,77,78]. Die Verwendung einer äquimolaren Menge an MCPM im Vergleich zu der zweiten Zementkomponente TCP nach Gleichung (2.7) erlaubt die quantitative Umsetzung zu Bruschit auch bei hohen

Pulver-/Flüssigkeitsverhältnissen (P/L-Verhältnissen), was für gute mechanische Eigenschaften notwendig ist. Demgegenüber wird bei der Verwendung von H_3PO_4 (in der Regel eine 2 – 3 M Lösung) bei den üblichen P/L-Verhältnissen nur ein Teil des TCP zu Brushit umgesetzt, da im genannten PLR-/Konzentrationsbereich die reaktive Säure unterstöchiometrisch vorhanden ist. Im Gegensatz zu Hydroxylapatit-Zementen ist bei Brushit-bildenden Formulierungen Wasser nicht nur Reaktionsphase sondern auch Reaktant und wird in Form von Kristallwasser in das Abbindeprodukt eingelagert.



Aufgrund der hohen Kristallwachstumsrate von Brushit im Gegensatz zu HA verläuft die Abbindereaktion dieses Zementtyps wesentlich schneller. Zum Teil wird eine heftige Reaktion innerhalb weniger Sekunden bei Verwendung von α -TCP erhalten, das weniger reaktive β -TCP reagiert innerhalb von 30 – 60 s ab. Die Abbindereaktion von Brushit-Zementen ist exotherm und verläuft teilweise mit einer starken Wärmetönung ab ^[79]. Verschiedene Abbindeverzögerer wurden für den Einsatz in Brushit-Zementen untersucht, beispielsweise ermöglichte der Zusatz von Pyrophosphat-, Sulfat- oder Zitrationen die Einstellung klinisch akzeptabler Abbindezeiten im Bereich 3 – 8 min. Ein anderer Ansatz zur Verlangsamung der Abbindereaktion besteht in der Verringerung der spezifischen Oberfläche der Zementreaktanden, um die kinetische Lösungsrate der Pulver zu verringern, beispielsweise durch Granulation der Pulver ^[80,81].

Im Gegensatz zu Apatit-Zementen sind Brushit-Zemente thermodynamisch unter physiologischen Bedingungen (pH = 7,4 mit Calciumphosphat-Sättigung) löslich und damit – neben dem ebenfalls stattfindenden osteoklastären Abbau ^[82] – rein chemisch resorbierbar, da die Löslichkeit von Brushit unter den genannten Bedingungen ein Vielfaches von HA beträgt. Nach Auslagerung in wässrigen Elektrolyten können Brushit-Zemente in Abhängigkeit der Auslagerungsbedingungen entweder der Hydrolyse und Auflösung unterliegen oder eine Phasenumwandlung zum thermodynamisch stabileren HA in Folge eines Lösungs-/Präzipitationsprozesses zeigen ^[83]. Das Degradationsverhalten von Brushit-Zementen war bereits Gegenstand einer Reihe von *in vitro* ^[84] und *in vivo* Untersuchungen (siehe Tabelle 2.2).

Tabelle 2.2: Zusammenfassung der *in vivo* Studien zum Resorptionsverhalten von Bruschit-Zementen (k.A.: keine Angabe der entsprechenden Werte)

Autor	Bruschit [%]	Tiermodell und Operationsdetails				Ergebnisse	
		Tier	Ort	Dauer (Wochen)	Applikationsart	Knochenneubildung [%]	Verbleibendes Material [%]
Ohura et al. [85]	k.A.	Kaninchen	Femorale Condyle	16	vorgehärteter Block	23	13
	k.A.	Kaninchen	Femorale Condyle	16	vorgehärteter Block	36	2
Frayssinet et al. [86]	95	Kaninchen	Condyle	18	Injektion des Zements	23 ^a	11
Lu et al. [87]	k.A.	Kaninchen	Femorale und Tibiale Condyle	24	Paste	40 (nach 4 Wochen)	40
Flautre et al. [88]	k.A.	Schaf	Femorale Condyle	52	injizierter Block	28 ^a	48
Flautre et al. [89]	32	Kaninchen	Femorale Condyle	24	Injektion	50 ^b	20
	71	Kaninchen	Femorale Condyle	24	Injektion	50 ^b	26
Apelt et al. [90]	55 ^c	Schaf	Metaphys. Humerus, Femurale Defekte	24	Injektion	55	18
Kuemmerle et al. [91]	k.A.	Schaf	Craniale Defekte	24	Paste	24 ^a	11
Theiss et al. [92]	55 ^c	Schaf	Femorale Condyle	8	Injektion	20,2	38,4
Habibovic et al. [93]	k.A.	Ziege	Wirbelkörper	12	3D-Pulvergedruckte Formkörper	11	k.A.
Tamimi et al. [94]	83	Kaninchen	Calvariale kortikale Oberfläche	8	Injektion	k.A.	k.A.
Wen et al. [95]	55 ^c	Kaninchen	Tibia	12	Injektion	k.A.	k.A.

^a fibröse Einkapselung des Implantats wurde beobachtet

^b geringe Fremdkörperreaktion

^c Verwendung von "Chronos Inject"- Zement oder experimenteller Zement mit vergleichbarer chemischer Zusammensetzung

Das Abbauverhalten ist hierbei von verschiedenen Faktoren, wie etwa der Prüfkörpergröße, dem Auslagerungsmedium oder dem Implantationsort abhängig. So zeigten *in vitro* Untersuchungen durch Grover et al. an zylindrischen Prüfkörpern (d = 6 mm, h = 12 mm) mit täglichem Wechsel der Auslagerungsflüssigkeit ^[84], dass über einen Zeitraum von 28 Tagen zwar nur ein Masseverlust von ca. 10 % in PBS-Lösung auftrat, bei Alterung in proteinhaltigem Serum aber bis zu 60 % der Prüfkörpermasse gelöst war. Grund hierfür ist eine partielle Umwandlung der Bruschit-Matrix in schwerlöslichen Hydroxylapatit in wässriger PBS-Lösung, während proteinhaltige Lösungen eine wesentlich schnellere Auflösung und Destruktion der Zementprüfkörper ohne HA-Bildung ergeben. Die Implantation der Bruschit-Zemente,

entweder als Paste, durch Injektion oder in Form eines vorgehärteten Blocks, ergab in verschiedenen Tiermodellen und bei unterschiedlichen Applikationsorten Resorptionsraten von 60 – 98 % des Materials innerhalb von Beobachtungszeiten bis zu einem Jahr (siehe Tabelle 2.2), in der Regel verbunden mit der Bildung einer signifikanten Menge an neuem Knochengewebe. Die Degradation verläuft dabei schneller als für Apatit-Zemente, so ergab die Implantation eines Bruschit-basierten Zements im Schafsmodell bei cranialen Defekten ^[91] über einen Zeitraum von 6 Monaten eine signifikant schnellere Resorption als der Hydroxylapatit-Vergleichszement; in histo-morphologischen Analysen des Implantatlagers waren nur noch 11,2 % der Ausgangsmenge an Bruschit-Zement (HA-Zement: 33,3 %) vorhanden. In demselben Tiermodell konnte bei Implantation des Bruschit-Zements in Tibia bzw. Femur-Defekte nach 8 Wochen Liegedauer mehr als 60 % Zementresorption beobachtet werden ^[92].

2.5. Rheologische Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen

Die rheologischen Eigenschaften von CPC sind Gegenstand intensiver Forschung, speziell im Hinblick auf eine minimalinvasive Applikation der Zementpaste durch Injektion ^[25,96,97]. Problematisch bei der Injektion ist das Auftreten eines „filterpressing“ Effekts, der zu einer Phasenseparation fest – flüssig der Zementpaste in der Spritze führt ^[98]. Injizierbare Zemente können zwar prinzipiell durch einen höheren Flüssigkeitsgehalt der Pasten erhalten werden, dieser Ansatz ist jedoch mit einer Erhöhung der Porosität und einem starken Abfall der mechanischen Stabilität verbunden. Ein theoretisches Modell zur Injizierbarkeit von Calciumphosphat-Suspensionen wurde von Bohner et al. entwickelt ^[99]. Das Modell sieht die Suspensionen in erster Näherung als *Newtonsche* Flüssigkeiten an, bei denen nach *Hagen-Poiseuille* der Volumenfluss Q_f durch eine Kanüle in Abhängigkeit von Röhrendurchmesser D_n und Länge L_n , der Viskosität der Flüssigkeit μ_f und dem Druckabfall ΔP_n beschrieben werden kann:

$$Q_f = \frac{-\Delta P_n \pi D_n^4}{128 \mu_f L_n} \quad (2.9)$$

Wird nach der Gleichung der Kanüldurchmesser um den Faktor 2 erhöht, ergibt sich bei sonst gleichen Versuchsparametern ein 16-facher Volumenfluss. Diese Abschätzung ist wichtig in Bezug auf die Beurteilung vieler literaturbekannter Zemente und Hilfsstoffe, deren Injizierbarkeit nur für relativ große Kanüldurchmesser von 2 – 3 mm gegeben ist. Dieser verdient insbesondere deshalb Beachtung, weil bei kleinen Durchmessern an der Eintrittsstelle sehr früh

eine Separation der Zementphasen einsetzt und die Kanüle „verstopft“. Ab diesem Zeitpunkt wird das Strömungsverhalten nicht mehr durch Gleichung (2.9) beschrieben sondern folgt dem Gesetz von *Darcy*. Die Volumenflussdichte q wird mit zunehmender Zeit mit $t^{-1/2}$ kleiner ^[100]. Es ist:

$$q = \sqrt{\frac{2k}{\mu} \cdot \frac{\Delta p}{b \cdot t + c}} \quad (2.10)$$

wobei Δp der Druckabfall über den porösen Festkörperstopfen – der sich aus dem Feststoffanteil des Zements bildet – k dessen Permeabilität sowie b und c zwei weitere Systemparameter sind, welche das Fest-Flüssig-Verhältnis und die Anfangsbedingungen berücksichtigen. Der freie Durchfluss einer *Newtonschen* Flüssigkeit durch eine Röhre schlägt also mit dem Beginn der Separation von Flüssigkeit und Feststoff, d.h. mit dem Beginn des Verstopfens, um in einen Filtrationsprozess, bei dem im Laufe der Zeit die Dicke des Filterkuchens ansteigt und infolge dessen die Volumenflussdichte mit fortschreitender Zeit abnimmt. Das wiederum hat zur Folge, dass nur ein bestimmter Prozentsatz des Zements aus der Spritze ausgetrieben werden kann.

Die literaturbekannten Studien zur Verbesserung der Injizierbarkeit von CPC (siehe Tabelle 2.3) lassen sich zwei unterschiedlichen Ansätzen zuordnen. Zur Unterdrückung des „filter-pressings“ kann zum einen beispielsweise die Viskosität der flüssigen Zementphase durch den Zusatz wasserlöslicher Polymere (z.B. Alginat, PEG, HPMC, Stärke) gesteigert werden ^[101,102]. Daneben kann auch die Viskosität der gesamten Zementpaste durch den Einsatz von „Verflüssigern“ und einer Anpassung der Partikelgrößenverteilung durch Füllstoffzusatz verringert werden. Verflüssiger sind beispielsweise die auch in dieser Arbeit verwendeten mehrfach geladene Anionen (Zitrate), die zu einer starken elektrostatischen Aufladung der Partikeloberfläche und damit einhergehend zu einer gegenseitigen Abstossung der Partikel führen ^[103,104]. In Verbindung mit einer bimodalen Partikelgrößenverteilung werden dann Zementpasten erhalten, die mit geringen Kräften (< 80 N für eine 10 ml Spritze) auch durch sehr dünne Kanülen < 1 mm Durchmesser appliziert werden können ^[105]. Ein weiterer, physikalischer Ansatz von Habib et al. zeigt, dass eine Ultraschallung (20 kHz, 0 – 45 μ m Amplitude) der Paste während der Injektion die Injizierbarkeit ebenso signifikant steigert ^[106].

Tabelle 2.3: Studien zu der Injizierbarkeit und den rheologischen Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen

Zusammensetzung Zement	Zement -Typ	Additiv	Injektionsversuch	PLR g/ml	Eigenschaften	Ref.
75 % α -TCP, 10 – 18 % DCPA, 3 – 5 % pHA 2 % Na_2HPO_4 -Lösung	HA	4 – 12 % Calcit; $12,0 \pm 3,0 \mu\text{m}$ und $2,5 \pm 1,0 \mu\text{m}$	1,7 mm Kanüle, 20 mm/min Vorschub, 100 N Maximalkraft	2,85	Scherverdünnender Effekt der Calcit- Füllstoffe, speziell bei kleiner Korngröße verlängert sich Injektionszeit von 69 s auf 84 s	[107]
Partiell kristallisiertes CaP aus Fällungsreaktion und DCPA (1:1) 15 % Na_3Zitrat - Lösung	HA	30 wt% PLGA; Mikropartikel: < 80 μm	1,6 mm Kanüle; Spritze mit 14,5 mm Innendurchmesser, 5 kg Gewicht für 2 min	2,5	Steigerung der Injizierbarkeit von 40,1 % auf 67,6 % durch PLGA- Zusatz; Verringerung der Druckfestigkeit von 39 MPa auf 32 MPa	[108]
98 % α -TCP (5,4 μm), 2 % pHA 2,5 % Na_2HPO_4 Lösung	HA	Zusatz von 5 % und 20 % eines Soja-basierten Hydrogels und 5 – 10 % bovine Gelatine	Spritze mit 2 mm Öffnung, 15 mm/min Vorschub, 100 N Maximalkraft	1,54	Injizierbarkeit steigt von 63,1 % auf 93,4 % bei Zusatz von 20 % Soja- Hydrogel und 10 % Gelatine;	[109]
Sr- und Mg- substituiertes α -TCP 20 % Zitronensäure- Lösung	Bruschit	10 wt% PEG200 und 0,5 wt% HPMC	2,2 mm Kanüle (91 mm lang); 15 mm/min Vorschub; 100 N Maximalkraft; Bestimmung der Zementviskosität mit Plattenrheometer	2,63 – 2,94	Injizierbarkeit steigt von ca. 38 – 50 % bei PLR 2,94 g/ml auf > 95 % bei PLR 2,63; Viskosität der Pasten ist scherverdünnend	[110]
Partiell kristallisiertes CaP aus Fällungsreaktion und DCPA (1:1) Entmineralisiertes Wasser	HA	10 – 40 wt% PLGA; Mikropartikel: 100 – 300 μm	1,6 mm Kanüle; Spritze mit 14,5 mm Innendurchmesser, 5 kg Gewicht für 2 min; Bestimmung der Zementviskosi- tät bei Scherrate von 0 – 100 s^{-1}	2,5	Injizierbarkeit sinkt von > 95 % bei 0 – 20 % PLGA-Partikeln auf 54 % bei 30 % Partikelanteil; keine Injizierbarkeit mehr bei 40 % PLGA; Scherverdünnende Eigenschaften der Zementpasten mit Zunahme der Viskosität durch PLGA-Partikel	[111]
Äquimolare TTCP (12 μm) und DCPA (6,5 μm) Mischung; Wasser; 3 – 6 % Na_2HPO_4 -Lösung;	HA	0,5 – 2 % Natriumhexameta- phosphat	1,6 mm Kanüle mit 10 N konstanter Belastung	2,5 – 4,5	Verbesserung der Injizierbarkeit auf 87 – 98 % durch Natriumhexametaphos- phat auch bei hohen PLR von 4,5 g/ml	[112]
Amorphes CaP und DCPA (1:1) Wasser; Na_2HPO_4 - Lösung	HA	PEG200 (0,2 – 0,5 wt%); Glycerin (0,2 – 0,5 wt%); Zitronensäure (1 – 3 wt%)	1,6 mm Kanüle mit 10 N konstanter Belastung	2,0	Verringerung der Injizierbarkeit mit PEG (85%), Glycerin (73%) und Zitronensäure (89%) gegenüber der mit Wasser (95%) oder Natriumphosphat- Lösung (98%)	[113]
Äquimolare Mischung aus TTCP und DCPD; 0,2 mol/l Na_2HPO_4 - Lösung	HA	1 – 5 wt% Alginat	0,85 mm Kanüle, 3 ml Spritze, 5 cm Kolbenlänge; 1 mm/min Vorschub; Maximalkraft 1 kN	1,25	Vollständige Injizierbarkeit bei „optimalem“ Zusatz von 2 wt% Alginat mit ca. 180 – 200 N Kraft, keine %-Angabe für Injizierbarkeit	[114]
α -TCP; 2,5 wt% Na_2HPO_4 - Lösung		1,5 wt% Zitronensäure	Spritze mit 14 mm Durchmesser, 2 mm Öffnung; Vorschub	3,12	Verbesserung der Injizierbarkeit durch 1,5 wt% Zitronensäure	[115]

Zusammensetzung Zement	Zement -Typ	Additiv	Injektionsversuch	PLR g/ml	Eigenschaften	Ref.
			15 mm/min; Maximalkraft 100 N		von 46 % auf 66 %; Verringerung der Verarbeitungsdauer mit konstanter Viskosität von 10 min auf 5 min	
Amorphes CaCO ₃ und Vaterit (hexagonale Form von CaCO ₃) im Verhältnis 1:2; entmineralisiertes Wasser	Aragonit	-	Keine Kanüle; 2,5 ml Spritze mit 9 mm Innendurchmesser, 2 mm Öffnung; Vorschub 2 mm / s	1,50	Zeitabhängige Betrachtung der Viskosität; Viskosität nimmt mit t zu (nach Anmischen); ST (37°C) 90 min, ST (20°C) 370 min	[116]
Äquimolare Mischung aus TTCP und DCPA; Wasser	HA / Calciumsulfat Dihydrat	40 – 60 wt% CaSO ₄ ·0,5 H ₂ O ("CSH")	nein	3,3	Verbesserung der Injizierbarkeit mit steigendem L/P; sonst keine Angaben; optimale L/P = 0,3 für alle Untersuchungen; CSH hat kaum Effekt auf ST; CS nimmt mit CSH-Gehalt von 42 MPa auf 31 MPa ab	[117]
ACP und DCPD (3,5 µm) Wasser	HA	0,2 – 2 wt% Chitosan 0,2 – 1 wt% Natriumalginat 0,2 – 1 wt% modifizierte Stärke	Kanüle mit 1,6 mm Durchmesser; Belastung 5 kg für 2 min	2,0	<i>Chitosan</i> : bis 1 wt% keine nennenswerte Veränderung der Injizierbarkeit, bei 2 wt% Absinken auf ca. 93 % <i>Natriumalginat</i> : Injizierbarkeit sinkt kontinuierlich mit Zunahme des Additivs von 100 % auf ca. 70 % bei 1 wt% Additiv <i>Stärke</i> : Injizierbarkeit sinkt kontinuierlich mit dem Zuschlag von 100 % ohne Additiv auf 78 % bei 1 wt% Additiv	[118]
„CPC _A “: Äquimolare Mischung aus TTCP (20 µm) und DCPA (1,2 µm) „CPC _D “: Äquimolare Mischung aus TTCP und DCPD (1,3 µm) destilliertes Wasser; 0,1 mol/l – 0,5 mol/l Natriumphosphat-Lösung	HA	0,5 % – 3 % Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) gelöst in flüssiger Phase	10 ml Spritze mit 10 mm Innendurchmesser, Öffnung 2,8 mm; Vorschub 15 mm/min, Maximalkraft 100 N	2,0	Injizierbarkeit: <i>CPC_A</i> : Wasser: 99 %; NaPh: ca. 72 % (0,1 mol/l) auf ca. 20 % (0,5 mol/l); 0,2 mol/l NaPh + HPMC: sehr starke Erhöhung der Injizierbarkeit von 52 % ohne HPMC auf max. 99 % bei 1 % HPMC <i>CPC_D</i> : Wasser: 98 %; NaPh: 91 % (0,1 mol/l) auf 17 % (0,4 mol/l), 25 % (0,5 mol/l); 0,2 mol/l NaPh + HPMC: sehr starke Erhöhung der Injizierbarkeit von 65 % ± 12 % auf max. 98 % bei 0,5 % HPMC	[119]

Zusammensetzung Zement	Zement -Typ	Additiv	Injektionsversuch	PLR g/ml	Eigenschaften	Ref.
<p>α-TCP; 2,5 wt% Na₂HPO₄-Lösung</p>	HA	<p>0,4 wt% – 6,4 wt% Carboxymethylcellulose (CMC); 0,4 wt% – 6,4 wt% Agarpolymer (rotes Seegrass-/Polysaccharid); 0,4 wt% – 6,4 wt% Na-Alginat (SA)</p>	5 ml Spritze, Kanüle mit 80 mm Länge und 3 mm Durchmesser; konstante Belastung mit 50 N zwischen 5 s und 30 s	1,15 – 1,67	<p>Viskosität nimmt allgemein mit Zusätzen im Vergleich zu α-TCP ab; abrupte Viskositätsänderungen bei CMC 0,4 wt%, AGAR 1,6 wt%</p> <p><i>Injizierbarkeit:</i> Bei 5 s Injektionsdauer Anstieg auf 6 % – 32 % je nach Additiv und wt% (α-TCP: ca. 2%)</p> <p>Für 30 s Injektionsdauer α-TCP 15,7 %; Anstieg je nach Additive bis auf 88 %; beste Injizierbarkeit mit SA</p>	[120]
<p>„<i>Biocement H</i>“: 98 % α-TCP, 2 % PHA; „<i>Biocement F</i>“: 64 % α-TCP, 9 % PHA; 27 % DCP; „<i>Biocement B</i>“: 90 % α-TCP, 5 % PHA, 5 % CC „<i>Biocement D</i>“: 58 % α-TCP, 8,5 % PHA, 25 % DCP, 8,5 % CC 1 % – 4 % Na₂HPO₄-Lösung</p>	HA	<p>PHA, DCP und CC (Konzentrationen nicht regelmäßig, keine Angaben über Partikelgrößen)</p>	20 ml Spritze mit 2 mm Öffnung; 2,0 – 4,0 g Zementpaste, Applikation per Hand oder mit Maximalkraft 100 N	2,5 – 2,85	<p><i>Injizierbarkeit:</i> Biocement H zeigt die niedrigste Injizierbarkeit (53 % und 75 %); Additive DCP und CC steigern die Injizierbarkeit auf 76 % – 91 % bei L/P = 0,35; bei L/P = 0,40: 90 % – 93 %; beste Injizierbarkeit bei Biocement D</p>	[121]

3. MATERIAL UND METHODEN

In diesem Kapitel werden Herstellungsprozesse von Calciumphosphat-Zementen (CPC) und ihrer Komponenten sowie die Charakterisierung der Eigenschaften der hergestellten Materialien beschrieben. Zur Charakterisierung dieser Materialeigenschaften wurden Bestimmungen von Partikelgrößenverteilungen, Protolysegraden (pH-Wert-Messungen), Löslichkeiten und Oberflächenladungen (Zetapotentialmessungen) durchgeführt. Weiterhin fanden Untersuchungen der Oberflächenstrukturen mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM), des Abbindeverhaltens, der mechanischen Eigenschaften wie Druck- und Zugfestigkeit sowie der Rheologie von Calciumphosphat-Zementen und deren Injizierbarkeit statt.

3.1 Chemikalien

Tabelle 3.1: Übersicht über die in der Arbeit verwendeten Chemikalien

Chemikalie	Herkunft
Aqua ad injectabilia	Fa. Delta-Pharma, Pfullingen
CaCl ₂	Fa. Merck, Darmstadt
CaCO ₃ (CC)	Fa. Baker, Phillipsburg/USA
CaHPO ₄ (DCPA)	Fa. Baker, Phillipsburg/USA
CaSiO ₃	Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen
CaTiO ₃	Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen
CaZrO ₃	Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen
EtOH (96%)	Fa. Merck, Darmstadt
Ethanol Uvasol [®] , reinst	Fa. Merck, Darmstadt
EtOH (99,9%)	Fa. Merck, Darmstadt
HEPES	Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen
Hydranal [®] -Composite 1	Fa. Riedel-de Haën [®] , Seelze
KBr Uvasol [®]	Fa. Merck, Darmstadt
KCl	Fa. Merck, Darmstadt
NaCl	Fa. Merck, Darmstadt.
NaH ₂ PO ₄	Fa. Merck, Darmstadt
Na ₂ HPO ₄	Fa. Merck, Darmstadt
Na ₃ zitrat	Fa. Merck, Darmstadt
ZrO ₂	Fa. Alfa Aesar, Karlsruhe
NH ₄ Cl	Fa. Merck, Darmstadt
iso-PrOH, max. 0,2% Wassergehalt	Apotheke, Universitätsklinikum Würzburg
SiO ₂ (Aerosil)	Fa. Sigma-Aldrich, Deisenhofen
TiO ₂ (Rutil)	Fa. Alfa Aesar, Karlsruhe
Zitronensäure	Fa. Merck, Darmstadt

3.2 Herstellung und Mahlung von Calciumphosphaten

3.2.1 Nassmahlung von Calciumcarbonat und Calciumhydrogenphosphat

Zur Mahlung von Calciumcarbonat (CC) und wasserfreiem Calciumhydrogenphosphat (DCPA) standen eine Planetenschnellmühle PM400 der Fa. Retsch, Haan, mit Mahlbechern aus Achat mit einem Volumen von 500 ml sowie Kugeln mit einem Durchmesser von 10 mm der Fa. Retsch des gleichen Werkstoffs zur Verfügung. Zur Vermeidung der Agglomeratbildung wurde wasserfreies Ethanol (EtOH, 99,9 %) als Mahlhilfsmittel eingesetzt. Für die Mahlung von CC wurden die Achatbecher mit jeweils 200 g (1,99 M) CC, 175 ml EtOH und 200 Mahlkugeln befüllt. Für die Mahlung von DCPA wurden die Achatbecher mit 180 g (1,32 M) DCPA, 200 ml EtOH und 200 Mahlkugeln bestückt. Als Mahlparameter wurden 250 Umdrehungen pro Minute (U/min) ohne Wechsel der Rotationsrichtung sowie eine Mahldauer von 24 h gewählt. Die Trocknung der Pulver erfolgte bei 60 °C unter Vakuum bis zur Gewichtskonstanz in einem Trockenschrank (Vakutherm VT 6060M-BL) der Fa. Heraeus Instruments, Hanau.

3.2.2 Tetracalciumphosphate

Basismischung CC / DCPA für die Synthese von Tetracalciumphosphat (TTCP)

Für die Basismischung wurden 1572,8 g (11,56 M) wasserfreies DCPA mit 1102,0 g (11,01 M) CC versetzt und bei Raumtemperatur in einem Pflugscharmischer M5R (MK) der Fa. Gebrüder Lodige-Maschinenbau GmbH, Paderborn, 1 h bei 180 U/min ohne Wechsel der Rotationsrichtung gemischt. Von dieser Pulvermischung wurden anschließend 400,0 g ohne weitere Aufbereitung einem Sinterprozess (1500 °C, 18 h) unterworfen.



Nasszusatz von Metalloxiden zu der Basismischung CC / DCPA

Hierfür wurden 400 g einer Basismischung in 380 ml iso-PrOH suspendiert und spatelweise mit wechselnden Anteilen Silicium(IV)oxid (SiO₂), Titan(IV)oxid (TiO₂, Rutil) oder Zirkon(IV)oxid (ZrO₂) versetzt. Alle Metall(IV)oxide wurden kommerziell erworben und ohne weitere Aufbereitung eingesetzt. Nach 24 h Rühren bei Raumtemperatur, schnellem Abfiltrieren unter vermindertem Druck und Trocknen der Filterkuchen bei 80 °C im Vakuum bis zur Gewichtskonstanz wurden die Pulver einem Sinterprozess unterworfen. Der Anteil der Metall(IV)oxide in den Pulvermischungen betrug 5 mol%, 10 mol% bzw. 20 mol%. Diese Angaben beziehen sich auf den jeweiligen theoretisch durch ein Metall(IV)oxid zu ersetzenden CC-Anteil

(Ladungsanteil) der Basismischung. Die genauen Zusammensetzungen der daraus resultierenden Pulvermischungen sind in Tabelle 3.2 angegeben.

Tabelle 3.2: Zusammensetzung der Pulvermischungen für die Synthese von TTCP ohne und mit Zusatz der Metall(IV)oxide SiO₂, TiO₂ und ZrO₂

CC [mol]	DCPA [mol]	MO ₂	MO ₂ [g]	MO ₂ [mM]	MO ₂ [mol%]
1,635	1,724	-	-	-	-
1,635	1,724	SiO ₂	4,93	82	5
1,635	1,724	SiO ₂	9,91	165	10
1,635	1,724	SiO ₂	19,77	329	20
1,635	1,724	TiO ₂	6,55	82	5
1,635	1,724	TiO ₂	13,18	165	10
1,635	1,724	TiO ₂	26,23	329	20
1,635	1,724	ZrO ₂	10,10	82	5
1,635	1,724	ZrO ₂	20,33	165	10
1,635	1,724	ZrO ₂	40,54	329	20

Sinterprozess

Als fester Sinterparameter war die Aufheizphase mit 15 °C pro Minute (°C/min) vorgegeben; als Variablen galten die Dauer des Sinterprozesses (4 h – 18 h) und die Haltetemperatur mit 1400 °C bzw. 1500 °C. Für die reine CC/DCPA-Basismischung und die die Pulvermischungen mit den Metalloxidzusätzen SiO₂ und ZrO₂ wurde die Sinterung bei 1500 °C durchgeführt. Für die Pulver mit dem Zusatz TiO₂ musste die Haltetemperatur auf 1400 °C herabgesetzt werden, da sonst ein Volumenverlust des resultierenden Sinterkuchens von bis zu 50 % auftrat. Auch die Verarbeitbarkeit dieses Sinterguts war bei 1500 °C nicht mehr gewährleistet – die Verdichtung und damit makroskopische Härtung war unter diesen Bedingungen zu groß. Nach Beendigung des Heizvorgangs wurde das Sintergut innerhalb von 5 min durch vollständiges Öffnen des Ofens (OTV System Vecstar, Oyten, Oyten) abgeschreckt, um die bei langsamer Abkühlung auftretende Zersetzung des TTCP in Hydroxylapatit (HA) und Calciumoxid (CaO) bei 800 – 1200 °C zu vermeiden. Anschließend wurden die Sinterkuchen nach der Abkühlung unter Schutzgas in einer Glovebox (FMZ, Universität Würzburg) unter feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen gemörsert und gesiebt (355 µm Sieb, Fa. Fritsch, Idar-Oberstein). Bis zur weiteren Verwendung wurden die gesiebten Pulver unter feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen aufbewahrt, um unerwünschte Reaktionen zu HA, die zur Inaktivierung der Partikeloberflächen führen, zu vermeiden. Die qualitative Beurteilung der Produkte erfolgte mittels Röntgendiffraktometrie (XRD, Röntgendiffraktometer D5005, Fa. Siemens, Karlsruhe) in einem Messbereich von 20° bis 40° bei einer Geschwindigkeit von 2 deg / min und

einer Schrittweite von 0.01° (siehe Kapitel 3.3.1). Zur Auswertung der Röntgenspektren standen innerhalb des Messprogramms die JCPDS Referenzspektren von TTCP (PDF Ref. 25-1137), DCPA (PDF Ref. 09-0080), CC (PDF Ref. 05-0586), Calciumtitanat (CaTiO_3 , PDF Ref. 42-0423) und Calciumzirkonat (CaZrO_3 , PDF Ref. 35-0790) zur Verfügung.

Trockenmahlung von TTCP

Zur Mahlung in einer Planetenschnellmühle PM400 der Fa. Retsch, Haan, wurden 500 ml Achatbecher mit jeweils 36,63 g (100 mM) TTCP und 4 Mahlkugeln aus Achat mit einem Durchmesser von 30 mm befüllt. Als variabler Parameter wurde die Mahldauer mit 20 min bei einer Umdrehungszahl von 200 U/min unter minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung gewählt. Die nach der Trockenmahlung erhaltenen Pulver wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

3.2.3 α -Tricalciumphosphate

Herstellung von α -Tricalciumphosphat (α -TCP)

Zu einer Suspension von 100,1 g (1,00 M) CC in 350 ml iso-PrOH wurden 292,4 g (2,15 M) DCPA gegeben und 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abfiltrieren unter vermindertem Druck erfolgte die Trocknung des Pulvers im Vakuum bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz. Das weiße Pulver wurde anschließend einem Sinterprozess unterworfen. Hierbei wurde die Temperatur in Schritten von $20^\circ\text{C}/\text{min}$ erhöht, bis eine Endtemperatur von 1400°C erreicht war. Diese wurde über einen Zeitraum von 5 h konstant gehalten. Die Abschreckung und Aufarbeitung des Sinterguts erfolgte analog der Herstellung von TTCP (siehe Kapitel 3.2.2, Sinterprozess).



Die Phasenreinheit des α -TCP wurde durch eine röntgendiffraktometrische Untersuchung kontrolliert. Die Aufnahme der Röntgenspektren erfolgte in einem Messbereich von 20° bis 40° bei einer Geschwindigkeit von $2 \text{ deg} / \text{min}$ und einer Schrittweite von 0.01° . Als Referenzen wurden die JCPDS Spektren von α -TCP (PDF Ref. 09-0348), CC (PDF Ref. 05-0586) und DCPA (PDF Ref. 09-0080) verwendet.

Nasszusatz eines Metalloxids

Eine Suspension von 110,11 g (1,10 M) CC und 292,4 g DCPA (2,15 M) in 350 ml *iso*-PrOH wurde mit 7,99 g (0,1 mol, 10 mol%) TiO₂ versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Mischung unter vermindertem Druck abfiltriert und im Vakuum bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der anschließende Sinterprozess sowie die Aufbereitung des Sinterguts wurden analog der Herstellung von α -TCP durchgeführt. Die qualitative Beurteilung des Produkts erfolgte entsprechend der von reinem α -TCP. Als Referenzspektren standen die JCPDS Spektren von α -TCP (PDF Ref. 09-0348), CC (PDF Ref. 05-0586), DCPA (PDF Ref. 09-0080) sowie CaTiO₃ (PDF Ref. 42-0423) zur Verfügung.

Nassmahlung von α -TCP

In 500 ml Achatbechern wurden jeweils 75 g (242 mM) α -TCP in 125 ml EtOH (96%) mit 250 Achatkugeln mit einem Durchmesser von 10 mm bei 250 U/min ohne Wechsel der Rotationsrichtung für eine Dauer von 1 h, 4 h bzw. 24 h gemahlen. Die Entfernung des Lösungsmittels erfolgte im Vakuum bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz. Die erhaltenen Pulver wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

Trockenmahlung von α -TCP

Zur Mahlung in 500 ml Achatbechern wurden 75 g (242 mM) α -TCP und jeweils 4 Achatkugeln mit einem Durchmesser von 30 mm eingesetzt. Als Variable galt die Mahldauer mit 1 h, 4 h bzw. 24 h bei 200 U/min mit wechselnder Rotationsrichtung. Die erhaltenen Pulver wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

3.2.4 Calciumphosphat-Zemente auf Basis von TTCP und DCPA

36,63 g (100 mM) gemahlenes TTCP (siehe Kapitel 3.2.2, ohne bzw. mit Metalloxidzusatz) und 14,31 g (105 mM) gemahlenes DCPA (siehe Kapitel 3.2.1) wurden zusammen mit 0,50 g (3,52 mM) Na₂HPO₄ und 4 Achatkugeln á 30 mm Durchmesser in einem 500 ml Achatbecher vermischt. Als Parameter waren 100 U/min unter minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung sowie eine Dauer von 20 min bzw. 30 min vorgegeben. Referenzzemente wurden durch Mischung von 36,63 g (100 mM) gemahlenem, reinem TTCP und 14,31 g (105 mM) gemahlenem DCPA mit 0,50 g (3,52 mM) Na₂HPO₄ sowie jeweils 10 mol% kommerziell erhältlichem Calciumsilikat (CaSiO₃), Calciumtitanat (CaTiO₃) oder Calciumzirkonat (CaZrO₃) hergestellt. Die 10 mol% Calciummetallat wurden nicht auf 100 mM gemahlenes TTCP bezogen, sondern auf die Mengenangaben bei der Herstellung

von TTCP in Kapitel 3.2.2 (siehe Tabelle 3.2). Die erhaltenen Zementpulver wurden bis zur weiteren Verwendung unter Feuchtigkeitsausschluss aufbewahrt.

Tabelle 3.3: Zusammensetzung von CPC mit Zusatz der Additive CaMO_3 , M = Si, Ti, Zr

TTCP [mM]	DCPA [mM]	CaMO_3	CaMO_3 [mol%]	CaMO_3 [mM]	CaMO_3 [g]
100	105	CaSiO_3	10	16,5	1,91
100	105	CaTiO_3	10	16,5	2,24
100	105	CaZrO_3	10	16,5	2,96

3.2.5 Calciumphosphat-Zemente auf Basis von α -Tricalciumphosphat

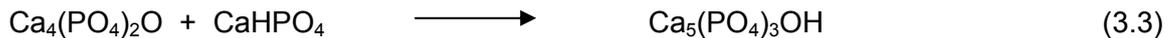
20,0 g (64,5 mM) des 4 h trocken gemahlenem α -TCPs (siehe Kapitel 3.2.3) wurden in einer Schlagwerkmühle (Fa. ClaTronic) mit unterschiedlichen Anteilen an gemahlenem CC, gemahlenem DCPA (siehe Kapitel 3.2.1) und kommerziell erhältliches, ungemahlenem TiO_2 für die Dauer von 30 s vermengt. Die Anteile der Zuschläge an der Gesamtmischung entsprachen 13 wt%, 23 wt%, 33 wt%.

Tabelle 3.4: Zusammensetzung von α -TCP-Zementen mit Zusatz der Additive CC, DCPA und TiO_2

α -TCP [g]	α -TCP [mM]	Additiv	Additiv [g]	Additiv [mM]	Additiv [wt%]
20,0	64,5	-	-	-	-
20,0	64,5	CC	3,0	30,0	13
20,0	64,5	CC	6,0	60,0	23
20,0	64,5	CC	10,0	100,0	33
20,0	64,5	DCPA	3,0	22,0	13
20,0	64,5	DCPA	6,0	44,0	23
20,0	64,5	DCPA	10,0	74,0	33
20,0	64,5	TiO_2	3,0	37,5	13
20,0	64,5	TiO_2	6,0	75,0	23
20,0	64,5	TiO_2	10,0	125,0	33

3.2.5 Synthese von Hydroxylapatit

Es wurden 50 g CPC auf Basis von TTCP und DCPA (siehe Kapitel 3.2.4) zusammen mit 20 ml einer 0.25 M Natriumphosphat-Lösung (0.0833 M NaH_2PO_4 und 0.166 M Na_2HPO_4) in 300 ml dest. Wasser 96 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abfiltrieren der Suspension bei vermindertem Druck wurde ein weißes Pulver erhalten, das im Vakuum bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde.



Die Phasenzusammensetzung bzw. Phasenreinheit des Pulvers wurde röntgendiffraktometrisch in einem Messbereich von 20° bis 40° mit einer Schrittgeschwindigkeit von 2 deg/min und einer Schrittweite von 0,01° bestimmt. Als Vergleich dienten die JCPDS Spektren von DCPA (PDF Ref. 09-0080), TTCP (PDF Ref. 25-1137) und HA (PDF Ref. 09-0432). Das so über die Abbindereaktion des Zements hergestellte HA wurde ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

3.3 Charakterisierung von Materialeigenschaften

3.3.1 Oberflächen- und Partikelanalyse

Optische Beurteilung mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Für Untersuchungen von Pulvern und Bruchflächen von Sintergut oder Prüfkörpern wurde ein Rasterelektronenmikroskop des Typs DSM 940 der Fa. Zeiss, Oberkochen, mit integriertem SE- und BSE-Detektor verwendet („secondary electrons“, SE und „backscattered electrons“, BSE). Das plastische Bild der Oberflächen wird durch einen Elektronenstrahl vermittelt, der über thermische Emission im Hochvakuum erzeugt wird. Hierfür werden die emittierten Elektronen gebündelt, durch eine zwischen Kathode und Anode anliegenden Hochspannung beschleunigt und mit Hilfe elektromagnetischer Linsen auf die Probe fokussiert. Über Ablenkspulen ist die zeilenweise Abtastung der Oberfläche mit dem Elektronenstrahl möglich. Wechselwirkungen der Primärelektronen mit den Probenatomen lassen Sekundär- und Rückstreuelektronen (SE und BSE) entstehen, die detektiert und in elektrische Signale umgewandelt werden. Diese werden verstärkt und zur Helligkeitsmodulation einer Bildschirmröhre verwendet, deren Strahl sich synchron mit dem Primärelektronenstrahl bewegt. Damit der Primärstrahl nicht einfach nur reflektiert wird, muss die Oberfläche der zu untersuchenden Probe leitfähig sein.

Von pulverigen Proben wurde hierfür eine Spatelspitze (max. 100 mg) in wasserfreiem *iso*-PrOH im Ultraschallbad suspendiert. Nach der Auftragung der Suspension auf einen Objektträger aus Aluminium und der Entfernung des Suspensionsmittels durch Lufttrocknung wurden die Pulverpartikel zur Erzielung einer leitfähigen Oberfläche mit Gold bedampft. Hierfür stand eine Sputteranlage des Typs K250 der Fa. *Emitech*, Ashford, England, zur Verfügung. Bei der Beurteilung von Bruchflächen dagegen wurden die Prüfkörper auf dem Objektträger mit einem Kleber aus Kohlenstoffpaste befestigt und nach Entfernung des Lösungsmittels durch

Lufttrocknung in der Sputteranlage mit einer Goldschicht bedampft. Die so präparierten Pulver und Probenkörper wurden anschließend bei einer Beschleunigungsspannung von 5 – 15 kV optisch anhand zufällig ausgewählter Oberflächenbereiche beurteilt.

Ermittlung der Phasenzusammensetzung durch Röntgendiffraktometrie (XRD)

Eine qualitative und quantitative Beurteilung und damit die Bestimmung von Phasenreinheit und –zusammensetzung von Werkstoffen ist über die Röntgenpulverdiffraktometrie möglich. Diese Methode beruht auf einer elastischen Streuung bzw. der Beugung von monochromatischen Röntgenstrahlen (CuK_α) mit der Wellenlänge λ an einer periodischen Struktur (hier: Kristallgitter) ^[122, 123]. Die Röntgenstrahlung dringt in die Oberfläche ein und wird an den verschiedenen, parallelen Netzebenen des Kristallgitters reflektiert. Hierbei kommt es zu einer Überlagerung (Interferenz) der reflektierten Streuwellen. Im Falle einer so genannten konstruktiven Interferenz sind die Streuwellen in Phase und verstärken sich so zu einem messbaren Signal, das von einem Detektor aufgefangen wird. Bei dieser konstruktiven Interferenz folgt die Beugung der Röntgenstrahlen an den parallelen Netzebenen des Kristallgitters der Bragg-Bedingung (siehe Gleichung 3.4):

$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad (3.4)$$

mit λ = Wellenlänge der Röntgenstrahlung; n = ganzzahliges Vielfaches der Wellenlänge λ , n -tes Intensitätsmaximum; d = Abstand der Netzebenen im Kristallgitter; θ = Bragg-Winkel, Glanzwinkel, Beugungswinkel des Intensitätsmaximums

Die dabei auftretenden Beugungsmuster sind für jede kristalline Substanz charakteristisch und können zu ihrer Identifizierung heran gezogen werden. Die qualitative Auswertung von Proben erfolgt häufig durch Vergleich mit den Diffraktogrammen bekannter Substanzen. Solche Referenzdaten (Powder Diffraction File, PDF) sind z.B. in den Datenbanken der ICDD (International Centre for Diffraction Data), früher bekannt als JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) zu finden ^[124].

Die Pulverdiffraktogramme der vorliegenden Arbeit wurden mit einem Röntgendiffraktometer D5005 der Fa. Siemens, Karlsruhe, aufgenommen. Es handelt sich hierbei um ein Theta-2 Theta-Goniometer (auch Omega-2 Theta), in dem sowohl der Probenhalter als auch der Detektor beweglich sind. Der Probenhalter dreht sich dabei während der Messung mit der Winkelgeschwindigkeit ω , der

Detektor bewegt sich mit der doppelten Winkelgeschwindigkeit 2ω um den Probensteller. Um qualitativ hochwertige Diffraktogramme zu erhalten, sollte die zu vermessende Probe möglichst Korngrößen zwischen 1 und 10 μm aufweisen ^[125]. Dies ist bei Proben von Sintergut oder Probenkörpern abgebundener Zemente nur möglich durch manuelle Zerkleinerung. Um eine Erwärmung und damit chemische Reaktionen oder Phasenumwandlungen während der Zerkleinerung zu vermeiden, wurden solche Proben in Aceton mit Mörser und Pistill vorsichtig pulverisiert. Nach Aufbringung der an Luft getrockneten Pulver auf den Probensteller wurde die Oberfläche mit einem Objektträger glatt gestrichen, um eine immer gleiche Probenhöhe zu gewährleisten. Die Pulverdiffraktogramme wurden bei einer Kathodenspannung von 40 kV und einer Stromstärke von 40 mA durchgeführt. Die Messdauer betrug bei Sintergut und Zementproben zwischen 20 min und 24 h, um glattere, bessere auswertbare Kurven zu erhalten. Die Messung und qualitative Auswertung der Diffraktogramme erfolgte mit der Hilfe der Software DIFFRAC^{plus} der Fa. Siemens, Karlsruhe. Die quantitative Analyse und die Berechnung durchschnittlicher Kristallitgrößen erfolgte über die Rietveld-Methode, unter Verwendung des Chebyshev-Hintergrundmodells 4. Ordnung, eines $\text{CuK}\alpha$ -Emissionsprofils und der Referenzspektren (PDF-Files) innerhalb der TOPAS Software (Bruker AXS, Fa. Bruker, Karlsruhe). In diesem Profilanpassungsverfahren wird das gesamte Beugungsdiagramm unter Berücksichtigung von Überlappungen ausgewertet ^[125]. Die Flächen unter den stärksten Streupeaks von DCPA bei $26,4^\circ$, $26,6^\circ$, $26,8^\circ$ und $27,0^\circ$ und von TTCP bei $29,2^\circ$ und $29,8^\circ$ wurden als Maß für die Kristallinität der Pulver verwendet. Die Kristallitgröße der Pulver wurde durch Rietveld-Analyse der Diffraktogramme mit der Auswertesoftware TOPAS der Firma Bruker AXS, Karlsruhe, bestimmt.

Ermittlung der Partikelgrößenverteilung durch Laserstreuung

Für die Ermittlung der Partikelgrößen wurde ein Laserbeugungsspektrometer (LA 300, Fa. Horiba, Japan) eingesetzt. Die zu untersuchende Probe wird in einem Dispersionsmittel in einem Kreislauf durch eine Messzelle gefördert, durch die ein Laserstrahl hindurchtritt. Durch die Feststoffpartikel in der Suspension wird das Licht in Abhängigkeit der Partikelgröße gebeugt. Das Beugungsspektrum wird hinter der Messzelle von einem Photodetektor erfasst. Mit dem zusätzlich detektierten, gestreuten Lichtanteil (seitliche Detektoren) kann auf den Grundlagen der Theorien von Fraunhofer und Mie zur Lichtbeugung und -streuung die Partikelgröße berechnet werden ^[126].

Es wurden ca. 100 mg des zu untersuchenden Pulvers in 25 ml iso-PrOH dispergiert, 5 min in einem externen Ultraschallbad vorbehandelt und zu weiteren 200 ml iso-PrOH in der Probenkammer des Partikelgrößenanalysators gegeben. Vor jeder Vermessung erfolgte zusätzlich eine einminütige Behandlung der Dispersion mit dem integrierten Ultraschallbad. Die Zirkulationsgeschwindigkeit des Dispersionsmediums betrug 7 Einheiten. Für jede Messung waren 30 Iterationen sowie eine Messdauer von 20 s vorgegeben. Die Auswertung der Messungen erfolgte volumen- oder flächenabhängig.

3.3.2 Ermittlung des Protolysegrads

Die Löslichkeit und Reaktivität von Calciumphosphaten kann durch Zusätze im Herstellungsprozess beeinflusst werden. Änderungen in der Protolysereaktion nehmen Einfluss auf den pH-Wert und damit auf die Abbindereaktion und die Stabilität ausgehärteter Zemente. Daher wurde mit Hilfe der Potentiometrie die Basizität pastöser Proben, insbesondere mit Metalloxiden versetzten Calciumphosphaten und daraus hergestellten CPC-Pulvermischungen, ermittelt. Zusätzlich wurde die Oberflächenstabilität bzw. das chemische Verhalten der aus den Pulvermischungen hergestellten Probenkörper in physiologischer Umgebung dokumentiert. Für beide Untersuchungen stand eine pH-Elektrode Delta 345 der Fa. Mettler-Toledo, Gießen, zur Verfügung. Die Kalibrierung des Geräts erfolgte mit Hilfe standardisierter Pufferlösungen der Fa. Merck, Darmstadt. Als flüssige Phasen zur Anmischung der CPC-Pulver waren Aqua ad injectabilia, Fa. Delta-Pharma, Pfullingen, bzw. eine 0,25 M Natriumhydrogenphosphat-Lösung (83,3 mM NaH_2PO_4 und 166,0 mM Na_2HPO_4 in Wasser) vorgegeben. Das Pulver-Lösungs-(P/L-)Verhältnis wurde für alle Pastenmessungen auf 3,3/1 festgelegt. Die potentiometrischen Messungen in physiologischer Umgebung wurden in einer HEPES-Pufferlösung (11,92 g (50,0 mM) N-(2-Hydroxyethyl)piperazin-N'-(2-ethansulfonsäure)hemi-natriumsalz (HEPES) zusammen mit 8,18 g (140,0 mM) Natriumchlorid (NaCl) in 1000 ml destilliertem Wasser) durchgeführt. Der pH-Wert ist als Funktion der Zeit angegeben.

Messung des Protolysegrads in der Zementpaste

Nach dreißigsekündigem Anmischen von 2,00 g Zementpulver mit 606 μl Flüssigkeit auf einer Glasplatte wurde die entstandene Paste in ein Mikroreaktionsgefäß (1,50 ml) der Fa. *Hartenstein*, Würzburg, mit 0,50 mm-Bohrung überführt und die pH-Elektrode bis zur vollständigen Bedeckung in die Paste eingestochen. Die pH-Werte wurden in definierten Zeitabständen über einen Gesamtzeitraum von 6 h protokolliert.

Messung des pH-Werts in physiologischer Umgebung

Die physiologische Stabilität angehärteter CPC wurde durch Einlagerung in einem gepuffertem Medium überprüft. Die Anmischung der CPC erfolgte bei einem P/L-Verhältnis von 3,3/1. Für die Prüfung wurden auf einer Glasplatte 0,40 g Zementpulver mit 121 μ l Flüssigkeit 30 s angemischt. Die entstandene Zementpaste wurde in eine Edelstahlpressform mit mittiger Bohrung ($d = 6$ mm) überführt, dessen Boden mit einem passenden Metallstempel versehen war. Die Pressform wurde mit einem weiteren Stempel verschlossen und mit einem Gewicht von 20 N belastet. Dreißig Minuten nach Anmischung der Zementpaste erfolgte die Entnahme des Probenkörpers aus der Edelstahlform mit Hilfe einer hydraulischen Pressvorrichtung. Nach weiteren 90 min Aushärtungsdauer an Luft und Überschichtung des Prüfkörpers mit 2 ml HEPES-Puffer wurden die pH-Werte der physiologischen Lösung in definierten Zeitabständen über einen Gesamtzeitraum von 30 h protokolliert.

3.3.3 Potentiometrische Bestimmung von Calciumionen

Bei potentiometrischen Messungen werden Potentialdifferenzen als elektrische Spannungen zwischen einer Arbeitselektrode und einer Bezugslektrode gemessen. Hierfür wird die Bezugslektrode in einem Elektrolyten mit bekanntem Potential eingesetzt. So kann das Potential der zu vermessenden Flüssigkeit nach vorangehender Eichung dann direkt bestimmt werden.

Mit Hilfe der ionenselektiven Potentiometrie wurden die Auswirkungen von Zuschlägen auf die Löslichkeit von Tetracalciumphosphaten und damit auf die Abbindereaktionen von daraus hergestellten Calciumphosphat-Zementen bestimmt. Hierfür standen eine elektrochemische Zelle (siehe Abbildung 3.1) mit calciumionenselektiver Messelektrode (Typ 15 220 30000, Fa. Mettler-Toledo, Gießen) und einer Potential-konstanten Bezugslektrode zur Verfügung, deren messbare Spannung von der Aktivität freier, nicht gebundener Ionen in der Probenlösung abhängt. Das Referenzsystem setzte sich aus einer Elektrode Inlab ® 302, Typ 373-90-WTE-ISE-S7 mit Ag/AgCl-Referenzsystem und Brückenelektrolytkammer der Fa. Mettler-Toledo zusammen. Die Erfassung der Messwerte erfolgte mit Hilfe eines pH-Meters (Mettler Delta 345, Fa. Mettler-Toledo, Gießen) und eines X-Y-t-Schreibers (PM 8271, Philips, Nürnberg). Der für ionenselektive Messungen notwendige Brückenelektrolyt wurde aus Kaliumchlorid (KCl) hergestellt. Die Vortemperierung der zu untersuchenden Lösungen und des Suspensionsmediums erfolgte mit Hilfe eines Wasserbads (Typ GFL, Fa. Hartenstein), um eine zu lange Anpassungszeit der Probenlösung an die Versuchstemperatur zu vermeiden.

Die Thermostatisierung der Probenlösungen während der Messungen erfolgte über ein Kälte-Umwälzthermostat F34 der Fa. Julabo Labortechnik, Seelbach.

Die Vermessung starker Elektrolyte erfordert einen konstanten Aktivitätskoeffizienten und damit eine gleich bleibende Ionenstärke innerhalb der Probenlösung. Diesem Zweck diente die Zugabe einer hoch konzentrierten Salzlösung („ISA“-Lösung, Ion Strength Adjustor-Lösung), für die die ionenselektive Elektrode keine Querempfindlichkeit zeigte. Für die Herstellung dieser ISA-Lösung wurden 26,75 g (0,50 M) Ammoniumchlorid (NH_4Cl) in deionisiertem Wasser aufgelöst und die Lösung auf 100 ml aufgefüllt.

Erstellung einer Eichgeraden

Die Konzentrationen freier Calciumionen (Ca^{2+} -Ionen) in Lösung wurden mit Hilfe einer Eichgeraden ermittelt. Diese erhält man durch die Vermessung von Calcium-Standardlösungen bekannter Molarität in einem Bereich von 10^{-5} bis 10^{-1} M Calciumionen. Für die Herstellung der verschiedenen Standardlösungen wurde eine 1 molare Calciumchlorid (CaCl_2)-Lösung – entsprechend 1 mol Calciumionen auf 1000 ml entionisiertes Wasser – mit ionenfreiem Wasser verdünnt. Das Volumen der so hergestellten Standardlösungen im Bereich von 10^{-5} bis 10^{-1} mol/l Calciumionen wurde auf 100 ml festgelegt. Die „Trägheit“ der Messmethode wurde mit Hilfe einer 1 molaren CaCl_2 -Lösung geprüft. Nach ca. 3 s war hierbei die Gleichgewichtseinstellung in dem System bei gegebener Temperatur erfolgt. 100 ml einer vortemperierten Calcium-Standardlösung wurden in einer temperierten Messzelle (siehe Abbildung 3.1) mit 2 ml einer 5 mol ISA-Lösung versetzt. Eine konstante Temperatur während der Messung wurde durch die zusätzliche Isolierung der Messzelle mit Aluminiumfolie gewährleistet. Um eine vollständige Anpassung der Probenlösung an die vorgegebene Temperatur zu gewährleisten, wurden die zugehörigen Spannungswerte erst nach jeweils 10 min registriert. Die so bei gegebener Temperatur gemessenen Spannungswerte der Probenlösungen wurden gegen den Logarithmus der jeweiligen Calciumionen-Konzentration aufgetragen und die dazu gehörige Geradengleichung über die Software Microsoft® Excel ermittelt. Die Elektroden wurden nach jeder Messung durch mehrfaches Spülen mit ionenfreiem Wasser gereinigt. Die Versuchstemperatur war auf $T = 37^\circ\text{C}$ festgelegt.

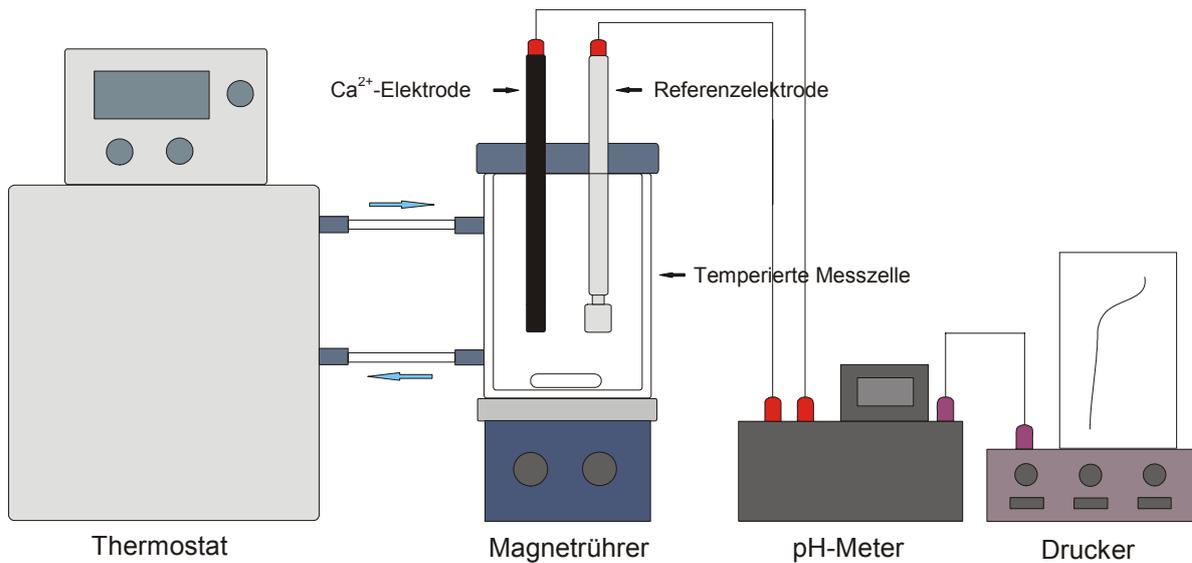


Abbildung 3.1: Versuchsanordnung zur Calciumionenselektiven Potentiometrie, $T = 37\text{ °C}$

Ermittlung der kinetischen Löslichkeit

Die unter Punkt 3.2.2 gemahlene Tetracalciumphosphate wurden gemäß der oben beschriebenen Versuchsanordnung auf die Calciumionen-Freisetzung in einer gegebenen Zeiteinheit untersucht. Feststehende Messparameter waren das Probenvolumen, die Probenmasse, die Temperatur der Probenlösung und die Dauer der Messung.

Für die Vermessung wurden 100 ml vortemperiertes, ionenfreies Wasser mit 2 ml einer 5 mol ISA-Lösung versetzt. Um eine vollständige Anpassung der Probenlösung an die vorgegebene Temperatur von $T = 37\text{ °C}$ zu gewährleisten, wurde die Probenlösung 10 min gerührt. Anschließend wurden 0,35 g Calciumphosphat schlagartig zugegeben. Die Messdauer betrug 2 min, die Spannungswerte wurden in Intervallen von 2 Sekunden bei einer Schreibergeschwindigkeit von 1200 mm / min registriert. Die Elektroden wurden nach jeder Messung durch mehrfaches Spülen mit ionenfreiem Wasser gereinigt.

Anhand der Eichgeraden und der Geradengleichung wurden die zu den protokollierten Spannungswerten gehörigen Calciumionen-Konzentrationen ermittelt. Für den Vergleich des Löslichkeitsverhaltens wurde für alle Messungen der Bezugspunkt 0 mV und die dazu gehörige Calciumionen-Konzentration festgelegt. Die dadurch bei nachfolgenden Berechnungen erhaltenen Spannungs- und Konzentrationsdifferenzen waren Grundlage für die Betrachtung des Löslichkeitsverhaltens.

3.3.4 Zetapotentiale (ζ -Potential, Oberflächenpotential)

Die Geschwindigkeit einer Reaktion und die Umsetzungsraten zu gewünschten Produkten sind von verschiedensten Faktoren abhängig. Unter anderem spielt auch die elektrophoretische Mobilität von Partikeln in einem Suspensionsmedium und somit deren Oberflächenladung eine Rolle. Suspensionsmedien können durch Adsorption auf der Partikeloberfläche Einfluss auf den Ablauf einer Reaktion und infolge dessen auf die Eigenschaften der Produkte nehmen. Um die Auswirkungen der Zusammensetzung der flüssigen Phase auf anwendungsrelevante Eigenschaften der CPC zu analysieren, wurden die Oberflächenladungen verschiedener gemahlener Zementkomponenten und gefälltem HA mittels eines Zetasizers 300, Fa. Malvern Instruments, bestimmt. Als Suspensionsmedien standen deionisiertes Wasser sowie Lösungen von 500 mM Zitronensäure (96,1 g in 1000 ml Wasser) und 500 mM Na₃zitrat (147,1 g in 1000 ml Wasser) zur Verfügung.

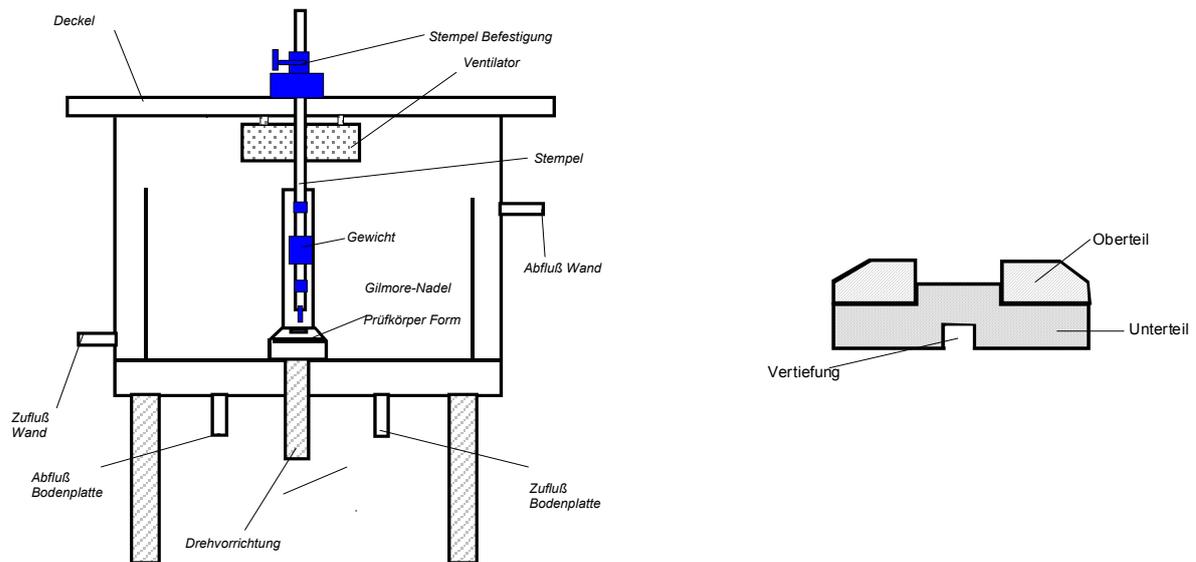
Bestimmung von Oberflächenpotentialen (Zetapotentialen)

Die zu vermessenden Proben wurden in jeweils 25 ml Medium suspendiert und 7 min in einem Ultraschallbad behandelt, um vorhandene Agglomerate aufzulösen. Eine starke Erwärmung der Suspensionen war hierbei zu vermeiden, um in der anschließenden Messung eine konstante Messtemperatur von 25 °C zu gewährleisten. Für diese Temperatur sind die Viskosität und Dielektrizitätskonstanten der verwendeten Suspensionsmedien (siehe Kapitel 3.5.1) zur Berechnung der Zetapotentiale bekannt. Die Menge des zu suspendierenden Pulvers war hierbei abhängig von der auftretenden Signalstärke während der Vermessung der Probe – diese sollte zwischen 1000 und 2000 kCts / s betragen. Zu hohe oder zu geringe Pulverkonzentrationen bedingen eine negative Abweichung von der genannten Zählrate. Die Elektrodenspannung der Messzelle betrug 150 V, die Modulationsfrequenz zur Ermittlung des Vorzeichens des Zetapotentials wurde mit 1000 Hz vorgegeben. Die Kalibrierung des Zetasizers erfolgte über die Vermessung einer Latex-Standard-Lösung (Malvern DTS0050) bei 25°C. Die Sauberkeit der Messkapillare wurde vor jeder Messreihe durch die Reinigung mit ionenfreiem Wasser gewährleistet, die anschließende Kontrollmessung mit ionenfreiem Wasser musste ein Zetapotential von 0 ± 2 mV ergeben. Als Pulver wurden DCPA (24 h Mahldauer), TTCP (20 min Mahldauer), α -TCP (4 h Mahldauer) und gefälltes HA vermessen.

3.3.5 Initiale Abbindezeit

Die initiale Abbindezeit (ST) wird definiert über die oberflächliche Aushärtung angemischter Zemente unter anwendungsnahen Bedingungen. Die Ermittlung dieser Zeitspanne erfolgte mit Hilfe eines Gilmore-Nadeltests in einer temperierten Feuchtigkeitskammer nach ASTM-Standard ^[127] (siehe Abbildung 3.2, Teilbild A). Die Apparatur bestand aus einer doppelwandigen Edelstahlkammer, deren Innenwand nach oben offen war. Ihre Vorderseite wurde durch eine PMMA-Tür verschlossen - der Spalt zwischen Tür und Kammer war zu beiden Seiten der Tür mit Dichtungsband abgedichtet. Die doppelwandige Bodenplatte war wie die Ummantelung der Edelstahlkammer mit einem Zu- und Abfluss versehen. In der Mitte der Bodenplatte wurde eine Probenform auf einem von außen drehbaren Teller befestigt. Die zweiteilige Probenform, siehe Abbildung 3.2, Teilbild B, mit einer mittigen Bohrung von 12 x 3 mm für die Aufnahme der Zementpaste war an ihrer Außenseite mit Markierungen im Abstand von 60° versehen und dadurch in sechs gleich große Kreissegmente unterteilt. Die Gilmore-Nadel war an einem Stempel befestigt und konnte an der Oberseite der Apparatur mit einer Schraube fixiert werden. Zur Umwälzung der Innenluft waren zwei Ventilatoren an der Kammerdecke angebracht.

Vor Beginn der Messungen erfolgte die Einstellung der Klimakammer (siehe Abbildung 3.2, Teilbild A) auf eine Innentemperatur von 37 ± 1 °C und eine Luftfeuchtigkeit von mehr als 90 %. Hierfür wurde ein an die Bodenplatte angeschlossener Thermostat (Lauda Thermostat Typ A100, Fa. Hartenstein, Würzburg) auf eine Temperatur von ca. 38 - 39 °C gebracht, ein zweiter Thermostat - angeschlossen an die Ummantelung der Kammer - wurde auf ca. 43 – 44 °C eingestellt. Die zur Umwälzung der Luft an der Kammerdecke angebrachten Ventilatoren wurden an eine 12 V Gleichstromquelle (Typ Digi35 der Fa. Conrad Electronics, Clausthal-Zellersfeld) angeschlossen und mit einer Stromstärke von 16 mA betrieben. Die Überwachung von Temperatur und Feuchtigkeit in der Kammer erfolgt durch ein Thermohygrometer. Um eine vollständige Durchwärmung der Apparatur zu gewährleisten, waren die beschriebenen Maßnahmen mindestens 1 h vor Beginn der ersten Messung auszuführen.



A)

B)

Abbildung 3.2: A) Temperierbare Messkammer zur Bestimmung von initialen und finalen Abbindezeiten von CPC über den Gilmore Nadeltest. B) Probenform zur Bestimmung von initialen und finalen Abbindezeiten

Anmischvorgang

Um das Verdunsten von Wasser aus der Zementpaste während des Mischvorgangs zu verhindern, wurde das Anmischen der Zementpasten in Latex-Fingerlingen (Suzuki Latex USA's EDEL-C) durchgeführt. Für eine Standardmessung wurden jeweils 1,00g Zement in einen Plastikfingerling eingewogen. Die anschließende Kürzung der Fingerlinge gewährleistete den Ausschluss von Feuchtigkeit bis zum Beginn der Prüfung. Für die Anmischung standen Aqua ad injectabilia, 2,5 wt% Na_2HPO_4 -Lösung, Na_3 zitrat-Lösungen (100 mM, 200 mM, 500 mM) sowie eine 500 mM Zitronensäure-Lösung zur Verfügung. Das P/L-Verhältnis bei der Anmischung der Calciumphosphat-Zemente war variabel. Nach der Zugabe von 303 μl Lösung wurde der Fingerling mit einer Klemme am oberen Ende so verschlossen, daß möglichst wenig Luft im Inneren verblieb. Das fünfzehnssekündige Kneten des Fingerlings auf der vibrierenden Auflage eines Mixers (Thermolyne vibratory mixer Maxi mix II, Typ 37600, Fa. Barnstead, Iowa/USA) sorgte für die gleichmäßige Vermischung beider Komponenten. Anschließend wurde die entstandene Zementpaste mit Hilfe einer Walzenapparatur und eines Messingspatels in die vorgewärmte Probenform (siehe Abbildung 3.2, Teilbild B) überführt, die Oberfläche mit einem Objektträger geglättet, die befüllte Probenform in die Klimakammer eingebracht und die Markierung im Boden der Kammer mit einer Markierung auf der Probenform in Übereinstimmung gebracht. Die Probenform war vor jeder Befüllung unter fließend heißem Wasser vorzuwärmen (max. 1 min). Die

Zeitspanne zwischen Beginn des Anmischens und Einspannens der Probenform in die Apparatur darf hierbei nicht größer als eine Minute sein, um ein vorzeitiges Verdunsten der Lösung und dadurch ein verfrühtes oberflächliches Abbinden der Zementpaste außerhalb der Klimakammer zu vermeiden. Die Ermittlung der initialen Abbindezeiten wurde für die in Kapitel 3.2.3 bzw. 3.2.4 synthetisierten Calciumphosphat-Zemente ausgeführt.

Unter Einsatz des Abbindeverzögerers Na_3Zitrat wurden aufgrund der niedrigen Viskosität der entstehenden Zementpasten statt Latex-Fingerlingen MaxiCap Mischkapseln der Fa. 3M Espe AG, Seefeld, sowie das Einmischgerät Silamat[®] S5 der Fa. Ivocal Vivadent, Ellwangen, verwendet. Anschließend wurden die Zementpasten mit Hilfe eines Applikators in die in der Klimakammer vorgewärmte Probenform überführt, die Oberfläche mit einem Objektträger geglättet und die befüllte Probenform in die Klimakammer eingebracht.

Messung der initialen Abbindezeit

Die Messung der Abbindezeit erfolgte gemäß des Gilmore-Nadeltests durch Absenkung einer Nadel der Größe G1 (Gewicht 113,398 g, Durchmesser 2,117 mm) auf die Oberfläche der Probe in definierten Zeitabständen. Über die externe Drehung der Form um 60° wurden pro angemischtem Zementpulver sechs Messungen vorgenommen. Ein Zement galt als abgebunden, sobald die Nadel keinen Abdruck mehr auf der Oberfläche hinterließ. Jeder Probenkörper wurde mit Hilfe eines Auflichtmikroskops bei zehnfacher Vergrößerung nachbeurteilt.

Für die Herstellung der 2,5 wt% Na_2HPO_4 -Lösung wurden 25,0 g (180 mM) Dinatriumhydrogenphosphat in dest. Wasser aufgelöst und auf 1000 ml aufgefüllt. Die reinen Na_3Zitrat -Lösungen erforderten 29,4 g (100 mM), 58,8 g (200 mM) bzw. 147 g (500 mM) tri-Natriumzitat Dihydrat ad 1000 ml ionenfreies Wasser. Die gemischte flüssige Phase wurde aus 6,25 g (44,0 mM) Dinatriumhydrogenphosphat und 36,8 g (125 mM) tri-Natriumzitat Dihydrat (ad 250 ml) hergestellt.

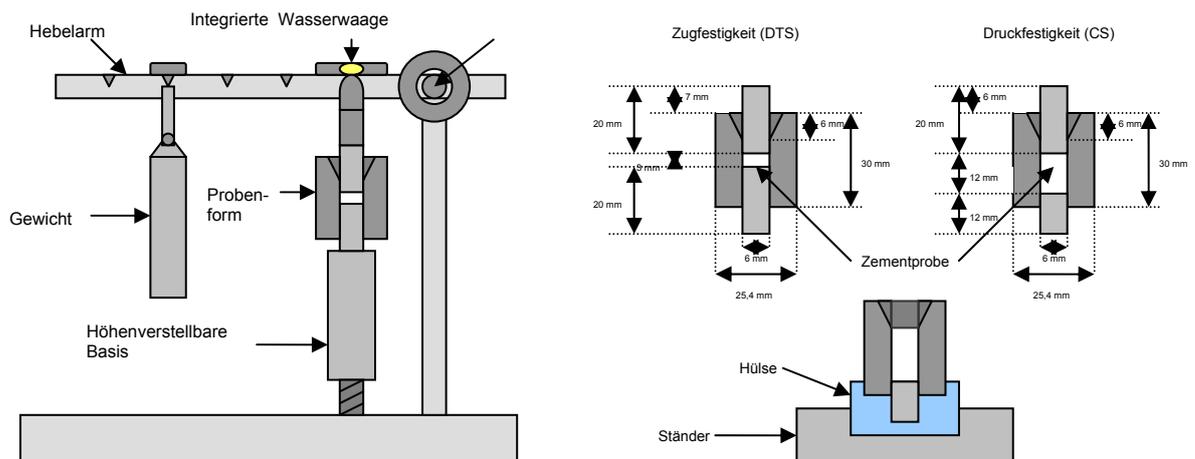
3.4 Mechanische Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen

Die Prüfung der mechanischen Stabilität von CPC wurde unter Labor- und praxisnahen Bedingungen durchgeführt. Um die Abhängigkeit der mechanischen Belastbarkeit von der Verdichtung der Probenkörper zu untersuchen, wurden diese während des Aushärtungsprozesses einer dauerhaften Belastung ausgesetzt oder ohne vorherige Kompression hergestellt. Die P/L-Verhältnisse variierten hierbei zwischen 2/1 und 5/1. Als flüssige Phasen wurden Aqua ad injectabilia, eine 2,5 wt%

Na₂HPO₄-Lösung und Lösungen aus 2,5 wt% Na₂HPO₄ / 500 mM Na₃zitrat, 500 mM Na₃zitrat und 500 mM Zitronensäure eingesetzt (Herstellung der Lösungen siehe Kapitel 3.5.1 und 3.7).

3.4.1 Mechanische Stabilität mit Vorverdichtung der Zementpaste

Das Anmischen des Zements erfolgte analog der Probenpräparation zur Ermittlung der Abbindezeit in Latex-Fingerlingen oder in MaxiCap Mischkapseln (siehe Kapitel 3.3.5). Die flüssigen Phasen waren variabel, ebenso wie das P/L-Verhältnis. Die entstandene Zementpaste wurde mit Hilfe einer Walzen-Apparatur und eines Messingspatels in einen Edelstahlzylinder mit Bohrung ($6,000 \pm 0,013$ mm) überführt, dessen Boden mit einem passenden Metallstempel verschlossen war. Nach Aufbringen eines zweiten Metallstempels auf das obere Ende des Metallzylinders wurde der Zylinder analog der Durchführung in eine zweite Apparatur (siehe Abbildung 3.3) ^[128] eingespannt, 5 s einer Vorlast von 9 MPa oder 50 MPa ausgesetzt und anschließend dauerhaft mit einer Kraft von 2,7 MPa belastet. Nach der Lagerung der Apparatur bei 90 - 100% Luftfeuchtigkeit (Wasserbad, Typ GFL, Fa. Hartenstein, Würzburg), Entnahme und Überschichtung der Probenkörper in Probengläsern mit gesättigter HAC-Lösung wurden die Probenkörper nochmals 22 h den Bedingungen der Feuchtigkeitskammer ausgesetzt. Anschließend wurden die Probenkörper an einer statischen Universal-Prüfmaschine mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 1 mm / min bis zum Bruch belastet. Registriert wurde die maximale beim Bruch auftretende Kraft. Die zur Überschichtung der Probenkörper benötigte gesättigte HAC-Lösung wurde aus mit Aqua ad injectabilia ausgehärteten Probenkörpern und dest. Wasser als Lösungsmittel hergestellt. Gegenstand der Prüfung waren die unter Punkt 3.2.3 und 3.2.4 synthetisierten Calciumphosphat-Zemente.



A)

B)

Abbildung 3.3: A) Hebelapparatur zur Verdichtung der Zementpaste und B) verwendete Probenformen ^[129]

Druckfestigkeit (CS)

In sechs Plastikfingerlinge oder MaxiCap Mischkapseln wurden je 800 mg Zementpulver eingewogen und mit variablen Anteilen Flüssigkeit angemischt. Die Länge der verwendeten Metallstempel betrug 16 mm. Die Druckfestigkeit wurde berechnet nach:

$$CS = \frac{F}{(r^2 \cdot \pi)} \quad (3.5)$$

F = Einwirkende Kraft [N]; r = Radius des Probenkörpers [mm]

Diametrale Zugfestigkeit (DTS)

In sechs Plastikfingerlinge oder MaxiCap Mischkapseln wurden je 200 mg Zementpulver eingewogen und mit variablen Anteilen Flüssigkeit vermischt. Für die Herstellung jedes Probenkörpers wurden zwei Metallstempel unterschiedlicher Länge (16 mm und 25 mm) eingesetzt; der Boden der hohlen Metallzylinder wurde mit einem 25 mm Stempel verschlossen. Die diametrale Zugfestigkeit errechnete sich nach:

$$DTS = \frac{F}{(r \cdot d \cdot \pi)} \quad (3.6)$$

F = Einwirkende Kraft [N], r = Radius des Probenkörpers [mm], d = Dicke des Probenkörpers [mm]

3.4.2 Mechanische Eigenschaften ohne Vorverdichtung der Zementpaste

Die Prüfkörper wurden in Silikonformen mit quaderartigen Vertiefungen in der Größe 12 mm x 6 mm x 6 mm (Länge x Breite x Höhe) angefertigt. Aufgrund hoher Raumtemperaturen und niedriger Luftfeuchtigkeit wurden sowohl die zu untersuchenden Zementproben als auch Lösungen und Gebrauchsgegenstände bei 6 °C vorgekühlt, um eine Reaktionsverzögerung zu erreichen und ein vorzeitiges Austrocknen der Zementpaste durch Verdunstung der flüssigen Phase zu verhindern. Die Anmischung und Überführung der Zementpulver in die Probenformen erfolgte daher ebenfalls bei 6 °C.

Hierfür wurden auf einer Glasplatte 10,0 g Zementpulver bei variablen P/L-Verhältnissen zu Pasten verarbeitet. Als flüssige Phasen standen eine 2,5 wt% Na₂HPO₄-Lösung sowie eine Lösung aus 2,5 wt% Na₂HPO₄ / 500 mM Na₃zitrat zur Verfügung. Nach Überführung der Zementpasten in die Silikonformen wurden die Oberflächen mit einem Objektträger geglättet und abgedeckt, um das jeweilige P/L-Verhältnis bis zur oberflächlichen Aushärtung der Probenkörper in einer Feuchtigkeitskammer bei 37 °C und einer Luftfeuchtigkeit > 90 % konstant zu halten. Nach 2 h wurden die Prüfkörper den Silikonformen entnommen, in Probengläsern mit gesättigter HAC-Lösung überschichtet und für weitere 22 h bis 166 h den Bedingungen der Feuchtigkeitskammer ausgesetzt. Die Prüfung der mechanischen Stabilität erfolgte analog Kapitel 3.4.1 an einer statischen Universalprüfmaschine. Untersucht wurden die mechanischen Eigenschaften von Zementen auf Basis von α -TCP mit verschiedenen Mengen an Füllstoffen.

3.5 Rheologie und Injizierbarkeit von Calciumphosphat-Zementen

Um die Abhängigkeit der mechanischen Stabilität von dem Fließverhalten zu analysieren, musste für jedes darauf zu prüfende Zementpulver das maximale P/L-Verhältnis ermittelt werden, bei dem noch eine mit einem Spatel verarbeitbare Paste erhalten werden konnte. In diesem Zusammenhang wurden die Calciumphosphat-Zemente auf der Basis von α -TCP (siehe Kapitel 3.2.3 und 3.2.4) für eine Untersuchung heran gezogen. Als flüssige Phasen standen eine 2,5 wt% Na₂HPO₄-Lösung sowie eine Lösung aus 2,5 wt% Na₂HPO₄ / 500 mM Na₃zitrat zur Verfügung. Auf einer Glasplatte wurde 1,00 g Zementpulver bei unterschiedlichen P/L-Verhältnissen mit Flüssigkeit vermischt. Ein Zement galt bei gegebenem P/L-Verhältnis als nicht verarbeitbar, sobald er keine Plastizität aufwies. Protokolliert wurde das P/L-Verhältnis, bei dem die Verarbeitbarkeit gerade noch gewährleistet war (P/L_{max}).

Zur Bestimmung der Injizierbarkeit der Zementpasten wurden 10,0 g Zementpulver mit einer Lösung aus 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitrat oder einer 500 mM Zitronensäure-Lösung bei variablen P/L-Verhältnissen auf einer Glasplatte angemischt. Die entstandene Paste wurde in eine sterile Einmalspritze mit einer Einmalinjektionskanüle überführt und anschließend an einer Universalprüfmaschine bei einer Geschwindigkeit von 20 bzw. 50 mm/min aus der Spritze extrudiert (siehe Abbildung 3.4).

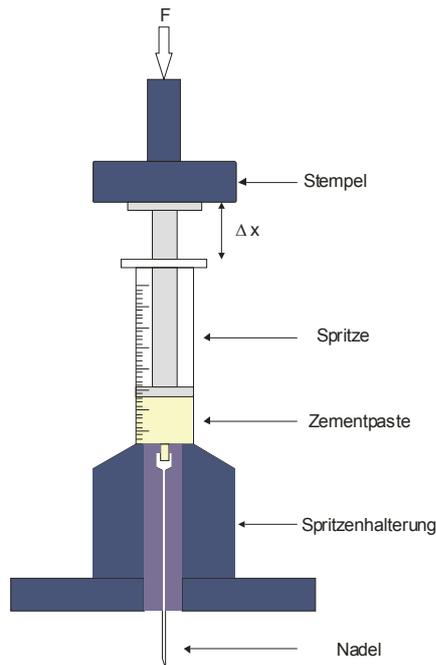


Abbildung 3.4: Experimenteller Aufbau zur Bestimmung Injizierbarkeit von CPC Pasten mit Hilfe handelsüblicher LuerLock Spritzen

Die dafür maximal aufzuwendende Kraft wurde auf 300 N begrenzt. Diese entsprach der maximalen, manuell erreichbaren Kraft bei der Versuchsanordnung.

Die Injizierbarkeit eines Zements errechnete sich nach:

$$I (\%) = \frac{\text{Masse der ausgetretenen Zementpaste [g]} \times 100}{\text{Gesamtmasse der Zementpaste [g]}} \quad (3.5)$$

Zur Ermittlung der benötigten Massen wurde für jede Prüfung das Gewicht der leeren Spritze sowie das der befüllten Spritze vor und nach der Prüfung bestimmt.

4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Therapie von Knochendefekten – z.B. bedingt durch Tumore, Unfälle oder entzündliche Prozesse – schließt den Gebrauch verschiedener Substitute ein. Auf dem Gebiet der craniofacialen und maxillofacialen Operationen ist der Einsatz von Biogläsern ^[130,131] oder resorbierbaren Polymeren ^[132] ebenso üblich wie der Gebrauch von selbst-abbindenden Calciumphosphat-Zementen (CPC) ^[133,134,135]. Selbstabbindende Calciumphosphat-Zemente eröffnen mit ihrer knochenähnlichen Zusammensetzung nach Aushärtung, ihrer Biokompatibilität, Plastizität und Biodegradierbarkeit eine einzigartige Möglichkeit, Knochendefekte direkt am Ort zu therapieren. Die klinischen Anforderungen für solche Substitute sind hoch und die Herstellung der Calciumphosphat-Zemente mit konstanten Materialeigenschaften ist eine Herausforderung. Denn die Werkstoffeigenschaften abgebundener CPC sind von vielerlei Faktoren abhängig, etwa der Art des eingesetzten Calciumphosphats und seines Herstellungsprozesses, der Aufbereitung, der Partikelgrößen und ihrer Verteilung, den Partikellöslichkeiten, den Ladungsverhältnissen an der Partikeloberfläche und letztendlich auch von der Aufbewahrung des pulverigen Produktes vor seinem Einsatz am Anwendungsort. Eine gezielte Einstellung der jeweils benötigten Materialanforderungen je nach Art des Knochendefektes ist daher wünschenswert.

Calciumphosphat-Zemente bestehen häufig aus einer Mischung von Calciumorthophosphaten – in einer wässrigen Umgebung härten sie unter Bildung von mikroporösem (nicht keramischem) Hydroxylapatit (HA) niedriger Kristallinität aus. Die Zementformulierungen basieren z.B. auf Pulvermischungen von α -/ β -Tricalciumphosphat (TCP) und Calciumcarbonat (CC) oder Monocalciumphosphat Monohydrat (MCPM) ^[136,137,138]. Aber auch Tetracalciumphosphat (TTCP) kombiniert mit MCPM ^[65,139], Dicalciumphosphatanhydrid (DCPA) ^[37] oder Dicalciumphosphatdihydrat (DCPD) ^[140] sind bekannte Mischungen. Zemente auf Basis von TTCP und DCPA wurden von verschiedenen Autoren hinsichtlich ihrer Abbindereaktion und mechanischen Eigenschaften hin untersucht. Die bekannten Druckfestigkeiten bewegen sich im Bereich von 12 – 66 MPa, die diametrale Zugfestigkeit variiert zwischen 6 – 15 MPa ^[43,44,135,141,142,128] in Abhängigkeit der Partikelgrößenverteilung der Pulver ^[43], der flüssigen Phase ^[44], des P/L-Verhältnisses und der angewandten Kompression der Prüfkörper während des Aushärtungsprozesses ^[142]. In den folgenden Kapiteln werden HA-bildende Calciumphosphat-Zemente aus einer Kombination von TTCP mit DCPA und aus α -TCP vorgestellt, die durch ihre Zusammensetzung zur Verbesserung materialspezifischer Eigenschaften beitragen sollen. Im Besonderen lag das

Augenmerk auf der Erhaltung der mechanischen Belastbarkeit bei gesteigerter Injizierbarkeit der jeweiligen Knochenersatzwerkstoffe. Die Charakterisierung von Edukten und Produkten der Zement-Abbindereaktionen erfolgte mittels gängiger Untersuchungsmethoden (siehe Kapitel 3).

4.1 Dotierung von Calciumphosphat-Zementen mit Metalloxiden

Seit der Einführung von CPC als biokompatible Implantatmaterialien wird eine Verbesserung der Materialeigenschaften durch Modifikation von fester und flüssiger Zementphase zur Erweiterung des Anwendungsspektrums angestrebt. Die chemische Zusammensetzung der CPC-Formulierungen orientiert sich dabei u.a. an Bestandteilen des natürlichen Knochenmaterials, Dentins und Zahnschmelzes, etwa Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , F^- , Cl^- , CO_3^{2-} , aber auch $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ oder SiO_4^{4-} [143, 144]. In Anlehnung an oxidische Biokeramiken, wie Yttrium-stabilisierte Zirkonoxid-Keramiken [149], Glaskeramiken, Biogläser [152] und Gelenksendoprothesen auf Titan-Basis [131], die aufgrund ihrer Eigenschaften als Langzeitimplantate genutzt werden, werden in diesem Kapitel modifizierte Calciumphosphat-Zemente auf TTCP/DCPA-Basis vorgestellt. Die Modifikation bestand in der Addition von biokompatiblen Silicium(IV)-, Titan(IV)- oder Zirkonium(IV)oxid innerhalb des Syntheseprozesses von Tetracalciumphosphat. Die Arbeitshypothese war, daß es durch Verwendung dieser metalloxiddotierten Tetracalciumphosphate (m-TTCP) bei daraus hergestellten m-TTCP/DCPA-Zementmischungen zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften nach dem Abbinden aufgrund einer langsamer fortschreitenden Abbindereaktion kommt.

Die metalloxiddotierten TTCP wurden mittels Röntgendiffraktometrie (XRD), Rasterelektronenmikroskopie (REM), Partikelgrößen- und Löslichkeitsmessungen (Potentiometrie) charakterisiert. Bei den hergestellten m-TTCP/DCPA-Zementmischungen wurde der Einfluss der zugesetzten Metalloxide auf die Basiseigenschaften der Zemente untersucht. Dazu gehören die Abbindezeit, mechanische Festigkeit, pH-Wert und die chemische Zusammensetzung der Formkörper nach Aushärtung.

4.1.1 Metalloxiddotierte Tetracalciumphosphate

Phasenreines Tetracalciumphosphat, TTCP, wurde durch die Festkörperreaktion einer Mischung aus Calciumcarbonat, CC, und Calciumhydrogenphosphat, DCPA, bei 1500°C und anschließendem Abschrecken des Sinterguts erhalten (siehe Kapitel 3.2.2). Die Modifikation der chemischen Zusammensetzung des Tetracalciumphosphats erfolgte durch den Zusatz von Metalloxiden innerhalb des Herstellungsprozesses. Die biokompatiblen Metalloxide SiO₂, TiO₂ und ZrO₂ wurden hierbei ohne weitere Aufbereitung eingesetzt, ihre mittleren Partikelgrößen betragen nach Bestimmung mittels Laserstreuung 0,007 µm (SiO₂), 0,59 µm (TiO₂) und 0,28 µm (ZrO₂). Die Beimengungen der Metalloxide entsprachen 5 – 20 mol%, bezogen auf den jeweiligen theoretisch zu ersetzenden CaCO₃-Anteil (Ladungsanteil) der Grundmischung. Der anschließende Sintervorgang wurde bei einer Haltetemperatur von 1400 °C bzw. 1500 °C ausgeführt (siehe Kapitel 3.2.2). Ursprünglich war für alle Additive eine Haltetemperatur von 1500 °C vorgesehen. Unter Zugabe von TiO₂ musste diese aber auf 1400 °C gesenkt werden, da sonst bei dem resultierenden Sinterkuchen ein Volumenverlust von nahezu 50 % im Vergleich zu der eingesetzten Pulvermenge auftrat. Die höhere Haltetemperatur von 1500 °C führte unabhängig von der Höhe der Beimengung von TiO₂ zu einer so starken Verdichtung und makroskopischen Härtung des Sinterguts, dass die Verarbeitbarkeit des Sinterguts nicht mehr gegeben war. Die manuelle Aufarbeitung mit Mörser und Pistill war in diesen Fällen nicht mehr möglich.

Die Volumina der resultierenden Produkte (m-TTCP) nahmen nach oben genannter Anpassung der Haltetemperatur in Abhängigkeit der zugesetzten Metalloxide in der Reihenfolge ZrO₂ > TiO₂ > SiO₂ ab. Die Bestimmung der Volumina erfolgte hierbei rein optisch. Als Vergleiche dienten die Füllhöhen der Sinterbecher vor und nach dem Sinterprozess sowie die Füllstände bei der Herstellung von reinem TTCP. Das Sintergut zeigte, je nach zugesetztem Metalloxid, unterschiedliche Materialeigenschaften. Die Beimengung von Titan(IV)oxid führte trotz der Anpassung der Haltetemperatur generell zu einer makroskopischen Härtung des Sinterguts, welches die Handhabung und Verarbeitung des Materials erschwerte. Die Zugabe von Silicium(IV)- und Zirkonium(IV)oxid führte dagegen zu porösen Materialien niedriger Dichte mit Verarbeitungseigenschaften ähnlich denen von reinem TTCP. Im Allgemeinen stieg der Härtegrad der m-TTCP mit der prozentualen Erhöhung des Zuschlages, unabhängig vom Metalloxid. Alle m-TTCP wiesen eine rein weiße Farbe auf, mit Ausnahme der mit TiO₂ versetzten Mischungen (beige bis bräunlich).

Der Zusatz von TiO_2 bzw. ZrO_2 führte neben TTCP zu der Bildung einer zweiten kristallinen Phase von Calciumtitanat, CaTiO_3 , bzw. Calciumzirkonat, CaZrO_3 . Röntgendiffraktometrisch waren diese Calciummetallate über ihre (Haupt-)Signale bei 2-Theta $33,0^\circ$ (CaTiO_3) bzw. $22,2^\circ$ und $31,6^\circ$ (CaZrO_3) nachweisbar (siehe Abbildung 4.1).

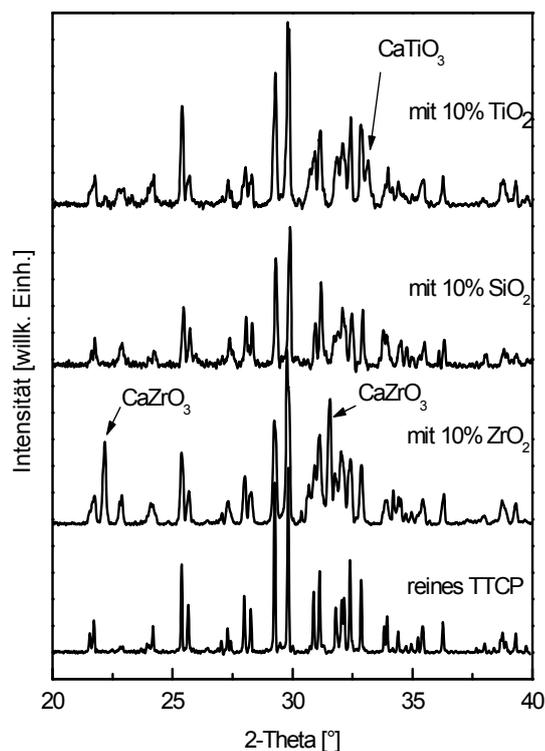


Abbildung 4.1: Röntgendiffraktogramme von m-TTCP mit 10 mol% MO_2 im Vergleich mit phasenreinem TTCP, M = Si, Ti, Zr.

Im Fall des zugesetzten SiO_2 konnte kein entsprechendes Calciumsilikat nachgewiesen werden. Für die Analyse wurde das röntgendiffraktometrische Beugungsmuster bis zu einem Aufnahmewinkel von 2-Theta 70° herangezogen. Die Beugungsreflexe zeigten im Vergleich mit denen des phasenreinen TTCP und eines kommerziellen Calciumsilikats, CaSiO_3 , auch unter Berücksichtigung der zur Verfügung stehenden Referenzspektren, keinerlei Hinweise auf die Entstehung einer Calciumsilikatphase (siehe Abbildung 4.2). Auch andere Phasen konnten in den mit verschiedenen Metalloxiden versetzten Proben mit den zur Verfügung stehenden Vergleichsdiffraktogrammen nicht detektiert werden.

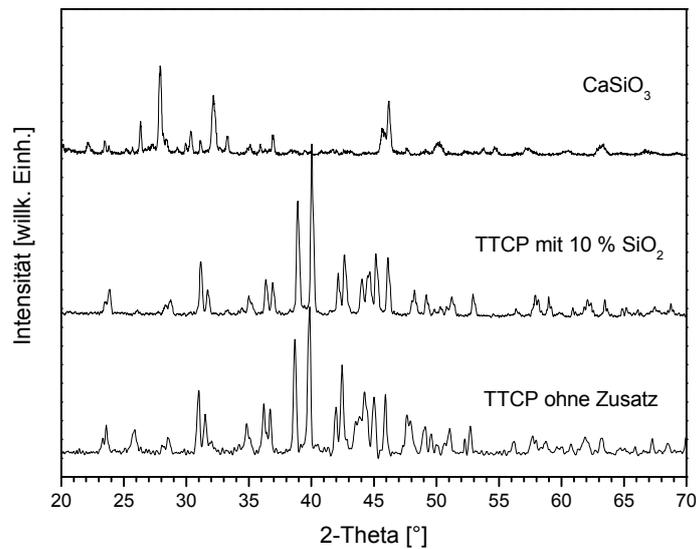


Abbildung 4.2: Röntgendiffraktogramme von m-TTCP mit 10 mol% SiO_2 im Vergleich mit phasenreinem TTCP und kommerziell erhältlichem CaSiO_3

Eine Netzebenenauflösung des TTCP – und somit eine Einlagerung von Metallionen in das TTCP-Kristallgitter – fand offenbar nicht statt, da in allen Fällen keine Verschiebung der Beugungsreflexe beobachtet werden konnte (Beispiel siehe Abbildung 4.1). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Bruchflächen von m-TTCP wiesen ein Partikelwachstum ähnlich dem Sintergut aus DCPA/CC-Mischungen auf. Bei Zusatz von Titan(IV)- und Zirkon(IV)oxid war jedoch ein zusätzliches, abgegrenztes Partikelwachstum zu beobachten (siehe Abbildung 4.3, Teilbilder C und D). Die Überprüfung der Proben mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie, EDX, ergab, dass diese abgegrenzten Partikel offenbar nur die Elemente Calcium und Phosphor enthielten. Die Kombination der Rasterelektronenmikroskopie mit der Elementanalyse ergab eine relativ gleichmäßige Verteilung der Metallatome innerhalb der Sinterkuchenproben, unabhängig von dem eingesetzten Metalloxid.

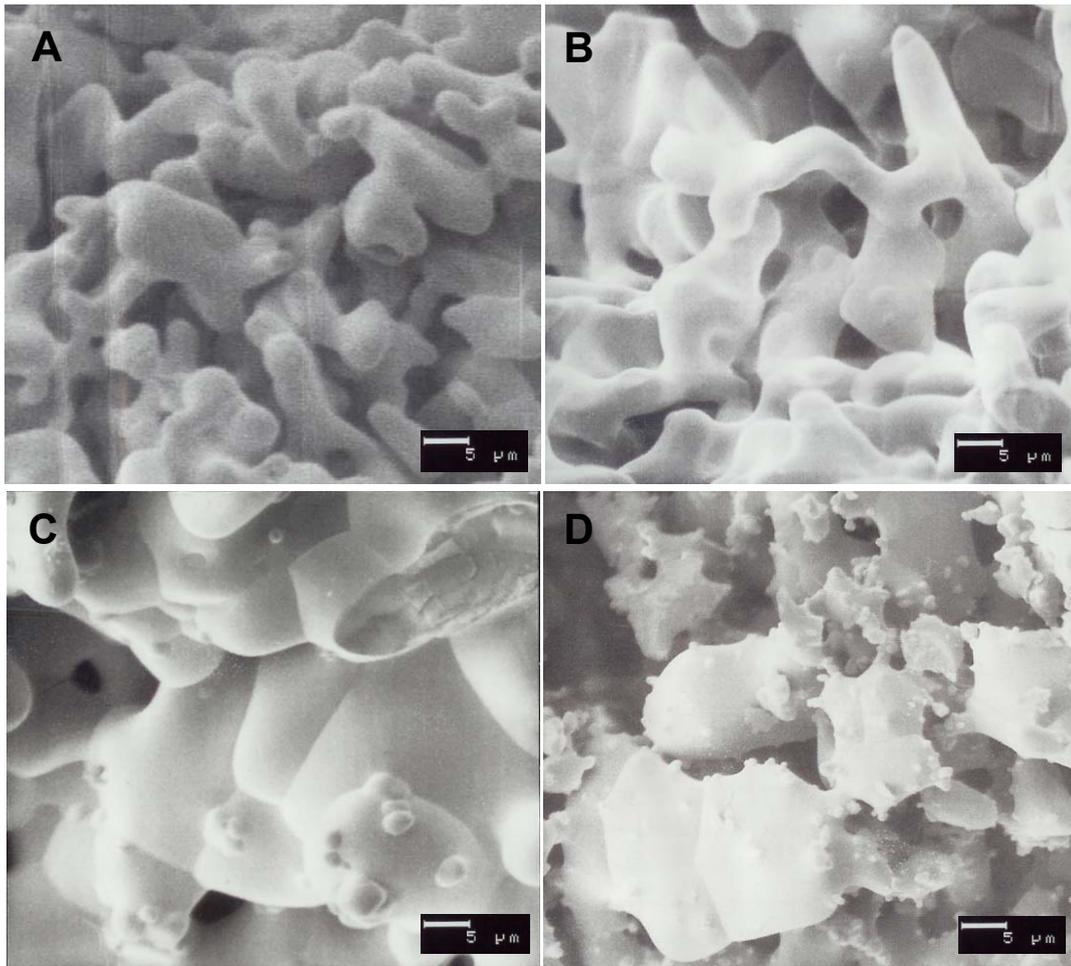


Abbildung 4.3: REM-Aufnahmen der Bruchflächen von A) phasenreinem TTCP im Vergleich mit m-TTCP mit B) 10 mol% SiO₂-Zusatz, C) 10 mol% TiO₂-Zusatz, D) 10 mol% ZrO₂-Zusatz

Gemahlene m-TTCP zeigten nur leichte Abweichungen von der durchschnittlichen Partikelgrößenverteilung des gemahlene reines TTCP. Der Feinkornanteil erhöhte sich dagegen bei den gemahlene m-TTCP. Tabelle 4.1 fasst die Ergebnisse der Partikelgrößenanalysen gemahlener m-TTCP im Vergleich zu gemahlenem, reinen TTCP zusammen. Als ideale Mahlparameter hatte sich für Tetracalciumphosphate eine Mahldauer von 20 min bei 200 U/min erwiesen. Eine höhere Mahldauer führte zu starken Agglomerationen an Mahlkugeln und den Innenwänden der Becher, die sich sehr schlecht entfernen ließen. Die maximalen Partikelgrößen der hier untersuchten, gemahlene Tetracalciumphosphate lagen in einem für spätere Abbindereaktionen nahezu idealen Bereich von ca. 10 – 12 µm. Deutliche Unterschiede waren eher im Feinkornbereich zu sehen, der zwischen 4,7 % und 17,5 % schwankte.

Tabelle 4.1: Partikelgrößen von Tetracalciumphosphaten, Mahlparameter: 20 min bei 200 U/min

MO ₂	MO ₂ [mol%]	d ₅₀ [µm]	Mittelwert [µm]	Maximum [µm]	Feinkornanteil [%]
--	--	10,08	10,39 ± 5,16	10,79	7,3
SiO ₂	5	9,43	9,76 ± 4,65	9,50	4,7
SiO ₂	10	8,95	9,30 ± 4,89	9,47	5,5
SiO ₂	20	8,44	8,74 ± 5,40	9,48	9,3
TiO ₂	5	9,20	9,31 ± 5,72	10,82	12,9
TiO ₂	10	8,70	8,92 ± 5,95	10,80	14,9
TiO ₂	20	8,51	8,67 ± 6,06	10,79	17,5
ZrO ₂	5	11,07	11,72 ± 6,63	12,36	7,7
ZrO ₂	10	10,21	10,61 ± 5,91	10,84	9,0
ZrO ₂	20	9,26	9,46 ± 5,63	10,77	12,5

Die Löslichkeit der Verbindungen ist ein wichtiger Faktor hinsichtlich der Abbindereaktion daraus hergestellter CPC. Die Löslichkeit wird im Allgemeinen nicht nur durch die jeweiligen Umgebungsbedingungen (z.B. pH-Wert, Temperatur) bestimmt, sondern auch durch die Größe der Partikeloberflächen und ihrer chemischen Zusammensetzung. Eine Änderung der chemischen Zusammensetzung von Tetracalciumphosphat, hier durch die Zugabe von Additiven während des Sinterprozesses, könnte Auswirkungen auf die Löslichkeit der TTCP-Partikel und somit auch auf das spätere Abbindeverhalten daraus hergestellter CPC haben. Daher wurde die Calciumionen-Freisetzung der gemahlene m-TTCP in Lösung bei einer Temperatur von 37 °C in einer gegebenen Zeiteinheit gemessen und in Relation zu reinem, gemahlenem TTCP gesetzt (siehe Kapitel 3.3.3). Die Bestimmung der Ca²⁺-Konzentration in Lösung erfolgte mit einer ionenselektiven Elektrode über eine vorher erstellte Eichgerade mit der dazu gehörigen Geradengleichung $y = 29,768 x + 135,71$ ^[145]. Die Löslichkeiten von m-TTCP im Vergleich zu reinem TTCP bei einer Temperatur von 37 °C werden in Abbildung 4.4, Teilbild A, am Beispiel von 10 mol% Zuschlag dargestellt. Im Gegensatz zu reinem TTCP setzte der Zusatz von Silicium(IV)- und Titan(IV)oxid die kinetische Löslichkeit der m-TTCP deutlich herab, unabhängig von der Höhe des Zuschlages. Der Zuschlag ZrO₂ hatte nahezu keine Auswirkungen auf die kinetische Löslichkeit.

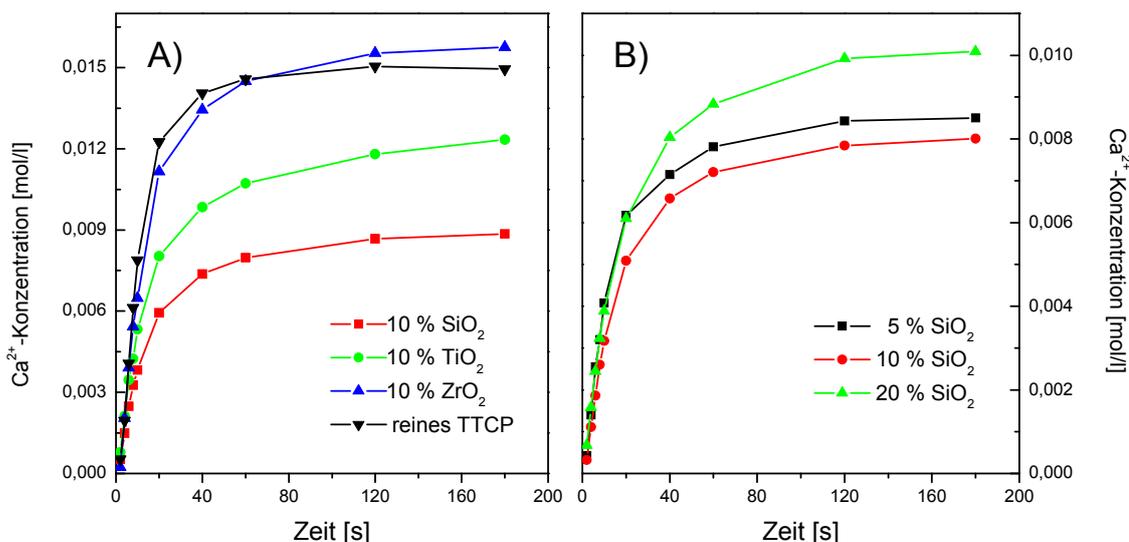


Abbildung 4.4: A) Löslichkeit von m-TTCP mit 10 mol% MO₂ im Vergleich mit reinem TTCP, T = 37 °C; B) Löslichkeit von m-TTCP mit unterschiedlichen Anteilen SiO₂, T = 37 °C

Die Annahme, dass sich mit der Steigerung des Anteils an MO₂ die Löslichkeit kontinuierlich weiter erniedrigt, konnte allerdings nicht bestätigt werden. Dahingehend waren auch nach wiederholten Messreihen keine regelmäßigen Abhängigkeiten zu erkennen (als Beispiel siehe Abbildung 4.4, Teilbild B). Die geringere Lösungsrate der m-TTCP mit der Additiven SiO₂ und TiO₂ bei simulierter Körpertemperatur aber könnte schon jetzt auf eine verlangsamte Abbinde- und dementsprechend veränderte Materialeigenschaften von daraus hergestellten CPC deuten. Welche Auswirkungen die hier festgestellte veränderte Löslichkeit tatsächlich hat, muss in den nachfolgenden Unterkapiteln erörtert werden.

4.1.2 Metalloxiddotierte Calciumphosphat-Zemente

Die in Kapitel 4.1.1 beschriebenen, auf mittlere Partikelgrößen von 10 – 12 µm gemahlene, Tetracalciumphosphate wurden zusammen mit in Ethanol gemahlene DCPA in einem molaren Verhältnis von 1:1,05 trocken 20 min bzw. 30 min vermischt (siehe Kapitel 3.2.4). Um eine initiale Abbindezeit der synthetisierten Calciumphosphat-Zemente von 4 – 5 min mit Wasser als flüssige Phase zu erreichen, wurde bei der Herstellung zusätzlich 0,50 g Na₂HPO₄ als Abbindebeschleuniger zugegeben. Da die Zementpulver im Fall der längeren Mischdauer stark agglomerierten und die Pulver kaum von den Mahlkugeln und den Wänden der Mahlbecher zu entfernen waren, beschränkten sich weitere Synthesen von CPC auf eine Mischdauer von 20 min.

Tabelle 4.2 fasst zunächst die mechanischen Eigenschaften daraus synthetisierter Zemente im Vergleich zu einem reinen TTCP/DCPA-Zement zusammen. In Gegenwart von Wasser (Aqua ad injectabilia) als flüssiger Phase erreichte der reine TTCP/DCPA-Zement nach einer Reaktionszeit von 24 h unter einer Vorverdichtung von 2,7 MPa Druckfestigkeiten (CS) von 67 MPa bzw. ca. 69 MPa in Abhängigkeit des Anmischungsverhältnisses. Die ermittelten diametralen Zugfestigkeiten (DTS) unterschieden sich mit 6,8 MPa und 5,5 MPa ebenfalls wenig.

Tabelle 4.2: Mechanische Eigenschaften von CPC unter Verwendung von m-TTCP im Vergleich zu CPC aus reinem TTCP, L = Aqua ad injectabilia, Vorverdichtung 2,7 MPa

MO ₂	MO ₂ [mol %]	P/L = 3,3/1		P/L = 4/1	
		CS [MPa]	DTS [MPa]	CS [MPa]	DTS [MPa]
--	--	67,0 ± 12,5	6,8 ± 1,6	69,5 ± 7,6	5,5 ± 2,7
SiO ₂	5	90,9 ± 10,9	9,1 ± 1,7	89,4 ± 9,1	9,5 ± 2,2
	10	94,3 ± 8,5	8,8 ± 1,6	102,7 ± 7,1	9,2 ± 3,6
	20	109,8 ± 11,3	9,0 ± 2,4	104,5 ± 19,5	9,1 ± 1,0
TiO ₂	5	98 ± 9,7	8,3 ± 1,2	95,3 ± 9,2	6,5 ± 1,8
	10	104 ± 25,6	8,7 ± 1,5	104,8 ± 10,4	8,0 ± 1,9
	20	111,7 ± 8,1	8,9 ± 1,3	107 ± 6,4	8,7 ± 2,4
ZrO ₂	5	85,5 ± 11,3	9,0 ± 2,4	78,1 ± 11,8	9,1 ± 1,0
	10	90,4 ± 9,5	10,8 ± 1,1	89,9 ± 7,4	12,0 ± 1,3
	20	90,5 ± 12,6	9,8 ± 2,5	97,2 ± 15,8	10,9 ± 2,1

Die Verwendung der Additive Silicium(IV)- oder Titan(VI)oxid mündete in einem signifikanten Anstieg der Druckfestigkeiten auf Werte von ca. 91 bis 112 MPa, je nach Höhe des Zuschlages und dem angewandten P/L-Verhältnis. Im Fall des zugesetzten Zirkonium(IV)oxids konnten zwar auch Veränderungen im Vergleich mit reinem TTCP/DCPA-Zement beobachtet werden, diese fielen aber nicht so markant aus. Die Zugfestigkeiten stiegen in Anwesenheit der Metalloxide meist auf Werte zwischen 8 und 9 MPa, einzelne Proben mit ZrO₂-Zusatz erreichten sogar Werte von ca. 11 bis 12 MPa. Im Allgemeinen verbesserten sich die mechanischen Eigenschaften mit der Dotierung in der Reihenfolge TiO₂ > SiO₂ > ZrO₂. Ein Zusammenhang mit der Höhe des Zuschlages war aber nur bei der Dotierung mit SiO₂ und TiO₂ und den zugehörigen Druckfestigkeiten deutlich erkennbar. Diese nahmen hier in der Reihenfolge 5 mol% < 10 mol% < 20 mol% zu.

Tabelle 4.3: Abbindezeiten von CPC in Anwesenheit von Metalloxiden im Vergleich zu reinem TTCP/DCPA-Zement bei variablem P/L-Verhältnis, L = Aqua ad injectabilia

MO ₂	MO ₂ [mol %]	P/L = 3,3/1	P/L = 4/1
--	--	10,5	3,5
SiO ₂	5	14	10
	10	16	14 ^[146]
	20	14	6
TiO ₂	5	20	14
	10	14	10 ^[146]
	20	18	13
ZrO ₂	5	4	2,5
	10	3	1,6
	20	3	1,6

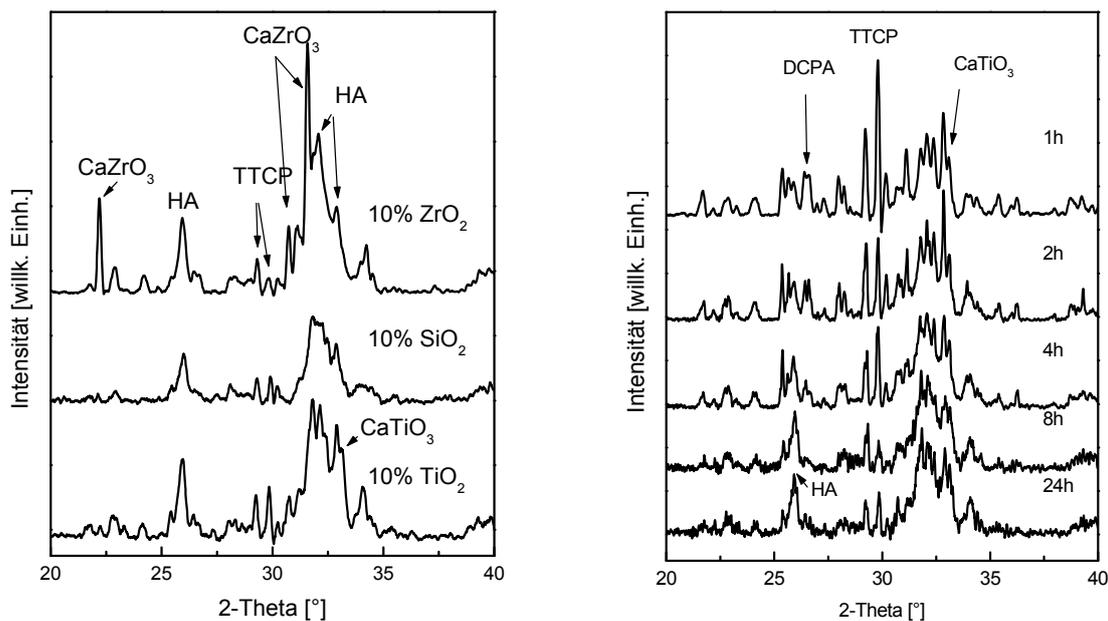
In Gegenwart von Wasser (Aqua ad injectabilia) als flüssiger Phase und bei variablem P/L-Verhältnis zeigten die aus m-TTCP hergestellten Formulierungen initiale Abbindezeiten (ST) in einem breiten Bereich von knapp 2 bis 20 min, der reine TTCP/DCPA-Zement wies dagegen eine initiale Abbindezeit von ca. 3 bis 10 min auf. Trotz der Zugabe von Na₂HPO₄ als Abbindebeschleuniger konnte die Vorgabe von 4 – 5 Min Abbindedauer häufig nicht erreicht werden. Nur bei ZrO₂ als Additiv lagen die Abbindezeiten mit 3 – 4 min in dem vorgegebenen Rahmen (Tabelle 4.3).

Die Biokompatibilität eines Knochenersatzwerkstoffes hängt mit der Reaktion des ihn umgebenden Gewebes zusammen. Nach der Anmischung wird ein Calciumphosphatzement direkt in den Defekt eingebracht. Der pH-Wert der Paste oder eines schon oberflächlich ausgehärteten Formkörpers in Lösung sollte sich dabei nicht zu stark von dem biologischen pH-Wert unterscheiden, um Gewebeschäden durch die weitere Abbindereaktion innerhalb des Körpers zu vermeiden. Die pH-Werte der Zementpasten wurden daher ebenso wie die von insgesamt 2 h oberflächlich ausgehärteten, mit HEPES-Puffer überschichteten, Probenkörpern in definierten Zeitabständen protokolliert (siehe Kapitel 3.3.2). Die pH-Werte aller Zementpasten und der Probenkörper in Pufferlösung zeigten mit 9 – 9,5 Einheiten (Paste) und 7 – 8 Einheiten (Pufferlösung) nahezu keine Unterschiede. In Tabelle 4.4 werden beispielhaft die pH-Werte von CPC mit 10 mol% Zuschlag im Vergleich zu reinem TTCP/DCPA-Zement wiedergegeben.

Tabelle 4.4: Durchschnittliche Partikelgrößen von TTCP, pH-Werte von CPC in Paste und physiologischer Pufferlösung im Vergleich mit durchschnittlichen Partikelgrößen von m-TTCP, P/L = 3,3/1, L = Aqua ad injectabilia, $[MO_2] = 10 \text{ mol}\%$

MO_2	pH (Zementpaste), t=1h	pH (Puffer), t=24h	\varnothing Partikelgröße TTCP [μm]
--	9,50	7,62	10,08
TiO_2	9,72	7,81	8,70
SiO_2	9,54	7,94	8,95
ZrO_2	9,62	7,65	10,21

Die röntgendiffraktometrische Analyse der ausgehärteten Materialien indizierte niedrig-kristallines Hydroxylapatit als Reaktionsprodukt (Abbildung 4.5, Teilbild A). Calciumtitanat und Calciumzirkonat waren offenbar nicht an der Umsetzung beteiligt, was anhand der Vergleiche der Peaks bei $33,0^\circ$ ($CaTiO_3$) und $22,2^\circ$ bzw. $31,6^\circ$ ($CaZrO_3$) verifiziert werden konnte. Daneben konnte in allen Zementen nicht abreagiertes TTCP detektiert werden.



A)

B)

Abbildung 4.5: A) Röntgendiffraktogramme von mit Metalloxiden versetzten TTCP/DCPA-Zementen nach 24 h Reaktionszeit bei 37°C ^[146], B) Röntgendiffraktogramme von m-TTCP/DCPA-Zement nach verschiedenen Reaktionszeiten; m-TTCP versetzt mit 10 mol% TiO_2

Eine zeitabhängige, röntgendiffraktometrische Analyse von Zementen mit Titan(IV)oxid-Zusatz nach unterschiedlichen Aushärtungszeiten ergab eine Abbindereaktionsdauer von 6 – 8 h (Abbildung 4.5, Teilbild B), während reine TTCP/DCPA-Zemente nach 4 – 6 h vollständig umgesetzt waren. Die verlangsamte

Abbindereaktion der mit Metalloxiden versetzten Zemente hängt mit der geringeren Lösungsrate der m-TTCP im Vergleich zu reinem TTCP zusammen. Die kinetische Löslichkeit von Tetracalciumphosphaten ist durch den Zusatz von Silicium- und Titan(IV)oxid deutlich herab gesetzt (siehe Kapitel 4.1.1, Abbildung 4.4).

Abbildung 4.6 zeigt die Morphologie ausgehärteter Zementstrukturen mit 10 mol% MO_2 -Zusatz im Syntheseprozess von TTCP. Rasterelektronische Untersuchungen indizieren für alle Zemente eine mikroporöse Hydroxylapatitstruktur mit einem Porendurchmesser im Bereich von 1 – 5 μm mit einigen eingebetteten, nicht abreagierten TTCP-Kristallen.

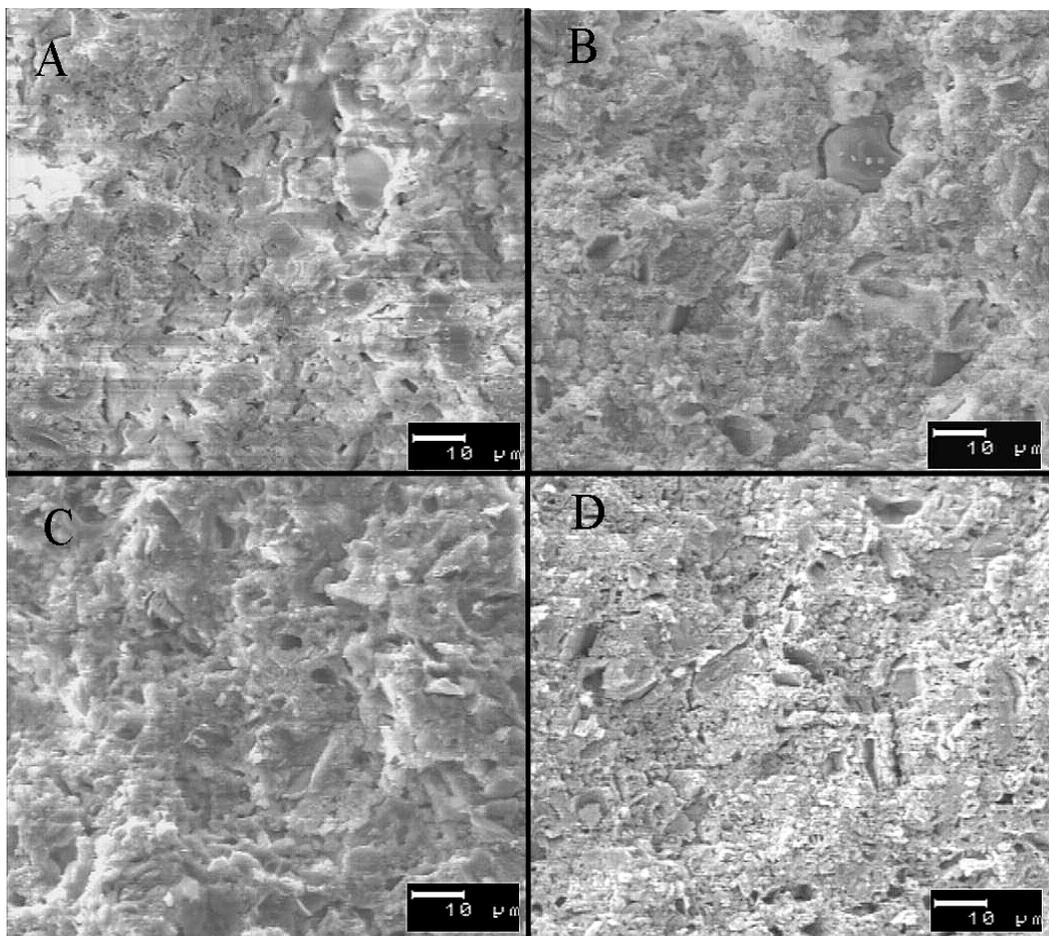


Abbildung 4.6: REM-Oberflächenbilder von mit Metalloxiden versetzten TTCP/DCPA-Zementmatrices nach 24 h Reaktionszeit bei 37 °C; A) ohne MO_2 , TTCP versetzt mit B) 10 mol% ZrO_2 , C) 10 mol% TiO_2 und D) 10 mol% SiO_2

Um den Einfluss der Metalloxide im Herstellungsprozess von TTCP weiter einordnen zu können, wurde ein reiner TTCP/DCPA-Zement mit 0,50 g Na_2HPO_4 als Abbindebeschleuniger und zusätzlich mit jeweils 10 mol% (16,5 mM) der kommerziell erhältlichen Calciummetallate CaSiO_3 , CaTiO_3 und CaZrO_3 versetzt (siehe Kapitel 3.2.4). Die mechanischen Eigenschaften dieser Zemente und ihre

Abbindezeiten bei einem Anmischungsverhältnis von 3,3/1 in Gegenwart von Aqua ad injectabilia als flüssiger Phase sind in Tabelle 4.1.5 zusammen gefasst.

Tabelle 4.5: Eigenschaften von CPC versetzt mit 10 mol% CaMO_3 (M = Si, Ti, Zr) im Vergleich mit reinem TTCP/DCEPA-Zement; P/L = 3,3/1, L = Aqua ad injectabilia; Vorverdichtung für mechanische Prüfung: 2,7 MPa

CaMO_3	CS [MPa]	DTS [MPa]	ST [min]
--	40,1 ± 7,0	5,6 ± 0,8	6,5
CaSiO_3	46,6 ± 13,1	6,0 ± 1,8	7
CaTiO_3	43,6 ± 11,0	5,1 ± 1,7	7,5
CaZrO_3	40,8 ± 9,5	6,3 ± 1,2	7,5

Auffällig waren die geringen Unterschiede in den Druck- und diametralen Zugfestigkeiten, die Additive hatten bei direktem Zusatz zur Zementmatrix keinen Einfluss auf die mechanische Belastbarkeit. Der Referenzzement und die mit Additiven versetzten Zemente wiesen nach einer Reaktionszeit von 24 h bei einer Vorverdichtung von 2,7 MPa Druckfestigkeiten von ca. 40 - 47 MPa auf. Die diametralen Zugfestigkeiten differierten mit Werten zwischen 5,1 und 6,3 MPa ebenfalls wenig. Auch die initialen Abbindezeiten der Zemente unterschieden sich im Vergleich zum Referenzzement mit 7 – 7,5 min kaum. Die Partikelgrößen der eingesetzten Calciummetallate wichen dagegen stark voneinander ab. Calciumtitanat und –zirkonat zeigten bei ihrer Analyse Werte, die mit maximalen Partikelgrößen von ca. 1,5 μm deutlich unter denen des Calciumsilikats mit ca. 7,9 μm lagen (siehe Tabelle 4.6).

Tabelle 4.6: Partikelgrößen von kommerziell erhältlichen Calciummetallaten, CaMO_3 , M = Si, Ti, Zr

CaMO_3	d_{50} [μm]	Mittelwert [μm]	Maximum [μm]
CaSiO_3	5,84	6,81 ± 5,57	7,89
CaTiO_3	0,17	0,36 ± 0,52	0,14
CaZrO_3	0,26	0,60 ± 0,78	0,16

Eine röntgendiffraktometrische Überprüfung der 24 h ausgehärteten Prüfkörper ergab bei der Zugabe der Additive in Übereinstimmung mit den Druck- und diametralen Zugfestigkeiten keine erkennbare Abweichung im Vergleich mit dem reinen TTCP/DCEPA-Zement. Als Reaktionsprodukte konnten niedrig-kristallines Hydroxylapatit, sowie die entsprechenden Calciummetallate identifiziert werden. Letztere waren offenbar nicht an der Abbindereaktion beteiligt (siehe Abbildung 4.7).

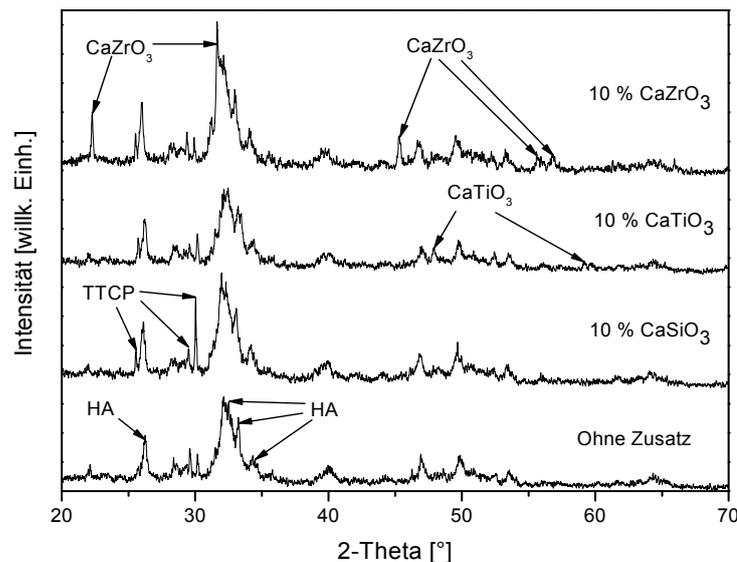


Abbildung 4.7: Röntgendiffraktogramme von mit Calciummetallaten versetzten TTCP/DCPA-Zementen nach 24 h Reaktionszeit bei 37 °C im Vergleich zu reinem TTCP/DCPA-Zement

4.1.3 Diskussion

Implantatmaterialien müssen je nach Einsatzort unterschiedliche Anforderungen erfüllen. Die wichtigste Anforderung stellt die Biokompatibilität dar, die nicht nur die Struktur-, sondern auch die Oberflächenkompatibilität beinhaltet. Die gezielte Nachahmung der Eigenschaften der Knochenstruktur, z.B. Gerüstaufbau und Festigkeit, ist der Inhalt unzähliger Forschungsarbeiten. Selbstabbindende Calciumphosphat-Zemente (CPC) kommen nach ihrer Aushärtung in vielen Materialeigenschaften den Merkmalen eines menschlichen Knochens recht nahe. Die mechanische Belastbarkeit eines CPC ist aber immer noch nicht mit der eines menschlichen Knochens, auf den richtungsabhängige Zug- und Druckkräfte wirken, vergleichbar (z.B. Druckfestigkeit kortikaler Knochen 90 – 209 MPa (DTS Knochen 60 – 160 MPa, CS 130 – 180 MPa) ^[147,148]. Die Forschungsarbeiten müssen sich also z.B. mit der Steigerung der mechanischen Belastbarkeit im Zug- und Druckbereich befassen, ohne dass andere Materialeigenschaften beeinträchtigt werden.

In diesem Kapitel der Arbeit wurde eine deutliche Erhöhung der mechanischen Festigkeit durch den Zusatz von biokompatiblen Metalloxiden in einem TTCP/DCPA-Zementsystem erreicht. Als Metalloxide wurden Silicium(IV)oxid (SiO₂), Titanium(IV)oxid (Rutil, TiO₂) und Zirkonium(IV)oxid (ZrO₂) ausgewählt. Die genannten Metalloxide haben sich bisher als Implantationsmaterial in verschiedenen Bereichen des menschlichen Körpers bewährt. So wird Ti/TiO₂ z.B. im Bereich der Hüftgelenksendoprothesen und als Material für Mittelohrimplantate eingesetzt ^{[149,}

^{131]}. ZrO₂ findet ebenfalls im Bereich der Hüftgelenksendoprothesen als Yttrium-stabilisierte „Zirkonoxid-Keramik“ seine Anwendung ^[131], aber auch im Dentalbereich z.B. als Wurzelstift-Material ^[150]. Bioaktive Gläser und Glaskeramiken, die z.B. aus SiO₂, Dinatriumoxid (Na₂O), Calciumoxid (CaO) und Phosphor(V)oxid (P₄O₁₀) bestehen, werden im Wesentlichen im Dentalbereich (Zahnstifte) oder als Bestandteil von Knochenplatten in der Gesichtschirurgie eingesetzt ^[151]. Aufgrund ihrer hohen Biokompatibilität und Stabilität werden Biogläser zusätzlich für Mittelohrimplantate verwendet ^[152]. Hochdisperses SiO₂ wird außerdem im Dentalbereich lichthärtenden Kunststoffen (Kompositen) als Füllstoff zugesetzt ^[153,154]. Der Zusatz von Füllstoffen ist in der Dentalmedizin eine gängige Methode, um materialspezifische Eigenschaften zu optimieren.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Metalloxide SiO₂, TiO₂ und ZrO₂ während des Herstellungsprozesses von TTCP als Additive zugesetzt. Aufgrund des Sinterprozesses bei Temperaturen von 1400°C bis 1500°C entstanden nachweisbar im Sintergut Calciummetallate des Typs CaMO₃ (M = Ti, Zr), die offenbar für die Veränderung materialspezifischer Eigenschaften des TTCP verantwortlich sind. Ein entsprechendes Calciumsilikat, β-Wollastonit, CaSiO₃, schien allerdings nur in einem einzigen SiO₂-dotierten TTCP, mit 10 mol% Zusatz, entstanden zu sein. Andere Calciumsilikate waren nicht nachweisbar.

Üblicherweise lassen sich die Calciummetallate CaTiO₃, Perowskit, und CaZrO₃ über die Festkörperreaktion des entsprechenden Metall(IV)oxids mit CaCO₃ bzw. CaO darstellen ^[155,156] (siehe Gleichungen 4.1 und 4.2).



Das entsprechende Calciumsilikat, Ca[SiO₃], β-Wollastonit, ist ein Kettensilikat und entsteht ebenfalls beim Schmelzen von feingemahlenem Calciumoxid und Silicium(IV)oxid bei einer Temperatur von 1400 °C unter anschließendem Tempern der abgeschreckten α-Wollastonit-Schmelze bei 800 – 1000 °C ^[157]. Abbildung 4.8 zeigt das Phasendiagramm des binären Systems CaO-SiO₂ in Abhängigkeit der Temperatur und des SiO₂-Gehaltes ^[158]. Nach diesem Phasendiagramm (Abbildung 4.8) ist aber ein Mindestgehalt von über 40 wt% SiO₂ notwendig, damit sich ab einer Temperatur von ca. 600 °C überhaupt β-CaSiO₃ bilden kann. In der vorliegenden Arbeit wurden aber zu 400 g einer CC/DCPA-Basismischung zur

Synthese von TTCP maximal 20 mol% SiO₂, entsprechend 19,77 g, gegeben. Das entsprach einem Gewichtsanteil an der Mischung von höchstens 5 %.

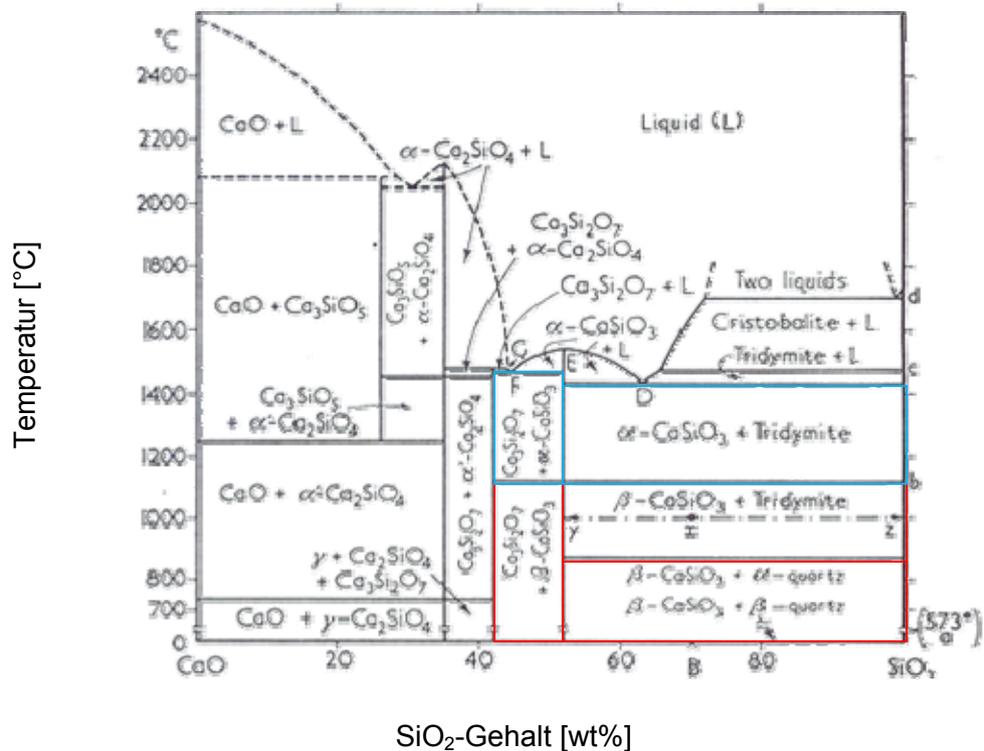


Abbildung 4.8: Phasendiagramm des binären Systems CaO-SiO₂ in einem Temperaturbereich von 573 °C bis 2600 °C in Abhängigkeit des SiO₂-Gehaltes; Entstehung von α-CaSiO₃ (—) und β-CaSiO₃ (—) neben anderen Verbindungen ab einem SiO₂-Gehalt von über 40 wt%; entnommen und modifiziert von Literaturstelle ^[158]

In dieser Arbeit lag zunächst das binäre System CaO-P₂O₅ mit einem CaO:P₂O₅-Verhältnis von ca. 4:1 zur Herstellung von TTCP vor (siehe Kapitel 3.2.2). Bei einer gegebenen Sinter Temperatur von 1500 °C (und schneller Abkühlung des Sinterkuchens) entstehen unter diesen Reaktionsbedingungen außer TTCP keinerlei Nebenprodukte (siehe Abbildung 4.9) ^[159]. Dies war in Übereinstimmung mit den röntgendiffraktometrischen Untersuchungen des Sinterguts (siehe Abbildungen 4.1 und 4.2). Grundsätzlich ist bei diesen Temperaturen die Bildung von CaO aus CaCO₃ über die Abspaltung von CO₂ möglich (siehe Gleichung 4.1). Diese Reaktion wurde hier aber vorsorglich mit Hilfe eines leichten Überschusses an DCPA (0,5 M) im Syntheseprozess durch die Bildung geringer Mengen an α-TCP unterdrückt (siehe Gleichung 3.2).

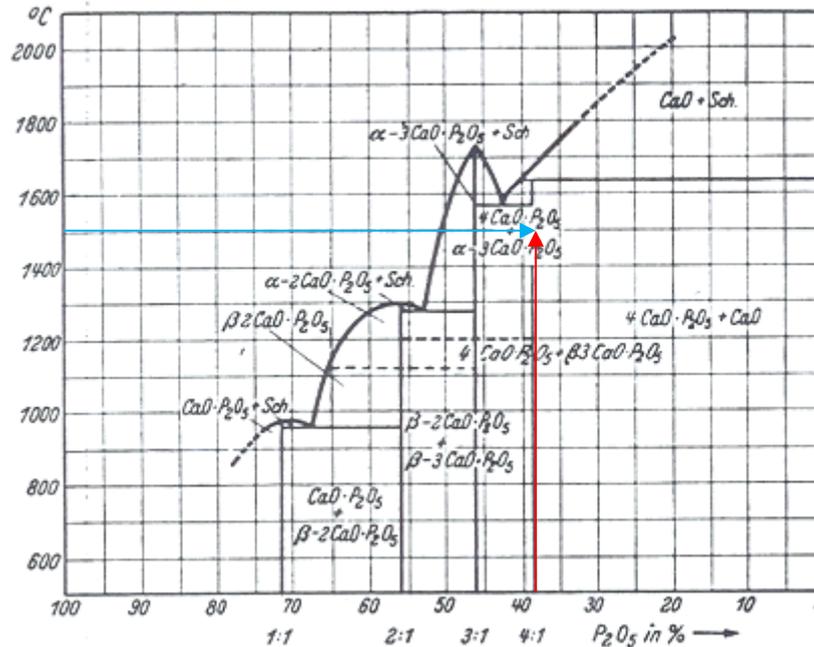


Abbildung 4.9: Phasendiagramm des binären Systems CaO-P₂O₅ in einem Temperaturbereich von 550 °C bis 2000 °C in Abhängigkeit des Stoffgehaltes in wt%; Zusammensetzung des Sinterguts bei einem Verhältnis CaO-P₂O₅ von 4:1 (→) und einer Sintertertemperatur von 1500 °C (→); entnommen und modifiziert von Literaturstelle ^[159]

Durch die Zugabe der Metalloxide im Syntheseprozess von TTCP entstand ein ternäres System des Typs CaO-P₂O₅-MO₂ mit M = Si, Ti, Zr. In Abbildung 4.10 ist das ternäre Phasensystem CaO-P₂O₅-SiO₂ abgebildet ^[160]. Ausgehend von den eingesetzten Stoffmengen an CaCO₃, CaHPO₄ und SiO₂ für die Synthese von dotiertem TTCP (siehe Kapitel 3.2.2, Tabelle 3.2), befindet sich der betreffende Schnittpunkt für z.B. 10 mol% SiO₂-Zusatz weit außerhalb des Bereiches, in dem CaSiO₃ („CS“) entstehen kann (siehe Abbildung 4.10). Auch bei einer Erhöhung des SiO₂-Anteils auf 20 mol% bzw. 5 wt% ist nach diesem ternären Phasendiagramm bei einem CaO-P₂O₅-Verhältnis von 4:1 die Entstehung von CaSiO₃ nicht möglich. Grundsätzlich wären in den Pulvermischungen vor dem Sintern partielle Konzentrationsschwankungen der Ausgangsverbindungen möglich. Diese Schwankung hätte aber dann ungewöhnlich hoch ausfallen müssen und eine lokale, deutliche Erhöhung der Metalloxid-Konzentration bedingt.

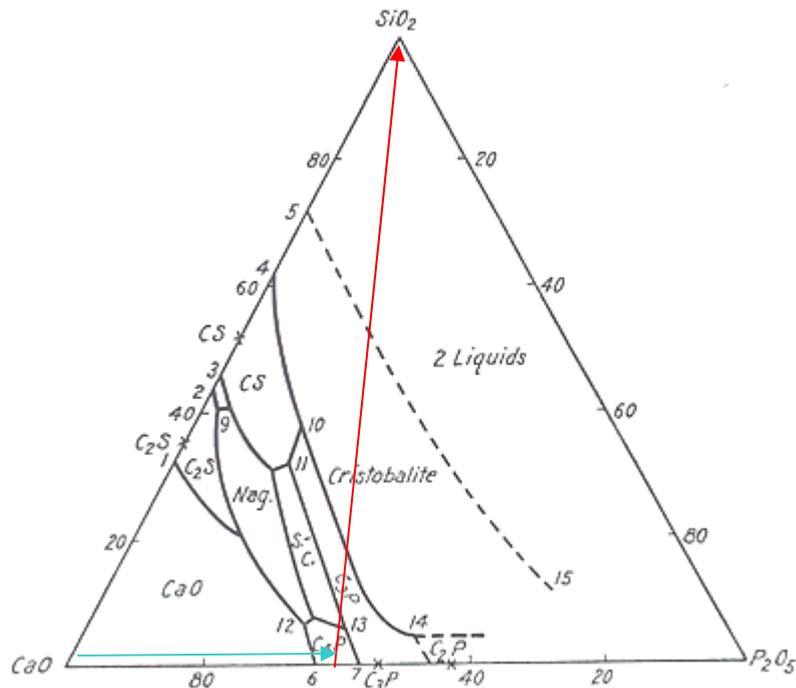


Abbildung 4.10: Phasendiagramm des ternären Systems CaO-P₂O₅-SiO₂ in Abhängigkeit des Stoffgehaltes in wt%; Zusammensetzung des Sinterguts bei einem Verhältnis CaO-P₂O₅ von 4:1 (→) und einem SiO₂-Gehalt von 10 mol% (→); entnommen und modifiziert von Literaturstelle ^[160]

Die aus den mit SiO₂ und TiO₂ modifizierten TTCP (m-TTCP) hergestellten Calciumphosphat-Zemente wiesen eine signifikante Steigerung der Druckfestigkeiten auf Werte von ca. 90 bis 107 MPa auf. Wurden aber mit ZrO₂ modifizierte TTCP zur CPC-Herstellung verwendet, konnte zwar ebenfalls eine Veränderung der mechanischen Stabilität registriert werden, diese fiel aber im Vergleich mit den anderen dotierten Zementen nicht so markant aus. Die mechanische Belastbarkeit war mit Druckfestigkeiten zwischen knapp 80 und ca. 97 MPa höher als die eines reinen TTCP/DCPA-Zementes. Aber diese Werte entsprachen durchgehend der von mit 5 % Metalloxid (M = Si, Ti) dotierten Zementen. Lediglich die Zugfestigkeiten der Zr-dotierten CPC lagen mit 9 bis 12 MPa höher als die der anderen Formulierungen (siehe Tabelle 4.3). Ein direkter Vergleich der Ergebnisse mit Literaturangaben ist an dieser Stelle jedoch schwierig, da bekanntermaßen die (mechanischen) Charakteristika eines Zementes von verschiedensten Parametern beeinflusst werden. Veränderungen im Herstellungsprozess der Zementkomponenten üben einen signifikanten Einfluss auf das Abbindeverhalten und damit auf die mechanischen Eigenschaften der Calciumphosphat-Zemente aus. So können z.B. die Herstellung des TTCP unter feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen ^[161], die Partikelgrößen der Zementkomponenten, die abhängig sind von der Mahldauer, Mahlergie und dem Suspensionsmedium, schon zu veränderten Materialeigenschaften beitragen. Auch der bei der Herstellung von Formkörpern

angewandte Druck und die Oberflächenverhältnisse der Formkörper haben Auswirkungen auf die mechanischen Festigkeiten.

Der Mechanismus des hier auftretenden Verstärkungseffektes ist bis jetzt noch unklar, da die zusätzlichen Phasen der metalloxiddotierten TTCP (m-TTCP), wie Calciumtitanat oder -zirkonat, offensichtlich nicht an der Abbindereaktion der Zemente beteiligt sind (siehe Abbildung 4.7). Grundsätzlich können natürlich andere Materialeigenschaften der Zementkomponenten und Produkte der Umsetzung, wie die Partikelgrößen, pH-Werte und -verläufe der Abbindereaktion, Struktur der ausgehärteten Zementmatrix, zur Deutung des Verstärkungseffektes herangezogen werden. In dieser Arbeit konnten bei den mechanisch am belastbarsten Zementen (mit TiO_2 -Zusatz) dahingehend aber keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. In allen Fällen verlief die Abbindereaktion ähnlich der eines reinen TTCP/DCPA-Zementes. Jeweiliges Hauptprodukt der Abbindereaktion war niedrigkristalliner Hydroxylapatit, die Umsetzung war nach 24 h Reaktionsdauer aber noch nicht abgeschlossen.

Die Referenzzemente mit Zusatz der kommerziell erhältlichen Calciummetallate CaSiO_3 , CaTiO_3 und CaZrO_3 gaben keinen Aufschluss über den Mechanismus der Abbindereaktion metalloxiddotierter CPC. Alle Zemente zeigten nahezu die gleichen Eigenschaften, bezogen auf die mechanische Belastbarkeit, Aushärtung, Reaktionsprodukte und Umsetzungsrate. Die Belastbarkeit lag aber mit Druckfestigkeiten von ca. 40 – 47 MPa und diametralen Zugfestigkeiten zwischen ca. 5 – 6,5 MPa weit unterhalb der metalloxiddotierter CPC (siehe Tabellen 4.2 und 4.5). Der Mechanismus der Abbindereaktion metalldotierter CPC kann daher z.B. nicht auf der reinen Verdichtung der Matrix durch die sehr viel geringen Partikelgrößen der Calciummetallate beruhen. Geeignete Partikelgrößenverteilungen können nämlich, wie in der Portlandzement-Chemie bekannt ^[162], zu einer dichteren Struktur der Zementmatrix führen. Die kleineren Partikel dienen der Schließung der Lücken und bewirken so eine dichtere Packung größerer Partikel. Dass der reine CPC im Vergleich mit den Ergebnissen in Tabelle 4.2 deutlich reduzierte mechanische Eigenschaften zeigte, könnte mit einem Alterungsprozess zusammenhängen, z.B. der Reaktion des TTCP mit der Luftfeuchtigkeit, dadurch der Inaktivierung der Partikel durch die Ausbildung einer HA-Schicht oder der Sedimentation und damit Entmischung bei längerer Lagerung.

Ein offensichtlicher Grund für den Verstärkungseffekt könnte aber die Veränderung der kinetischen Löslichkeit der Tetracalciumphosphate nach Versetzen mit den Metalloxiden sein. Die Löslichkeit der m-TTCP war bei Modifikation mit SiO_2 und TiO_2

deutlich reduziert (siehe Abbildung 4.4). Eine Veränderung im Löslichkeitsverhalten könnte mit der Anwesenheit schwerlöslicher Phasen wie CaTiO_3 und CaZrO_3 begründet werden. Die geringere Lösungsrate könnte dann eine verlangsamte Abbindereaktion, entsprechend einer niedrigeren HA-Kristallisationsrate, und damit eine höhere Vernetzung innerhalb der Zementstruktur zur Folge gehabt haben. Durch die bessere „Verfilzung“ von HA-Kristallen (Kristallnadeln) kann sich dann eine höhere mechanische Belastbarkeit ergeben. Dass innerhalb der Versuchsreihen keine regelmäßigen Abhängigkeiten bezüglich der Erhöhung des Metalloxidanteils festgestellt werden konnten (siehe Abbildung 4.4, Teilbild B), könnte mit der Verteilung der Calciummetallate im CPC begründet werden. Eine regelmäßige Verteilung der Verbindungen und dadurch immer gleich hohe Anteile in den jeweiligen zu vermessenden Proben können bei Pulvern nicht exakt eingehalten werden. Dadurch sind lokale Schwankungen in den Konzentrationen und den Eigenschaften der Zemente gegeben.

Bezüglich der Löslichkeit der Zementkomponenten und der Abbindereaktion war offenbar ein Unterschied, ob die Calciummetallate in dem Herstellungsprozess der m-TTCP erst entstanden oder ob die kommerziellen Verbindungen zu einer fertigen CPC-Pulvermischung hinzugegeben wurden (Referenzzemente). Obwohl die rasterelektronischen Untersuchungen der Oberflächenstrukturen der TTCP und der ausgehärteten Zemente keinen Hinweis gaben, könnte die Löslichkeit und damit die Abbindereaktion durch die während der Sinterung der Zementrohstoffe gewachsene CaMO_3 -Kristalle / -Partikel anders beeinflusst werden, als durch separat zugesetzte CaMO_3 -Partikel mit vorgegebenen Partikelgrößenverteilungen und durch Siebung und Mahlung veränderten Kristall- / Partikelstrukturen.

4.1.4 Ausblick

Die unterschiedliche Löslichkeit der Zementkomponenten ist die Grundlage der Abbindereaktion von CPC. Der Grad der Verfilzung bzw. Verflechtung von langsam gewachsenen Kristalliten bestimmt die Belastbarkeit der abgebundenen Zemente mit. Die Ergebnisse dieses Kapitels deuten darauf hin, dass die im Syntheseprozess von mit Metalloxiden modifizierten m-TTCP entstandenen Calciummetallate einen Einfluss auf die Abbindereaktion daraus hergestellter CPC-Mischungen haben. Die Beimengung kommerzieller Calciummetallate hat dagegen keinerlei Auswirkungen. Weitere Arbeiten sollten sich mit der Verbesserung der (diametralen) Zugfestigkeit beschäftigen. Besondere Aufmerksamkeit sollte dem Calciummetallat CaTiO_3 gelten, da Zementmischungen mit dieser Verbindung die höchste mechanische Belastbarkeit zeigten (siehe Tabelle 4.2). Auch sollten andere Zementssysteme, z.B.

TTCP/MCPM oder α -Tricalciumphosphat-Zemente, miteinbezogen werden. Letztere würden die Herstellung eines Einkomponenten-Zementsystems möglich machen, in dem vor der Modifikation eine monomodale Partikelgrößenverteilung vorliegt. Die Reduktion der Parameteranzahl könnte zur entgeltigen Klärung des Mechanismus beitragen. Wenn diese „dotierten“ Zemente dann als Knochenersatzmaterial eingesetzt werden sollen, dann müssen die Biokompatibilität und das Abbauverhalten dieser Zemente untersucht werden.

4.2 Injizierbare TTCP/DCPA-Zemente durch Einstellung der Partikelladung

Das Hauptanwendungsgebiet für selbst-abbindende Calciumphosphat-Zemente (CPC) ist zurzeit die Rekonstruktion von Knochendefekten im cranio- und maxillofacialen Bereich. Dies ergibt sich aus der momentanen klinischen Leistungsfähigkeit in Bezug auf die Abbinde- und mechanischen Eigenschaften, ihrer einfachen Handhabung und der Möglichkeit der Adaption an den Defekt ^[134,163,164]. Am Implantationsort kann das ausgehärtete Zementimplantat jedoch nur wenig mechanisch belastet werden, da diese Materialien nur eine geringe Festigkeit aufweisen und gegenüber dem zu ersetzenden Knochen ein sprödes Bruchverhalten besitzen. In der Literatur dokumentierte Druckfestigkeiten von CPC bewegen sich zwischen 20 – 83 MPa ^[38,128,135,142,165], in Abhängigkeit von der Zusammensetzung und Testmethode, während die Festigkeiten kortikalen Knochens zwischen 90 – 209 MPa betragen ^[166]. Eine Erweiterung der Anwendungen von CPC, beispielsweise auf die Augmentation osteoporotisch geschädigter Wirbelkörper (Vertebroplastie), würde eine höhere Festigkeit des Materials erfordern. Zusätzlich könnte eine Zementpaste mit höheren Festigkeiten und einer genügend geringen Viskosität, wie es bei minimal-invasiven Methoden verlangt wird, das Applikationsspektrum erweitern, so dass auch Indikationen eingeschlossen sind, die bei offenen Operationen nicht frei zugänglich sind. Im Moment erfüllen nur Polymere, wie PMMA-Knochenzemente, diese Bedingungen (Druckfestigkeit: 65 – 100 MPa, Zugfestigkeit: 25 – 50 MPa ^[167]). Nachteilig ist hier allerdings, neben den bekannten Problemen der stark exothermen Abbindereaktion (Gefahr von Gewebenekrosen) und der Freisetzung toxischer Monomere, auch das gegenüber dem osteoporotischen Knochen wesentlich höhere E-Modul (Elastizitätsmodul) der Zemente. Über das E-Modul lässt sich der Widerstand eines Materials gegen Verformung beschreiben ^[168] - ein höheres E-Modul bei Knochenersatzmaterialien kann zu Anschlussfrakturen führen, deren Risiko – speziell bei schwerer Osteoporose - höher ist als für nicht augmentierte Wirbelkörper ^[169,170].

Bei mineralischen CPC bestehend aus Calciumphosphat-Partikeln und Wasser als flüssiger Phase kann es bei der Applikation mit einer Nadel oder Kanüle wie in Kapitel 2.5 beschrieben zu einem „filter-pressing“ Effekt kommen, der zu einer Phasentrennung (flüssige und feste Phase) während der Injektion führt ^[171]. Eine Erniedrigung des P/L-Verhältnisses wirkt sich zwar günstig auf die Injizierbarkeit der Zemente aus ^[121], ist aber häufig mit einer starken Verringerung der mechanischen Eigenschaften durch Erhöhung der Zementporosität verbunden ^[142]. Bei dem Versuch, die rheologischen Eigenschaften zu verbessern, wurde der Einfluss verschiedener Additive der flüssigen Phase, wie Milchsäure, Glycerol, Chitosan, Zitronensäure oder lösliche Polymere auf die Injizierbarkeit von CPC von verschiedenen Autoren untersucht ^[101,102]. Zentrale Anforderungen an solche

Additive sind dabei deren Biokompatibilität sowie ein möglichst geringer Einfluss auf die Abbindereaktion der Zemente. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Zitrone als Additiv verwendet, da Zitronen eine geringe Toxizität haben und als Bestandteil des menschlichen Knochenminerals nachgewiesen wurden^[172]. Von einigen Autoren wurde bereits der Einfluss von Zitronensäure auf die Eigenschaften von CPC und die Reaktionskinetik der Hydroxylapatitbildung untersucht. Zitronensäure verzögert die Bildung von Hydroxylapatit, wie es für phasenreines α -TCP und TTCP/DCPA-Zementformulierungen gezeigt werden konnte^[103,173]. Entsprechend des niedrigen pH-Werts der Zitronensäure (500 mM, pH = 1,32) werden die Calciumphosphatpartikel in der Zementpaste während der initialen Abbindereaktion schnell aufgelöst bis hin zum vollständigen Verbrauch der Säure. Die Konzentration der Calcium- und Phosphationen steigt dabei in der flüssigen Zementphase sehr stark an. Es wurde gezeigt, dass der Grad der Übersättigung der flüssigen Zementphase, der für die Präzipitation von HA aus der Lösung notwendig ist, in Gegenwart von Zitronen von 10,93 auf 11,73 zunimmt^[174]. Dieser Effekt ist nicht bei allen organischen Säuren vertreten, da Acetationen beispielsweise diesen Effekt nicht zeigen^[173]. Sarda et al.^[103] und Dai et al.^[175] belegten, dass Zitronensäure niedriger Konzentration die Viskosität von Zementpasten reduziert. Dieser Effekt war vermutlich das Resultat einer gegenseitigen elektrostatischen Abstoßung der reagierenden Partikel nach Adsorption von Zitronen, gefolgt von der Neutralisation der Säuregruppen.

Während Zitronensäure eine starke Tricarbonsäure ist, reagiert das Trinatriumsalz in wässriger Lösung leicht alkalisch (pH 7,5 – 9,5^[176,177]). Daher werden im aktuellen Kapitel dieser Arbeit folgende Hypothesen aufgestellt: (i) es sollte keine Änderung des pH-Werts der Zementpaste auftreten, wenn statt der freien Säure das Trinatriumsalz verwendet wird; (ii) es sollte in der flüssigen Phase keinen Anstieg der Calcium- und Phosphationen-Konzentration geben und (iii) ein geringerer verzögernder Effekt auf die Abbindekinetik der Zementpaste zu beobachten sein. In diesem Kapitel wird daher der Einfluss von Trinatriumzitat (Na_3zitat) auf die mechanischen und rheologischen Eigenschaften eines TTCP/DCPA-Zements vorgestellt. Um die Effekte der Trinatriumzitrone zu erklären, wurden zusätzlich die Änderungen der Oberflächenladung (Zeta-Potential), der Phasenzusammensetzung und der Porosität der ausgehärteten Zementmatrix untersucht. Durch FT-IR Analysen wurde ermittelt, inwieweit die Zitronen in das Kristallgitter des Abbindeprodukts HA eingelagert sind.

4.2.1 Calciumphosphat-Zemente auf Basis von TTCP und DPCA

Die Festkörperreaktion einer Mischung von DCPA und CC über eine Dauer von 18 h bei einer Haltetemperatur von 1500 °C führte nach Abschreckung an Luft zu phasenreinem TTCP (siehe Kapitel 3.2.2). Das Sintergut wurde in Vorbereitung auf die Zementsynthese trocken auf eine durchschnittliche Partikelgröße von 10 – 15 µm gemahlen. In Ethanol gemahlene DCPA mit durchschnittlichen Korngrößen von 1 – 2 µm wurde zusammen mit gemahlenem TTCP in einem molaren Verhältnis von 1,05:1 trocken für 1 h homogen vermischt (siehe Kapitel 3.2.4). Um eine initiale Abbindezeit des synthetisierten Calciumphosphat-Zements von 4 – 5 min mit Wasser als flüssige Phase zu erreichen, wurde zusätzlich 1,00 g einer Na₂HPO₄/NaH₂PO₄-Mischung (molares Verhältnis 1:2) als Abbindebeschleuniger zugesetzt. Um den Einfluss unterschiedlicher flüssiger Phasen auf anwendungsrelevante Eigenschaften wie Abbindeverhalten, Rheologie, Abbindezeiten und mechanische Festigkeiten zu untersuchen, wurden Aqua ad injectabilia sowie Lösungen von Zitronensäure und tri-Natriumzitat Dihydrat (Na₃zitat) eingesetzt. Als weitere Variable wurden, neben der Konzentration der Additive, das P/L-Verhältnis und die Vorlast zur Herstellung von Prüfkörpern variiert. Versuche zur Ermittlung von möglichen Anmischverhältnissen ergaben mögliche P/L-Verhältnisse zwischen 3,3/1 und 5/1. Eine weitere Reduktion bzw. Anhebung des Anteils an flüssiger Phase führte teilweise zu nicht mehr verarbeitbaren CPC-Formulierungen. Im Wesentlichen wurden die weiteren Analysen der Eigenschaften von CPC daher innerhalb dieser Grenzen durchgeführt.

Mit Aqua ad injectabilia oder 500 mM tri-Natriumzitat-Lösung angemischte Calciumphosphat-Zemente härteten nahezu konstant bei einem pH-Wert von 9 aus, während die Verwendung einer 500 mM Zitronensäure-Lösung zu einer deutlichen Absenkung des pH-Wertes auf ca. 5,3 führte. Erst im weiteren Verlauf der Abbindereaktion wurde nach ca. 100 min mit pH 7,3 eine Annäherung an den physiologischen pH-Bereich beobachtet. Die zeitliche Entwicklung der pH-Werte ist in Abbildung 4.11 dargestellt:

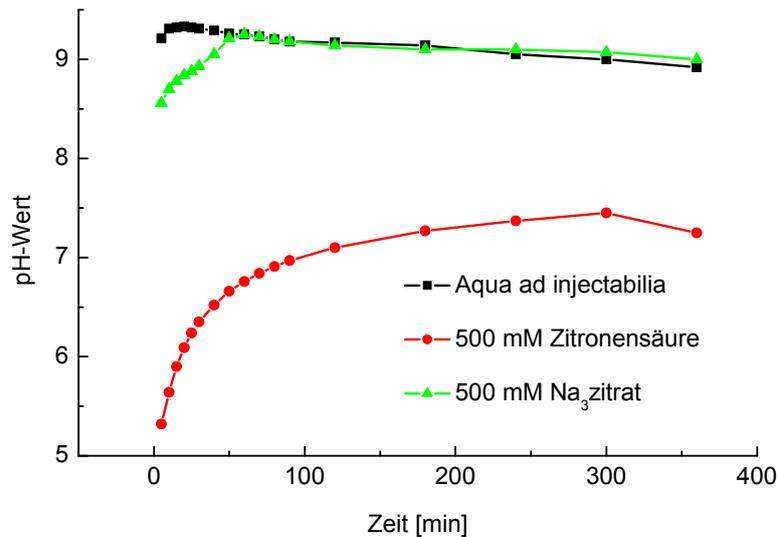


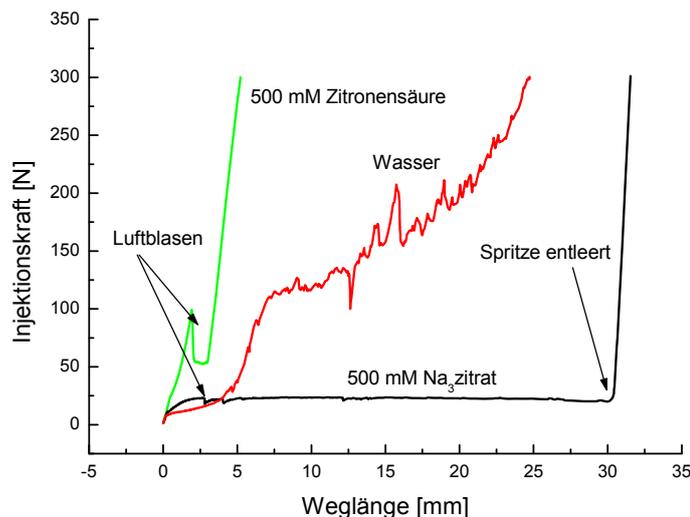
Abbildung 4.11: pH-Wert-Entwicklung des TTCP/DCPA-Zementes unter Verwendung unterschiedlicher flüssiger Phasen, P/L = 3,3/1; -■- Aqua ad injectabilia, -●- 500 mM Zitronensäure, -▲- 500 mM Na₃zitrat

Der Beginn der Aushärtungsphase der Zemente wurde in Abhängigkeit von drei Variablen untersucht. Dazu gehörten die Umgebungstemperatur, das P/L-Verhältnis und die flüssige Phase. Die über den Gilmore-Nadeltest ermittelten, resultierenden initialen Abbindezeiten sind in Tabelle 4.7 zusammengefasst. Die initiale Aushärtung des Zements erfolgte mit Wasser als flüssiger Phase und unter physiologischen Bedingungen innerhalb von 6 min, niedrigere Temperaturen verzögerten die Abbindezeit um bis zu weitere 8 min in Abhängigkeit des P/L-Verhältnisses. Durch Erniedrigung des Anteils der flüssigen Phase wurde im Allgemeinen die oberflächliche Aushärtung beschleunigt, insbesondere bei Raumtemperatur. Die Verwendung von tri-Natriumzitrat als Additiv bzw. die Erhöhung der Additivkonzentration führte im Allgemeinen zu einem Anstieg der Abbindezeiten. Bei einer Umgebungstemperatur von 22 °C und einem P/L-Verhältnis von 3,3/1 blieb die mit 500 mM tri-Natriumzitrat-Lösung angemischte Zementpaste für nahezu eine Stunde flüssig und damit verarbeitbar. Unter physiologischen Bedingungen dagegen konnte bei gleichem P/L-Verhältnis und gleicher flüssiger Phase unter Erhöhung der tri-Natriumzitrat-Konzentration nur eine Verzögerung der Abbindezeit von 6 auf 14 min erreicht werden. Im Gegensatz hierzu konnte die Abbindezeit durch den Einsatz von 500 mM Zitronensäure nur geringfügig beeinflusst werden – lediglich bei 37 °C zeigte sich eine Steigerung der Abbindezeiten um maximal 2 min. Die rheologischen Eigenschaften dieser Zementpasten blieben vergleichbar mit Aqua ad injectabilia angemischtem Zementen.

Tabelle 4.7: Initiale Abbindezeiten von Calciumphosphat-Zementen gemäß des Gilmore-Nadeltests bei variablen Umgebungstemperaturen, P/L-Verhältnissen und flüssigen Phasen

Flüssige Phase	Initiale Abbindezeit [min]					
	P/L = 3,3/1		P/L = 4/1		P/L = 5/1	
	22 °C	37 °C	22 °C	37 °C	22 °C	37 °C
Wasser	14	6	10	3	4	< 2
100 mM Na ₃ zitrat	16	6	10	4	4	2,5
200 mM Na ₃ zitrat	30	9	18	4 – 5	7	3
500 mM Na ₃ zitrat	80 – 90	14	55 – 60	7	25 – 30	3 – 4
500 mM Zitronensäure	12	7	8	5	6	3

Der Einfluss der Additive auf die rheologischen Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen beim Injizieren wurde durch Extrusion der Pasten aus einer Einmalspritze mit 1,1 mm x 30 mm großen Kanülen (innerer Durchmesser 800 µm, siehe Kapitel 3.5) mit Hilfe einer Materialprüfmaschine untersucht. Bei einem P/L-Verhältnis von 3,3/1 zeigten mit Aqua ad injectabilia angemischte Zemente einen kontinuierlichen Anstieg der zum Auspressen der Paste benötigten Kraft; ähnliche Beobachtungen konnten bei Verwendung von 500 mM Zitronensäure gemacht werden. Die Viskosität der mit Zitronensäure angemischten Zementpasten war jedoch deutlich höher und die aufzuwendende Kraft dadurch größer als mit Aqua ad injectabilia als flüssige Phase (siehe Abbildung 4.12).

**Abbildung 4.12:** Charakteristisches Kraft-Wegstrecken-Diagramm bei Injektionsversuchen mit einem TTCP/DCPA-Zement mit unterschiedlichen flüssigen Phasen; Vorschubgeschwindigkeit: 20 mm/min; P/L = 3,3/1; -■- Aqua ad injectabilia, -■- 500 mM Zitronensäure, -■- 500 mM Na₃zitrat

Die Kraft-Wegstrecken-Diagramme von Zementen, die mit einer Lösung aus 500 mM Na₃zitrat angemischt wurden, waren dagegen nur durch einen leichten Anstieg der aufzuwendenden Kraft (22 – 24 N) gekennzeichnet. Diese blieb bis zu einer Wegstrecke von 25 – 30 mm konstant, um danach schnell auf den Grenzwert von 300 N anzusteigen. An diesem Punkt befand sich keine Zementpaste mehr in der Spritze. Unterbrechungen der Verläufe bzw. das kurzzeitige Abfallen der aufzuwendenden Kräfte konnten mit Luftblasen innerhalb der Spritze in Verbindung gebracht werden (siehe Abbildung 4.12). Unter Verwendung von 500 mM Na₃zitrat-Lösung waren die Zementmischungen nahezu vollständig injizierbar (97,4 %). Im Gegensatz dazu reduzierte sich die Injizierbarkeit bei den flüssigen Phasen Aqua ad injectabilia oder 500 mM Zitronensäure bei gleichem P/L-Verhältnis auf 59 % bzw. 13 % (siehe Tabelle 4.8).

Tabelle 4.8: Injizierbarkeit von Calciumphosphat-Zementen in Gegenwart von verschiedenen flüssigen Phasen, P/L = 3,3/1, Vorschubgeschwindigkeit: 20 mm/min, Spritze: 10 ml, 1,1 x 30 mm Hohladel (innerer Durchmesser 800 µm)

Flüssige Phase	Injizierbarkeit [%]	Kraft [N]
Wasser	59,0	Kontinuierlicher Anstieg bis 300
500 mM Zitronensäure	13,0	Kontinuierlicher Anstieg bis 300
500 mM Na ₃ zitrat	97,4	22 – 24

Die Reduktion des Anteils der flüssigen Phase (P/L = 4/1) führte bei Aqua ad injectabilia zu einer hohen Viskosität der Zementpaste, die dadurch nicht mehr injizierbar war. Calciumphosphat-Zemente, die mit 500 mM tri-Natriumzitrat-Lösung angemischt wurden, blieben bis zu einem Anmischungsverhältnis von 4,5/1 vollständig injizierbar. Die Erhöhung des P/L-Verhältnisses war mit einem Anstieg der für die Extrusion benötigten Kraft auf bis zu 120 N verbunden. Bei weiterer Reduktion des Anteils an flüssiger Phase wurde eine kontinuierliche Zunahme der Kraft – ähnlich dem bei Aqua ad injectabilia beobachteten – registriert. Die Erhöhung der Extrusionsgeschwindigkeit war ebenfalls mit einem Anstieg der aufzuwendenden Kraft verbunden. So erforderte – im Falle von 500 mM Na₃zitrat-Lösung – eine durchschnittliche Vorschubgeschwindigkeit von 20 mm/min bei einem P/L-Verhältnis von 3,3/1 eine Kraft von 22 – 24 N, um die Spritze vollständig zu entleeren. Im Vergleich hierzu benötigte man bei gleichem P/L-Verhältnis und einer Extrusionsgeschwindigkeit von 50 mm/min schon eine Kraft von 55 – 62 N (siehe Tabelle 4.9).

Tabelle 4.9: Extrusion von Zementpasten in Gegenwart von 500 mM Na₃zitrat-Lösung bei variablen Vorschubgeschwindigkeiten und Anmischungsverhältnissen, Vorschubgeschwindigkeit: 20 mm/min, Spritze: 10 ml, 1,1 x 30 mm Nadel (innerer Durchmesser 800 µm)

P/L-Verhältnis	Vorschub [mm/min]	Injizierbarkeit	Kraft [N]
3,3/1	10	97,4	12 – 13
3,3/1	20	97,4	22 – 24
3,3/1	30	97,0	38 – 40
3,3/1	50	96,1	55 – 62
3,85/1	20	95,7	65 – 67
4,5/1	20	96,9	95 – 120
5/1	20	1,3	Kontinuierlicher Anstieg bis 300

Die Überprüfung der mechanischen Eigenschaften in Abhängigkeit der verwendeten flüssigen Phase und der Vorkompression ergab bei Anmischung mit Aqua ad injectabilia bzw. 500 mM Zitronensäure im Verhältnis 3,3/1 nach 24 h Aushärtung keine wesentlichen Unterschiede. In beiden Fällen wurden Druckfestigkeiten von ca. 85 MPa und 114 MPa (9 und 50 MPa Vorlast) ermittelt. Unter Verwendung von 500 mM Na₃zitrat-Lösung konnten dagegen – bei gleichen Herstellungsparametern - Festigkeiten von 131 bzw. 153 MPa erreicht werden (Tabelle 4.10):

Tabelle 4.10: Druckfestigkeiten von Calciumphosphat-Zementen unter Variation der Vorlast und der flüssigen Phase, P/L = 3,3/1

Flüssige Phase	Vorlast [MPa]	CS [MPa]
Wasser	9	83,4 ± 11,4
	50	113,2 ± 16,0
500 mM Na ₃ zitrat	9	131,3 ± 8,8
	50	153,6 ± 19,3
500 mM Zitronensäure	9	86,9 ± 11,1
	50	115,9 ± 9,7

Durch die Reduktion des Anteils an flüssiger Phase bei der Anmischung mit Aqua ad injectabilia konnten ab einem P/L-Verhältnis von 4/1 keine defektfreien Prüfkörper mehr erhalten werden. Die Abhängigkeit der mechanischen Festigkeit von dem Anmischungsverhältnis wurde bei der Herstellung der Prüfkörper ohne vorherige Kompression deutlich (siehe Tabelle 4.11). Die höchste Druckfestigkeit (67 MPa) wurde unter Verwendung einer 500 mM Na₃zitrat-Lösung bei einem Anmischungsverhältnis des Zements von 5/1 erhalten unter gleichzeitigem Verlust der injizierbaren Eigenschaften – die Paste war lediglich knetbar (siehe auch Tabelle 4.7). Die höchsten Werte unter Erhalt der gewünschten rheologischen Eigenschaften zeigten sich bei einem P/L-Verhältnis von 4,5/1 mit 57 MPa Druckfestigkeit

(siehe Tabellen 4.9 und 4.11). Im Gegensatz hierzu wurden mit Aqua ad injectabilia als flüssiger Phase deutlich geringere Festigkeiten von ca. 17 MPa bei einem P/L-Verhältnis von 3,3/1 registriert. Zusätzlich erhöhte sich die Viskosität mit der Reduktion der flüssigen Phase ($P/L > 3,3/1$) so stark, dass eine Verarbeitung des Zements und die Herstellung defektfreier Prüfkörper nicht mehr möglich war, da die Pasten zu trocken waren.

Tabelle 4.11: Druckfestigkeiten von Calciumphosphat-Zementen nach 24 h Aushärtung ohne Vorkompression bei 37 °C bei variablen Anmischungsverhältnissen und flüssigen Phasen

Flüssige Phase	P/L				
	2/1	3,3/1	4/1	4,5/1	5/1
Wasser	4,8 ± 1,2	17,6 ± 2,9	Nicht verarbeitbar		
500 mM Na ₃ zitrat	8,7 ± 0,7	36,1 ± 4,1	50,5 ± 6,0	57,7 ± 10,8	67,1 ± 6,1

Die mechanische Stabilität von Festkörpern ist in starkem Maße abhängig von der Porosität des untersuchten Probenkörpers. Besonders deutlich wird dies im Falle von Keramiken, deren Festigkeiten mit der während des Sinterprozesses gebildeten Gefügestruktur und Festkörperdichte korrelieren. Die Porosität ausgehärteter Calciumphosphat-Zemente lässt sich über die Volumina der Prüfkörper und deren Festbestandteile kalkulieren (siehe Gleichung 4.3):

$$\text{Porosität} = \frac{V_{\text{Probe}} - V_{\text{Festbestandteile}}}{V_{\text{Probe}}} \quad (4.3)$$

Die Volumina werden hierbei über die Vermessung der Probenkörper zugänglich. Die jeweiligen Probendichten wurden durch zusätzliches Auswiegen berechnet. Die während des Aushärtungsprozesses einer dauerhaften Kompression ausgesetzten Proben machten die Abhängigkeit der mechanischen Belastbarkeit von der Verdichtung der Zementpaste deutlich (siehe Tabelle 4.12):

Tabelle 4.12: Druckfestigkeiten, Dichten und Porositäten von Calciumphosphat-Zementen unter Variation der Vorlast und der flüssigen Phase, P/L = 3,3/1

Flüssige Phase	Vorlast [MPa]	CS [MPa]	Reindichte [g/cm ³]	Rohdichte [g/cm ³]	Relative Porosität [%]
Wasser	9	83,4 ± 11,4	2,040 ± 0,055	2,979 ± 0,014	31,5
	50	113,2 ± 16,0	2,150 ± 0,046	2,784 ± 0,010	22,6
500 mM Na ₃ zitrat	9	131,3 ± 8,8	2,119 ± 0,019	2,911 ± 0,016	27,2
	50	153,6 ± 19,3	2,260 ± 0,064	2,790 ± 0,014	19,0
500 mM Zitronensäure	9	86,9 ± 11,1	2,052 ± 0,113	2,916 ± 0,018	29,6
	50	115,9 ± 9,7	2,260 ± 0,070	2,911 ± 0,009	22,4

Mit der Erhöhung der Vorlast stieg im Allgemeinen die durchschnittliche Rohdichte der Probenkörper leicht an, während sich die Feststoffdichte etwas verringerte (siehe Tabelle 4.12). Die Feststoffdichten der Proben lagen zwischen 2,78 und 2,98 g/cm³, während sich die Rohdichten zwischen Werten von 2,04 und 2,26 g/cm³ bewegten. Die Steigerung der mechanischen Festigkeiten war mit der Abnahme der Porositäten durch die zusätzliche Verdichtung der Zementpasten korrelierbar. Auch die Verwendung unterschiedlicher flüssiger Phasen beeinflusste den Porositätsanteil ausgehärteter Probenkörper – die kalkulierten Porositäten nahmen in der Reihe Aqua ad injectabilia > 500 mM Zitronensäure > 500 mM Na₃zitrat ab. Die Werte variierten hierbei zwischen 31 % und 27 % (9 MPa Vorlast) bzw. 22 % und 19 % (50 MPa Vorlast). Die Unterschiede der ermittelten Druckfestigkeiten unter Verwendung verschiedener flüssiger Phasen können aber nicht ausschließlich mit der nur geringen Abnahme der Porositäten zusammenhängen, da bei Zementen, die mit Aqua ad injectabilia oder 500 mM Zitronensäure angemischt wurden, nur geringe Veränderungen der Druckfestigkeiten festgestellt werden konnten, unabhängig von der angewandten Vorkompression (ca. 85 MPa und ca. 114 MPa nach einer Verdichtung mit 9 bzw. 50 MPa). Wurde dagegen 500 mM Na₃zitrat-Lösung als flüssige Phase eingesetzt, konnte eine Steigerung der Druckfestigkeit von 131 MPa und 153 MPa unter gleichen Bedingungen erreicht werden.

Der Einfluss der Modifikation des Zements mit Zitronensäure bzw. Trinatriumzitratlösung auf deren Mikrostruktur nach Aushärtung ist in Abbildung 4.13 dargestellt. Zu erkennen ist jeweils ein mikroporöses Gefüge mit eingelagerten, nicht abreagierten Tetracalciumphosphat-Partikeln mit Größen im Bereich von 2 – 5 µm. Ein möglicher Einfluss von Zitrationen auf die Morphologie der während der Zementreaktion gebildeten Hydroxylapatit-Partikel ist zwar deutlich erkennbar, konnte aber durch die geringe Auflösung des verwendeten Elektronenmikroskops nicht abschließend quantifiziert werden.

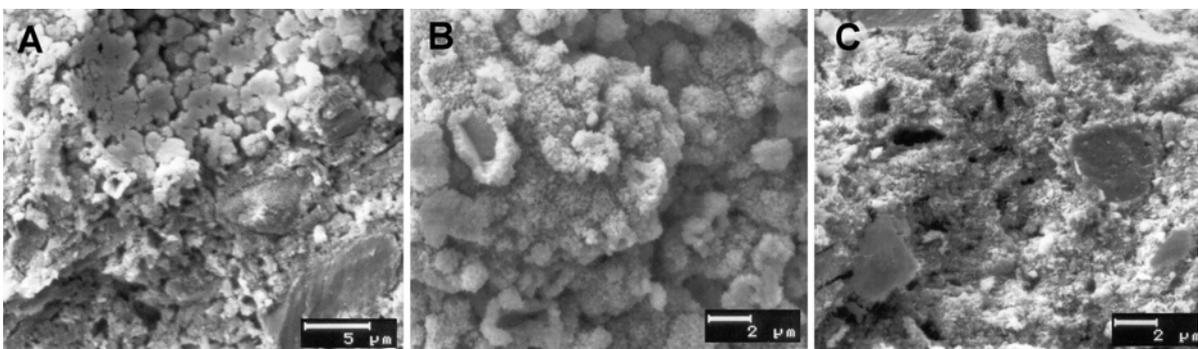


Abbildung 4.13: REM-Aufnahmen ausgehärteter Zemente nach 48 h bei 37 °C; Flüssige Phase: A) Aqua ad injectabilia, B) 500 mM Na₃zitrat, C) 500 mM Zitronensäure

Da der Umsetzungsgrad der Zementmatrix zum Endprodukt HA ebenfalls einen Einfluss auf die mechanische Festigkeit ausüben kann, wurden von den oben genannten Proben XRD-Analysen durchgeführt und diese durch Rietveld-Analyse hinsichtlich der Phasenzusammensetzung quantifiziert ^[178]. Kennzeichnend für mit Aqua ad injectabilia oder Na₃zitrat-Lösung ausgehärtete Calciumphosphat-Zemente war ein Hydroxylapatitanteil zwischen 74 % und 78 %, sowie TTCP-Anteile von 20 – 25 % und ein DCPA-Gehalt von < 1,6%, unabhängig von der angewendeten Vorlast (siehe Tabelle 4.13):

Tabelle 4.13: Phasenzusammensetzung von Calciumphosphat-Zementen nach 24 h (48 h) Reaktionsdauer bei 37 °C gemäß Rietveld-Analyse; P/L = 3,3/1, variable Vorlast

Flüssige Phase	HA [wt%]	TTCP [wt%]	DCPA [wt%]
9 MPa Vorlast			
Wasser	74,84	23,87	1,28
500 mM Na ₃ zitrat	78,47	19,96	1,58
500 mM Zitronensäure	64,06 (24h)	31,61 (24h)	4,33 (24h)
	81,12 (48h)	17,58 (48h)	1,30 (48h)
50 MPa Vorlast			
Wasser	77,93	21,01	1,06
500 mM Na ₃ zitrat	73,58	25,25	1,17
500 mM Zitronensäure	72,13 (24h)	24,45 (24h)	3,42 (24h)
	80,72 (48h)	17,98 (48h)	1,30 (48h)

Der Einsatz von 500 mM Zitronensäure als flüssiger Phase bedingte bei 9 MPa Vorkompression eine Verzögerung der Reaktion der Komponenten zu Hydroxylapatit – ähnliche Umsetzungsraten wie bei Verwendung von Aqua ad injectabilia oder 500 mM Na₃zitrat-Lösung (81 %) wurden erst nach 48 h Reaktionszeit erreicht (siehe Tabelle 4.13). Dieser verzögerte Reaktionsverlauf war unter Verwendung von 500 mM Zitronensäure ebenso wie die Umsetzungsrate unabhängig von der angewandten Vorlast. Auffällig bei allen Proben war der auch nach 24 h Reaktionszeit noch hohe Gehalt an TTCP, der auf die Entstehung von Calciumdefizitärem Hydroxylapatit (CDHA) in der Zementmatrix hindeutet.

Die vergleichbaren Umsetzungsraten zu Hydroxylapatit bei Präparation der Probenkörper mit Zitronensäure- bzw. Na₃zitrat-Lösung ließ eine Reaktionskinetik entsprechend der unter Verwendung von Aqua ad injectabilia vermuten. Dass die Additive nicht an der Reaktion der Komponenten zu Hydroxylapatit beteiligt sind, bestätigten IR-spektroskopische Untersuchungen (siehe Abbildung 4.14, Teilbilder A und B). Nach Anmischung und Aushärtung der Zementpulver mit 500 mM

Zitronensäure- bzw. tri-Natriumzitat-Lösung waren die für Zitrationen charakteristischen Schwingungsbanden der C-H- und Carboxylatgruppen bei $2800 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ und $1400 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ zu identifizieren. Diese konnten nach Waschen der pulverisierten Probenkörper mit deionisiertem Wasser in beiden Fällen nicht mehr detektiert werden, was gegen eine Einlagerung der Zitrationen in das HA-Gitter der Zementkristallite spricht.

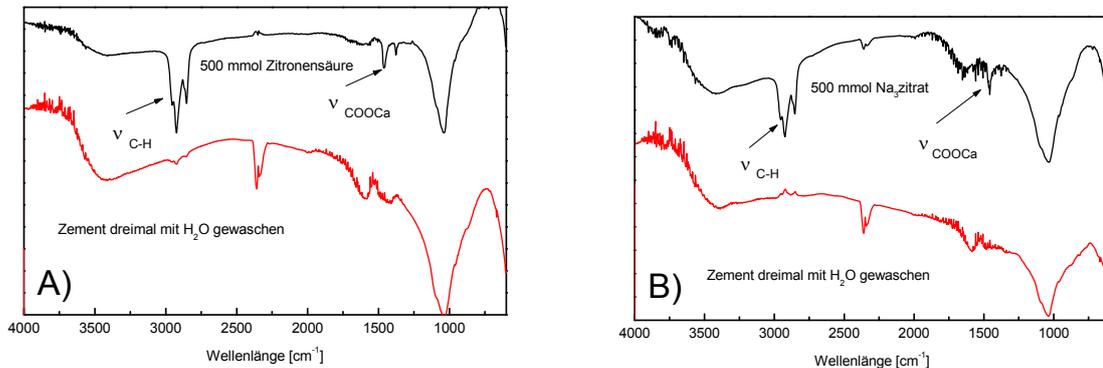


Abbildung 4.14: A) FT-IR-Spektren 24 h ausgehärteter Calciumphosphat-Zemente mit $L = 500 \text{ mM}$ Zitronensäure, $P/L = 3,3/1$ — vor und — nach dreifachem Waschen mit ionenfreiem Wasser; B) FT-IR-Spektren 24 h ausgehärteter Calciumphosphat-Zemente mit $L = 500 \text{ mM}$ Na_3Zitrat , $P/L = 3,3/1$ — vor und — nach dreifachem Waschen mit ionenfreiem Wasser

Nach diesen Ergebnissen liegt auch die Zitronensäure nach dem Abbindeprozess im Wesentlichen als wasserlösliches Salz vor – dies wird deutlich an den Signalen der Carboxylatgruppen bei $1400 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ und dem Fehlen entsprechender Carbonsäuresignale im Bereich von 1700 cm^{-1} . Obwohl die Additive tri-Natriumzitat und Zitronensäure nicht an der Abbindereaktion der Zementkomponenten zu Hydroxylapatit beteiligt sind, beeinflussen sie offenbar die Abbindereaktion maßgeblich durch ihre Adsorption an den Partikeloberflächen. Diese Adsorption spiegelt sich in den Messungen der Oberflächenpotentiale (Zetapotentiale) wieder. Tabelle 4.14 zeigt die Zetapotentiale der Zementkomponenten DCPA und TTCP sowie die Oberflächenladung von gefälltem HA in verschiedenen Suspensionsmedien. Die Zetapotentiale veränderten sich unter der Verwendung von 500 mM tri-Natriumzitat-Lösung auf Werte von -45 bis -51 mV im Vergleich zu -2 bis -10 mV für gefälltes HA und -15 bis -18 mV bezüglich der Zementkomponenten DCPA und TTCP in reinem Wasser. Derartige Effekte konnten in Zitronensäurelösungen nicht beobachtet werden, da die Zitronensäure die Messung des Zetapotentials inhibierte, indem die starke Säure die Partikeloberfläche auflöste und bis hin zum vollständigen Verbrauch der Säure Calciumzitate bildete.

Tabelle 4.14: Zeta-Potentiale der Zementkomponenten DCPA, TTCP und HA in verschiedenen Elektrolyten

Komponente	Zeta-Potential [mV]	
	Wasser	500 mM Na ₃ zitrat
DCPA	-18,4 ± 1,9	-50,1 ± 1,0
TTCP	-15,0 ± 1,8	-50,6 ± 3,8
HA (gefällt)	-2 bis -10	-44,7 ± 2,4

4.2.2 Diskussion

Die Applikation von CPC in lasttragenden Bereichen des Körpers (z.B. Wirbelsäule) ist mit hohen klinischen Anforderungen verbunden. Bei der Vertebroplastie bzw. Kyphoplastie wird der Knochenzement mit Hilfe einer Spritze und einer Hohnadel in den Wirbelkörper injiziert. Das einzubringende Material muss sowohl für ein minimal-invasives Verfahren geeignet, d.h. leicht injizierbar sein, als auch die notwendige mechanische Stabilität und Osteokonduktivität nach dem Abbinden aufweisen. Die Abbindephase selbst muss relativ kurz sein, damit eine Primärstabilität für den Verschluss des Operationsgebietes gewährleistet ist. Ziel dieses Kapitels der Arbeit war es, diese verschiedenen Eigenschaften gleichzeitig zu verbessern und reproduzierbare CPC-Formulierungen zu erhalten. Zum Einsatz kam dabei ein Zementssystem aus einer äquimolaren Mischung aus basischem Tetracalciumphosphat und saurem Calciumhydrogenphosphat, das nach Zusatz der wässrigen Phase innerhalb weniger Stunden zu calciumarmen Hydroxylapatit abbindet. Ein Zement vergleichbarer Zusammensetzung („BoneSource“, Stryker-Leibinger, Freiburg) befindet sich in der klinischen Anwendung.

Durch den ausgeübten Druck während der Zementinjektion kann es innerhalb der Spritze zu einer Entmischung der flüssigen und festen Phase kommen („filter-pressing“ Phänomen) ^[171]. Durch die Phasenseparation kann das Konzentrations-Verhältnis (P/L-Verhältnis) der schon extrudierten Paste verändert sein und in völlig veränderten Eigenschaften des abgebundenen Zementes münden. Eine CPC-Formulierung muss daher so konzipiert sein, dass sie dem Entmischungseffekt entgegen wirkt, aber gleichzeitig gut injizierbar bleibt und in ihren Abbindeigenschaften und der mechanischen Stabilität keine Veränderungen aufweist. Die Injektionseigenschaften der CPC können dabei durch die Modifikation der flüssigen Phase durch Additive verbessert werden ^[179,103]. Solche Zusätze dürfen grundsätzlich weder zellschädigend (toxisch) sein, noch die Abbindereaktion stören. In der Vergangenheit kamen unter anderem wasserlösliche Polymere ^[101,102,180], organische Säuren wie Zitronensäure ^[103] oder Natrium-Salze von α -Hydroxy-di- oder

tri-Carbonsäuren zum Einsatz ^[181,182]. Die Additive erhöhen dabei die Viskosität der flüssigen Phase um mehrere Größenordnungen und führen damit zu einer stärkeren Kohäsion der Paste ^[6]. Werden ionische Zusätze verwendet, verbessern diese die Benetzung des Zementpulvers und erhöhen gleichzeitig die Oberflächenladung (Zetapotential) der Zementpartikel durch die Adsorption der Ionen auf der Partikeloberfläche. Dieses Verhalten kann über die Änderung des Zetapotentials der Partikeloberflächen nachgewiesen werden ^[183]. Das Zetapotential ist hierbei gleichzusetzen mit der effektiven Partikelladung im Elektrolytkontakt und der Messung der Kinetik des Ionenaustausches zwischen der Hydrathülle der Keramikpartikel und der Partikeloberfläche selbst ^[184,185]. Eine hohe Oberflächenladung verbessert die Dispersion von Partikeln im Mikrometer- bis Submikrometerbereich als Ergebnis der gegenseitigen Abstoßung der Partikel in der flüssigen Phase. Die Hydratation der Ionen schwächt die Bindungen zwischen gegensätzlich geladenen Ionen – somit scheren die Partikel bei Bewegung leichter voneinander ab. Das Zetapotential lässt sich möglicherweise durch den Zusatz von mehrfach geladenen Ionen zur flüssigen Phase verändern. Dadurch könnte es zu einem Anstieg der Ladungsdichte auf der Partikeloberfläche kommen. Für den Zusatz von verschiedenen Natriumphosphaten als Abbindebeschleuniger bei Zementreaktionen konnte dies schon gezeigt werden ^[186].

In der vorliegenden Arbeit wird ein hohes Zetapotential bei Calciumphosphat-Partikeln und damit die vollständige Injizierbarkeit eines TTCP/DCPA-Zementes durch den Einsatz von Na_3zitrat als Additiv in der flüssigen Phase erreicht. An den Partikeloberflächen der einzelnen Zementkomponenten konnte eine hohe negative Ladungsdichte im Bereich von -45 bis -50 mV gemessen werden (siehe Tabelle 4.14). Der Anstieg des Zetapotentials der Einzelkomponenten auf höhere negative Werte ging mit einer deutlichen Erniedrigung der Viskosität der entsprechenden Zementpaste einher. Dies hängt mit der Verringerung der interpartikulären Anziehungskräfte durch gegenseitige elektrostatische Abstoßung zusammen. Dadurch wird eine bessere Dispersion von feinkörnigen (DCPA-)Agglomeraten möglich und damit auch eine dichtere Packung der Partikel (siehe Abbildung 4.15).

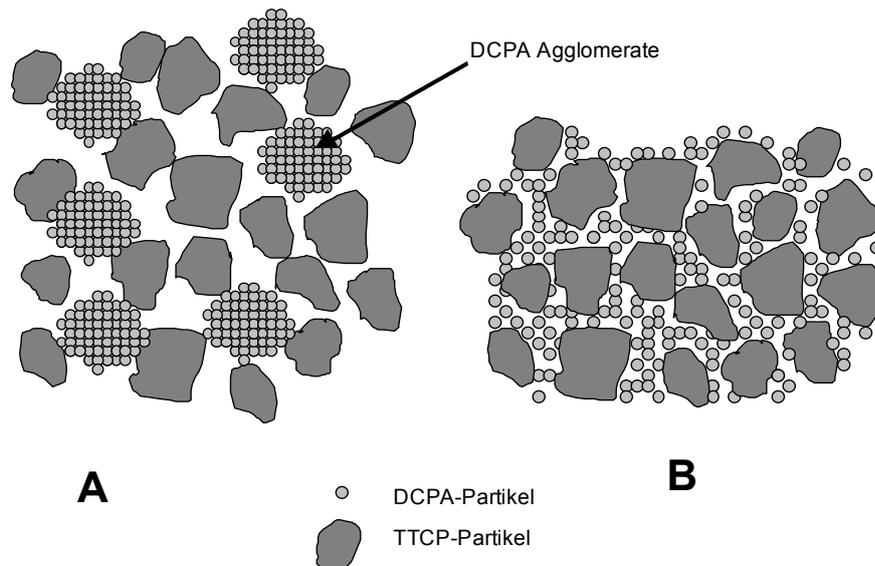


Abbildung 4.15: Schematische Darstellung der Struktur von Zementpasten mit A) Wasser und B) Na_3 zitrat-Lösung als flüssiger Phase

Während Zemente, die mit Wasser angemischt wurden, sogar bei niedrigen P/L-Verhältnissen nur geringfügig injizierbar waren, erlaubte der Einsatz von 500 mM Na_3 zitrat-Lösung die vollständige Injektion der Zementpaste selbst durch enge Kanülen (800 μm interner Durchmesser) unter leichtem Druck (siehe Abbildung 4.12). Sie können auch leicht manuell appliziert werden, ohne dass eine merkbare Phasenseparation auftritt und dadurch die Kanüle verstopft.

In der Literatur finden sich Arbeiten über auf α -TCP basierenden Zementen, denen verschiedene Additive wie Milchsäure, Glycerin, Chitosan, Zitronensäure, Alginate, Stärke, Cyclodextrine oder lösliche Polymere zugesetzt wurden ^[179,101,102,103,121]. Die Injizierbarkeit dieser Zementpasten bewegt sich zwischen 70 % und 95 %. Im Gegensatz zu anderen Arbeiten ^[103] verringerte aber in den hier gemachten Untersuchungen der Zusatz von Zitronensäure deutlich die Injizierbarkeit. Obwohl beide Verbindungen – Zitronensäure und ihr tri-Natriumsalz – in wässriger Lösung Zitrationen freisetzen und Calciumionen komplexieren können ^[187], unterscheiden sich ihre Ionenaktivitäten stark. Das neutrale bis leicht basische Na_3 zitrat erhöht nachweisbar die Oberflächenladung der Partikel durch die Adsorption von Zitrationen an der Grenzfläche feste Phase – flüssige Phase (siehe Tabelle 4.14). Eine Eigenschaft von Na_3 zitrat ist die Komplexbildung von Calciumionen bei Raumtemperatur, weshalb diese Verbindung auch als Gerinnungshemmer bei Transfusionsblut eingesetzt wird ^[188]. Im vorliegenden Fall könnte aber die Bildung von Calciumzitrat-Komplexen durch die hohe Ionenstärke der Lösung inhibiert werden. Die hohe Ionenstärke im Vergleich zu reinem Wasser kommt durch die Anwesenheit von 1,5 mol monovalenten Natriumionen zustande.

Aufgrund ihres niedrigen pH-Wertes von 1,7 ^[189] löst die Zitronensäure in dieser Konzentration die Calciumphosphat-Partikel wahrscheinlich vollständig auf und bildet schwerlösliche Calciumzitrat-Komplexe. Die in der Literatur beschriebenen Effekte der Zitronensäure auf die rheologischen Eigenschaften von CPC sind deutlich geringer ausgeprägt als die in der vorliegenden Arbeit beobachtete Verflüssigung der Zementpaste mit Na₃zitrat, der Effekt wurde zudem nur bei geringen Zitronensäurekonzentrationen beobachtet. So erhielten Sarda et al. ^[103] bei geringen Konzentrationen der Zitronensäure (52 – 156 mM) einen verflüssigenden Effekt. Diese positive Wirkung auf die Injizierbarkeit der CPC wurde bei höheren Konzentrationen (260 mM) allerdings wieder aufgehoben. Betrachtet man die sonstigen Reaktionsbedingungen in diesen Arbeiten, fällt die gleichzeitige Verwendung einer 2,5 wt% Natriumphosphat-Lösung (704 mM Natriumionen) als Abbindebeschleuniger auf. Entsprechend einer Säure-Base-Reaktion könnten sich in der flüssigen Phase Natriumzitate gebildet haben. Diese wiederum könnten zu der aufgetretenen geringeren Viskosität, in Übereinstimmung mit den Daten der hier vorliegenden Arbeit, beigetragen haben. Direkte Vergleiche von Literaturergebnissen mit der vorliegenden Arbeit werden aber durch die unterschiedlichen Versuchsbedingungen erschwert. So werden in der Literatur z.B. verschiedene P/L-Verhältnisse zwischen 2,08 bis 3,12 mg/ml angesetzt. Für die Injektionsversuche wurden auch Hohlnadeln mit einem wesentlich größeren Durchmesser (2 – 3 mm) verwendet.

Die Hagen-Poiseuill'sche Beziehung für Newtonsche Flüssigkeiten (Gleichung 2.9, Kap. 2.5) beschreibt die Abhängigkeit der Flussrate Q_f der Zementpaste durch die Kanüle von der Viskosität μ_f der Zementmischung, dem Druckabfall ΔP_n , der Länge L_n und dem Nadeldurchmesser D_n . In einer Newtonsche Flüssigkeit ist die Fließgeschwindigkeit an jedem Ort innerhalb eines Körpers (hier: Spritze und Kanüle) linear von der äußeren, angewendeten Kraft abhängig ^[190]. Nach dieser Gleichung ist der Durchfluss proportional zur 4. Potenz des Durchmessers, während alle anderen Parameter nur einen linearen Zusammenhang zeigen. Um die Relationen zu verdeutlichen, kann man die hier verwendete Kanüle von 0,8 mm in Vergleich setzen mit Literaturangaben zu den Injektionseigenschaften von CPC. Die Änderung des Nadeldurchmessers von 0,8 mm (eigene Arbeit) auf 1,6 – 2,2 mm (Literatur ^[109,110,111,112,115]) erhöht die theoretische Durchflussrate Q_f um den Faktor 16 – 57.

Hinsichtlich einer klinischen Anwendung muss ein Zement kontinuierlich als hinreichend viskose Paste durch eine dünne Nadel über eine längere Wegstrecke ohne Phasenseparation appliziert werden können (z.B. für Wurzelkanalfüllungen oder beim Wirbelkörperaufbau). Der in dieser Arbeit vorgestellte TTCP/DCPA-

Zement erfüllt unter der angegebenen Versuchsanordnung diese Bedingungen. Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus der drastischen Verlängerung der initialen Abbindezeit der Zementpaste auf bis zu eineinhalb Stunden, wenn bei Raumtemperatur Na_3Zitrat -Lösungen zur Anmischung eingesetzt werden (siehe Tabelle 4.7). Dadurch wird der Verarbeitungsprozess (Anmischung und Einbringen des Materials in die Spritze) grundlegend erleichtert, da eine sehr lange Zeit für die Mischung der Zementpaste und deren Überführung in das Injektionswerkzeug zur Verfügung steht. Die anschließende Temperaturerhöhung auf Körpertemperatur führt dann zu einem raschen Aushärten der Zementpaste innerhalb weniger Minuten. Unter Verwendung von 500 mM Zitronensäure konnten derartige Effekte nicht beobachtet werden (siehe Tabelle 4.7). Die Abbindereaktion selbst wird durch das Na_3Zitrat nicht gestört, es gibt keine Verlangsamung der Reaktionskinetik oder einen geringeren Grad der Umwandlung der Zementkomponenten zu Hydroxylapatit, wie es in der Literatur am Beispiel der Zitronensäure schon dokumentiert wurde ^[103]. Die Ursache hierfür ist wahrscheinlich der im Vergleich deutlich niedrigere pH-Wert der Zementpaste (siehe Abbildung 4.11 und Kapitel 2.1, Abbildung 2.1) bei Verwendung von Zitronensäurelösung (pH = 1,7) im Vergleich zum leicht alkalisch reagierenden tri-Natriumzitat (pH = 8,30).

Häufig geht eine Erniedrigung der Viskosität einer Zementpaste mit einer Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften einher, da eine geringere Viskosität oft über einen höheren Anteil der flüssigen Phase erreicht wird. Dieser bedingt dann eine höhere Porosität im ausgehärteten Zement und dadurch eine geringere Stabilität ^[142,191]. In dieser Arbeit konnte erstmals eine verbesserte Injizierbarkeit zusammen mit einer höheren mechanischen Stabilität erreicht werden. Wurde Na_3Zitrat als flüssige Phase verwendet, wiesen die ausgehärteten Zementformulierungen eine um 40 – 50 % höhere Druckfestigkeit auf als solche, die mit Wasser oder Zitronensäure angemischt wurden (siehe Tabellen 4.10 und 4.11). Ein chemischer oder mikrostruktureller Verstärkungsmechanismus kann hier aufgrund der gegenwärtigen Ergebnisse ausgeschlossen werden. Weder konnte mit Hilfe von Röntgendiffraktometrie eine größere Umsetzungsrate zu HA nachgewiesen werden (siehe Tabelle 4.13), noch scheinen Zitrationen in das Kristallgitter eingebaut worden zu sein (FT-IR-Analyse, siehe Abbildung 4.13, Teilbild B). Der Verstärkungseffekt kann am ehesten über die Verringerung der Porosität erklärt werden (siehe Tabelle 4.12). Die Abhängigkeit der mechanischen Stabilität von CPC von der Porosität kann über die exponentielle Beziehung zwischen Festigkeit, Defektgröße und Porosität des Materials beschrieben werden ^[192]. Um die mechanische Festigkeit bestimmen zu können, werden Probenkörper mit definierten Abmessungen unter Variation der Vorlasten aus den angemischten CPC-Pasten hergestellt. Die Kompression während der Anfertigung bewirkt ein Austreiben der

Flüssigkeit aus den Probenkörpern durch den Spalt zwischen Probenform und Stempel, wodurch sich gleichzeitig die Porosität reduzierte. Ohne Vorkompression sind die Druckfestigkeiten stark von dem angewandten P/L-Verhältnis abhängig (siehe Tabelle 4.11). Mit einer 500 mM Na₃zitat-Lösung konnten durch Applikation des Zementes als injizierbare oder knetbare Paste anwendungsnahe Druckfestigkeiten (ohne Vorkompression) zwischen 50 und 67 MPa erreicht werden.

4.2.3 Ausblick

Hohe Zetapotentiale von Apatit-Zementbestandteilen, die durch die Adsorption von mehrfach geladenen Zitrationen an der Grenzfläche fest – flüssig zustande kommen, bewirken die effektive Dispersion der Zementpartikel bei gleichzeitiger Verringerung der Viskosität und substantieller Erhöhung der Injizierbarkeit und Festigkeit. Der beobachtete Verflüssigungseffekt erlaubt eine vollständige Injektion der Zementpasten sogar bei hohen P/L-Verhältnissen. Vorläufige Ergebnisse weisen darauf hin, dass auch andere Calciumphosphate, wie z.B. α - und β -Tricalciumphosphate oder Bruschit ähnliche Änderungen des Zetapotentials zeigen, wenn sie mit tri-Natriumzitat-Lösung kombiniert werden. Dies sollte die Herstellung von vollständig injizierbaren Zementen auf der Basis dieser Materialien ermöglichen. Die starke Steigerung der Festigkeit der Zemente durch Vorkompression der Pasten könnte daneben im klinischen Bereich der Herstellung vorkomprimierter Implantate dienen, die während der Operation mit dem Skalpell zurechtgeschnitten und (nach der Verdichtung) der Defektform direkt angepasst werden können ^[193]. In weiteren Untersuchungen zur Fabrikation solcher hochfester Zemente konnten von Barralet et al. ^[181] Druckfestigkeiten der abgebundenen Matrices von > 180 MPa und damit die Festigkeit kortikalen Knochens durch eine bei Raumtemperatur gebildete keramische Matrix erreicht werden.

4.3 Einfluss der Partikelgrößen-Verteilung im α -TCP-System

Tricalciumphosphat (TCP) liegt bei Raumtemperatur in zwei Modifikationen vor: α -TCP und β -TCP. Beide Hochtemperaturmodifikationen sind in Wasser nur schwer löslich, jedoch stellt α -TCP bei Körpertemperatur noch die deutlich löslichere Form dar (siehe Kapitel 2.1, Tabelle 2.1). In Abhängigkeit der Reaktionsbedingungen wandelt sich α -TCP in wässriger Umgebung zu calciumdefizitärem Hydroxylapatit (CDHA) um ^[194,195,196]. Aus einer solchen α -TCP-Suspension erhält man einen abbindefähigen Zement, wie er zuerst von Driessens et al. und Ginebra et al. beschrieben wurde ^[197,198] (siehe Gleichung 4.4):



Untersucht wurde die Abbindereaktion von einer Feststoffmischung aus α -TCP und 17 % β -TCP mit 2 % gefällttem Hydroxylapatit nach Zusatz einer 2,5 wt% Na_2HPO_4 -Lösung als flüssiger Phase bei 22 °C und 37 °C. Röntgendiffraktometrische Untersuchungen zeigten, dass die Abbindereaktion auf die Hydrolyse von α -TCP zu calciumarmen Hydroxylapatit zurück geführt werden konnte, während der Anteil an β -TCP nicht in die Reaktion mit einging. Nach 24 h waren ca. 80 % des Edukts umgesetzt, die höhere Reaktionsgeschwindigkeit gegenüber den Untersuchungen von Monma und Kanazawa ^[199] wurde auf die unterschiedliche Korngröße des Ausgangsmaterial rückgeführt. Weiterführende Studien beschäftigten sich mit der Beschleunigung der Abbindereaktion des α -TCPs zu CDHA sowie der Modellierung der Umsetzungsrate anhand mathematischer Modelle ^[200,201,202]. Die Abbindereaktion wird dabei initial durch die spezifische Oberfläche des Pulvers kontrolliert, während nach 16 h Reaktionsdauer die Diffusion der Ionen durch die hydratisierte Schicht der Partikel der geschwindigkeitsbestimmende Schritt war. Eine inzwischen etablierte Methode zur Steigerung der Reaktivität und Beschleunigung der Abbindereaktion stellt die so genannte mechanische Aktivierung („high impact grinding“) dar. Diese mechanische Aktivierung lässt sowohl α -TCP als auch β -TCP unter wasserfreien Bedingungen einen Amorphisierungsprozess eingehen. Die so erhaltenen amorphen Produkte bilden in Gegenwart von Wasser abbindefähige Zemente mit sehr unterschiedlichen Eigenschaften ^[46,203,204].

Die Art der flüssigen Phase und ihre Zusammensetzung können für ein Zementssystem entscheidend für die Abbindereaktion und die Produktzusammensetzung sein. Zunächst ermöglicht die flüssige Phase die Entstehung einer verarbeitbaren Paste aus dem Zementpulver, darüber hinaus stellt sie das Reaktionsmedium dar, in dem die (Auf-)Lösung der Zementkomponenten und die nachfolgende Präzipitation des Produktes stattfinden. Je nach

Zusammensetzung können die Bestandteile der flüssigen Phase selbst als Reaktionspartner zur Verfügung stehen. Fungiert die flüssige Phase lediglich als Reaktionsmedium, trägt sie in der Mikrostruktur des abgebundenen Zementes zur Entstehung von Poren bei ^[142]. Je nach Anteil der Poren am Gesamtgefüge des abgebundenen Zementes werden Formkörper unterschiedlicher mechanischer Stabilität erhalten, wobei die durch die Poren induzierte Inhomogenität die Festigkeit des ausgehärteten Zements deutlich herabsetzen kann. Folglich konzentrieren sich viele Versuche zur Steigerung der mechanischen Zementeigenschaften auf die Reduktion des Flüssigkeitsanteils der Zementpaste. Dies kann zum einen physikalisch über eine Komprimierung der Zementpaste erreicht werden ^[205], zum anderen auf chemischem Weg durch die Addition oberflächenaktiver Stoffe und Dispersionsmittel. Da im Falle von Biozementen eine entsprechende Komprimierung direkt am Anwendungsort klinisch nicht praktikabel ist, wurde eine neue Methode entwickelt, um den Wasseranteil in apatitbildenden Zementen zu senken. Bei diesem Verfahren wurden die Partikeloberflächen der Zementkomponenten mit biokompatiblen, monovalenten Salzen von di- und tri-Hydroxycarbonsäuren modifiziert ^[104,181,206]. Durch die Verringerung des Wasseranteils wurde die Viskosität der Zementpaste soweit herabgesetzt, dass die Applikation durch eine Hohlnadel mit manuell applizierbarem Druck ohne Einbußen bei der mechanischen Stabilität möglich war.

Neben der elektrostatischen Aufladung der Zementpartikel ist auch die Partikelgrößenverteilung der Zementpulver von hoher Bedeutung für die rheologischen Eigenschaften der Zementpaste. In der klinischen Praxis sind häufig Mehrkomponentensysteme aus den verschiedensten Calciumphosphaten und auch Zusätzen wie z.B. Calciumcarbonat (CaCO_3 , CC), Magnesiumsulfat (MgSO_4), Natriumpyrophosphat ($\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7$) oder Natriumsilikat gebräuchlich ^[25]. Im vorliegenden Kapitel wurde nun systematisch der Einfluss der Größenverteilung der Zementpartikel auf die rheologischen und mechanischen Eigenschaften untersucht. Als Modellsystem diente ein auf α -TCP basierender Einkomponenten-Zement, der nach mechanischer Aktivierung jeweils mit einem kleinen Anteil biokeramischer Füllstoffe versetzt wurde. Der positive Effekt von tri-Natriumzitat (Na_3 zitat) auf die Dispersion von Partikeln und damit auf die Injizierbarkeit von CPC wurde bereits in Kapitel 4.2 anhand des Zweikomponentensystems TTCP/DCPA (mit fester Zusammensetzung) beschrieben. In der Folge wurde nun überprüft, ob sich die Ergebnisse im TTCP/DCPA-System auf den oben beschriebenen α -TCP-Zement übertragen lassen und wie sich der Zusatz feinkörniger Füllstoffpopulationen auf die Eigenschaften der Zementpaste und der ausgehärteten Zementmatrix auswirkt.

4.3.1 Calciumphosphat-Zemente aus mechanisch aktiviertem α -TCP

Die fünfstündige Festkörperreaktion von Calciumcarbonat (CC) und Dicalciumphosphat Anhydrid (DCPA) im Verhältnis 1:2,15 bei einer Haltetemperatur von 1400 °C führte nach Abschreckung auf Raumtemperatur unter feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen zu phasenreinem, hochkristallinem α -TCP. Das Sintergut hatte eine rein weiße Färbung und wies ähnlich gute Verarbeitungseigenschaften wie die des in vorhergehenden Kapiteln beschriebenen phasenreinen Tetracalciumphosphats (TTCP) auf. Das phasenreine α -TCP wurde in Vorbereitung auf die Zementsynthese trocken gemahlen („mechanische Aktivierung“), bis es eine monomodale Partikelgrößenverteilung mit einer mittleren Partikelgröße von ca. 10 μm aufwies. Zu dem mechanisch aktivierten α -TCP wurden verschiedene, fein gepulverte Additive als Füllstoffe untergemischt, um eine bimodale Partikelgrößenverteilung zu erhalten. Als biokeramische Füllstoffe wurden hierfür CC, DCPA und kommerziell erhältliches Titan(IV)oxid (TiO_2 , Rutil) ausgewählt. Die Additive CC und DCPA wurden für die Zementherstellung jeweils 24 h in Ethanol auf mittlere Korngrößen von 0,72 μm und 1,16 μm gemahlen, der Rutil, mit einer mittleren Partikelgröße von 0,55 μm , wurde dagegen ohne weitere Aufbereitung eingesetzt. Aus dem mechanisch aktivierten α -TCP und den genannten Füllstoffen wurden trockene Zementformulierungen hergestellt. Der jeweilige Anteil der Additive an den Zementmischungen betrug 13 wt%, 23 wt% und 33 wt%, bezogen auf α -TCP. Im Folgenden wird das mechanisch aktivierte α -TCP als α -TCP-Zement bezeichnet.

Um den Einfluss unterschiedlicher flüssiger Phasen auf anwendungsrelevante Eigenschaften wie Abbindeverhalten, Rheologie und mechanische Festigkeiten zu untersuchen, wurden Aqua ad injectabilia, sowie Lösungen aus tri-Natriumzitat Dihydrat (Na_3zitat) und 2,5 wt% Dinatriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) als Abbindebeschleuniger eingesetzt. Als weitere Parameter wurden neben der Konzentration der Additive das Pulver-Lösungsverhältnis (P/L-Verhältnis) und die Vorlast zur Herstellung von Prüfkörpern variiert. Für die Beurteilung des Verformungs- bzw. Fließverhaltens wurde für jede Zementformulierung zunächst das maximal mögliche P/L-Verhältnis bezüglich der eingesetzten flüssigen Phase ermittelt. Als flüssige Phasen dienten eine 2,5 wt% Na_2HPO_4 -Lösung sowie eine Mischlösung aus 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitat (im Molverhältnis von 1:2,84, siehe Kapitel 3.7). Das maximale Anmischverhältnis, bei dem man eine gut verarbeitbare Zementpaste erhielt, betrug für den reinen α -TCP-Zement 3,5/1, unabhängig von der Zugabe von Na_3zitat in der flüssigen Phase. Das Na_3zitat verringerte in diesem Fall - im Gegensatz zu einem reinen TTCP/DCPA-Zement (siehe Kapitel 4.2) - die Menge der benötigten Flüssigkeit kaum. Im Vergleich zur

Zugabe von reiner Na_2HPO_4 -Lösung zeigte die Zementmasse eher ein thixotropes Verhalten, d.h. bei Anmischung mit der Mischlösung war die Viskosität zunächst recht hoch, im weiteren Verlauf der Anmischung wurde die Formulierung aber besser verarbeitbar. Der Einsatz der fein gepulverten Additive mit mittleren Partikelgrößen zwischen $0,55 \mu\text{m}$ und $1,16 \mu\text{m}$ dagegen führte zu einem starken Anstieg des maximal möglichen Anmischungsverhältnisses auf bis zu 5/1 je nach Füllstoffart und -konzentration (siehe Tabelle 4.15).

Tabelle 4.15: Mittlere Partikelgrößen und maximale P/L-Verhältnisse von α -TCP-Zementen unter Variation der flüssigen Phase, des Füllstoffanteils und der Additive

Formulierung	d_{50} [μm]	Additiv [wt%]	2,5 wt% Na_2HPO_4	2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitrat
α -TCP	9,8422	--	3,5	3,5
CaCO_3	0,7244	13	4	4
		23	4,5	5
		33	3,5	3,5
DCPA	1,1608	13	4	4,5
		23	4,5	5
		33	--	5
TiO_2	0,5535	13	4	4
		23	4	4,5
		33	3,5	3,5

Ein Einfluss der Additive auf den pH-Wert angemischter Zementformulierungen konnte kaum festgestellt werden. Alle Werte bewegten sich im Bereich von pH 8 bis 9 während der Abbindezeit in einem Messzeitraum von 400 min. Die Anwesenheit von Na_3zitrat in der flüssigen Phase erhöhte schon in einem TTCP/DCPA-System bei Raumtemperatur die Verarbeitungsdauer von Zementformulierungen, während sie unter physiologischen Bedingungen dagegen innerhalb weniger Minuten oberflächlich aushärteten (siehe Kapitel 4.2). Demzufolge sollte dies auch bei den vorliegenden α -TCP-Zementen zu beobachten sein. Die initialen Abbindezeiten (ST) wurden hier in Gegenwart einer Mischlösung aus 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitrat als flüssiger Phase ermittelt.

Unter physiologischen Bedingungen härtete der reine α -TCP-Zement bei einem P/L-Verhältnis von 3,5/1 oberflächlich innerhalb von 6,5 min aus. Der Einsatz von Füllstoffen hatte bei gleichem Anmischungsverhältnis unterschiedliche Auswirkungen auf die Dauer der Abbindezeit. Im Falle von CC als Additiv verlängerten sich die Abbindezeiten deutlich auf 9 – 14 min, je nach Füllstoffkonzentration und

Anmischungsverhältnis. Der Zusatz von DCPA oder TiO_2 dagegen führte im Allgemeinen zu einer Verkürzung der Abbindezeiten. Die initialen Abbindezeiten wurden bei den α -TCP-Zementen mit Füllstoffen zusätzlich bei den maximal möglichen P/L-Verhältnissen bestimmt (siehe Tabelle 4.15). Die Erniedrigung des Anteils der flüssigen Phase war, wie erwartet, mit einer Beschleunigung der oberflächlichen Aushärtung verbunden (siehe Tabelle 4.16).

Tabelle 4.16: Initiale Abbindezeiten von α -TCP-Zementen unter Variation der Additive, des Füllstoffanteils und der Anmischungsverhältnisse, L = 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitr

Formulierung	Additiv [wt%]	Abbindezeit [min]	
		P/L = 3,5/1	P/L _{max}
α -TCP	--	6,5	--
CaCO_3	13	9	7
	23	11,6	10
	33	14	--
CaHPO_4	13	4	3,3
	23	3,5	2,5
	33	3	2,6
TiO_2	13	6	2,3
	23	5	2,6
	33	3	-

Die Verwendung von Na_3zitr in der flüssigen Phase beeinflusste im Falle eines TTCP/DCPA-Systems nachweislich die Abbindezeit zu Hydroxylapatit (HA) durch Adsorption von Zitraten an den Partikeloberflächen (siehe Kapitel 4.2). Um die Auswirkungen von Zitraten auf das vorliegende α -TCP-System zu prüfen, wurden zunächst die Oberflächenladungen (Zetapotential) der Zementkomponenten in verschiedenen Suspensionsmedien gemessen. Die Zetapotential der vermessenen Partikel bewegten sich hierbei in reinem Wasser in einem Bereich von ca. -17 mV bis -23 mV. Unter Einsatz von 500 mM Na_3zitr -Lösung senkten sich die Werte der Zetapotential, wie erwartet, ab. Bezüglich des mechanisch aktivierten α -TCP, DCPA und CC wurden Werte zwischen ca. -50 mV und -53 mV registriert, für das kommerziell erhältliche TiO_2 -46,9 mV (siehe Tabelle 4.17).

Tabelle 4.17: Partikelgrößen und Zeta-Potentiale von α -TCP, CaCO_3 , DCPA und TiO_2 in verschiedenen Elektrolyten

Komponente	d_{50} (μm)	Zeta-Potential [mV]	
		Wasser	500 mM $\text{Na}_3\text{ziträt}$
α -TCP	9,8422	$-19,4 \pm 2,2$	$-51,5 \pm 1,0$
CaCO_3	0,7244	$-17,3 \pm 1,6$	$-52,8 \pm 2,1$
DCPA	1,1608	$-18,4 \pm 1,9$	$-50,1 \pm 1,0$
TiO_2	0,5535	$-23,1 \pm 2,9$	$-46,9 \pm 1,3$

Diese hohe negative Oberflächenladung ist bei α -TCP-Zementen mit Füllstoffen korrelierbar mit der beobachteten Zunahme des maximal möglichen P/L-Verhältnisses (siehe Tabelle 4.15). Die Kombination der fein gepulverten Additive zusammen mit einer hohen Oberflächenladung in Gegenwart von Zitrationen führte, wie erwartet, zu einer Abnahme der Viskosität bei gegebenem Anmischungsverhältnis. Im Falle des reinen, monomodalen α -TCP-Zementes war ein solcher Zusammenhang nicht erkennbar.

Die beobachtete Abnahme der Viskosität bei α -TCP-Zementen mit Füllstoffen sollte infolge dessen auch zu einer verbesserten Injizierbarkeit führen. Die Injizierbarkeit wurde zunächst am Beispiel von 23 wt% Additiven mit Hilfe einer Universalprüfmaschine untersucht (siehe Abbildung 4.16 und Kapitel 3.5). Obwohl in Falle des reinen α -TCP-Zementes keine Änderung der Viskosität in Gegenwart von Zitrationen registriert werden konnte, wurde er als Vergleich den zweikomponentigen α -TCP-Zementen gegenübergestellt. Als flüssige Phasen wurden Aqua ad injectabilia, eine 2,5 wt% Na_2HPO_4 -Lösung und eine Mischlösung aus 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM $\text{Na}_3\text{ziträt}$ eingesetzt, die Vorschubgeschwindigkeit an der Prüfmaschine betrug 20 mm/min, die maximale Belastung wurde wie im TTCP/DCPA-Zementensystem mit 300 N angesetzt. Für die manuelle Applikation von Zementpasten mittels einer Spritze mit einer 800 μm -Kanüle (innerer Durchmesser) ist dies die maximal aufzuwendende Kraft (siehe auch Kapitel 4.2).

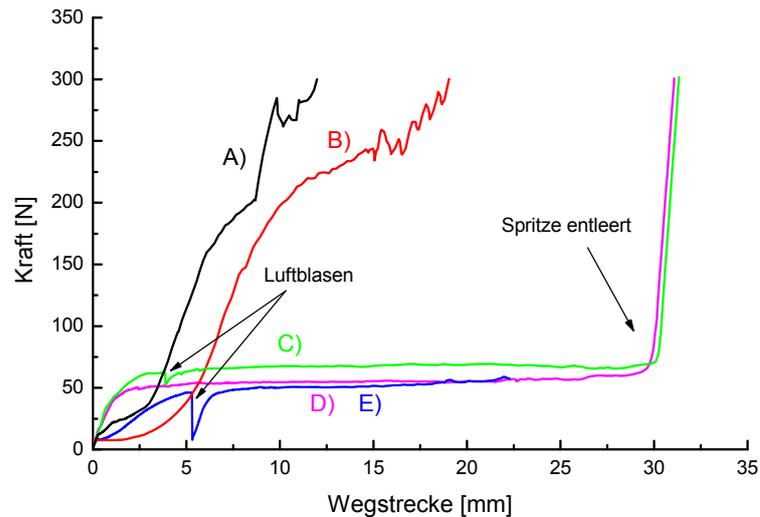


Abbildung 4.16: Kraft-Wegstrecken-Diagramme von α -TCP-Formulierungen, P/L = 3,5/1; A) α -TCP, L = 2,5 wt% Na_2HPO_4 ; B) α -TCP-Zement, C) α -TCP-Zement mit 23 wt% CC, D) mit 23 wt% DCPA, E) mit 23 wt% TiO_2 , B) – E): L = 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitr at und 2,5 wt% Na_2HPO_4

Der einkomponentige, nicht mit Füllstoffen versetzte α -TCP-Zement war in Anwesenheit von Aqua ad iniectabilia oder 2,5 wt% Na_2HPO_4 -Lösung als flüssiger Phase bei einem P/L-Verhältnis von 3,5/1 nur marginal injizierbar (7 %). Ein ähnliches rheologisches Verhalten bzw. Fließverhalten konnte unter Anwendung einer 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitr at-Lösung bei gleichem Anmischungsverhältnis beobachtet werden (zu 35 % injizierbar). In beiden Fällen zeigte sich bei der Untersuchung der Injizierbarkeit an einer Universalprüfmaschine ein schneller, kontinuierlicher Anstieg der zum Auspressen der Paste benötigten Kraft bis hin zur Blockade der verwendeten 800 μm -Kanüle nach 12 mm bzw. 19 mm Wegstrecke. Die Kraft-Wegstrecken-Diagramme der mit Füllstoffen versetzten α -TCP-Formulierungen waren bei einem Anmischungsverhältnis von 3,5/1 in Gegenwart von 500 mM Na_3zitr at dagegen zunächst nur durch einen leichten Anstieg der aufzuwendenden Kraft gekennzeichnet. Diese blieb bei allen Additiven bis zu einer Wegstrecke von ca. 30 mm nahezu konstant (50 – 70 N), um danach schnell auf den Grenzwert von 300 N anzusteigen. An diesem Punkt befand sich keine Zementpaste mehr in der Spritze. Unterbrechungen innerhalb der Verläufe bzw. das kurzzeitige Abfallen der Extrusionskraft konnten, wie schon im TTCP/DCPA-System, mit Luftblasen in der Spritze in Zusammenhang gebracht werden.

Die Auswirkungen von Füllstoffmengen und Anmischungsverhältnissen auf die Viskosität bzw. das Fließverhalten und damit auf die Injizierbarkeit wurden in Bezug auf das Additiv DCPA eingehender analysiert. Um die Vergleichbarkeit mit den vorhergehenden Ergebnissen zu gewährleisten, wurde als flüssige Phase ebenfalls

eine Mischlösung aus 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM $\text{Na}_3\text{ziträt}$ festgelegt. Nach den rheologischen Vorversuchen wurden im Falle des Additivs DCPA als maximal mögliche P/L-Verhältnisse 4,5/1 – 5/1 ermittelt (siehe Tabelle 4.15). Für die genauere Analyse des Fließverhaltens wurde daher als obere Anmischgrenze ein P/L-Verhältnis von 4/1 festgelegt. Bis zu diesem Anmischungsverhältnis war eine sehr gute Verarbeitung und Handhabung der Zementformulierungen zu erwarten. Bei einem konstanten Anmischungsverhältnis von 3,5/1 waren die α -TCP-Formulierungen annähernd quantitativ injizierbar (siehe Tabelle 4.18). Der Füllstoffgehalt variierte hierbei zwischen 13 wt% und 33 wt%. Die anteilmäßige Verringerung der flüssigen Phase resultierte in einem teilweise sehr starken Abfall der Injizierbarkeit. Lediglich die Zementformulierung mit 23 wt% Anteil DCPA zeigte bei einem P/L-Verhältnis von 3,75/1 noch die gewünschten Applikationseigenschaften.

Tabelle 4.18: Injizierbarkeit von α -TCP-Zementen mit dem Additiv DCPA unter Variation des Füllstoffanteils und des P/L-Verhältnisses; L = 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM $\text{Na}_3\text{ziträt}$ -Lösung

P/L	Injizierbarkeit [%]		
	13 wt% DCPA	23 wt% DCPA	33 wt% DCPA
3,5	97,5	96,5	96,8
3,75	10,9	96,0	56,0
4,0	8,7	12,4	9,0

Neben dem Fließverhalten von Zementformulierungen ist vor allem auch die erreichbare mechanische Stabilität ein Kriterium für die erfolgreiche Anwendung der Materialien am Patienten. Prüfungen der mechanischen Eigenschaften finden in der Regel unter Idealbedingungen statt mit einer Kompression der Zementpaste zur Herstellung defektfreier Prüfkörper (siehe Kapitel 3.4.1). Für eine mögliche Anwendung am Patienten müssen die Prüfbedingungen jedoch entsprechend angepasst werden. Um den Einsatz von Zementen am Patienten zu simulieren, wurden speziell angefertigte Silikonformen mit quaderartigen Vertiefungen verwendet. Diese Aussparungen sollten die am Patienten vorhandenen Defekte darstellen. Nach manueller Anmischung (mit dem Spatel) wurden die Zementpasten in die Silikonformen überführt und für den Aushärtungsprozess ohne weitere Kompression nach Anweisung gelagert (siehe Kapitel 3.4.2). Um später bei den Belastungstests die bei ausgehärteten Probenkörpern auftretenden Bruchkräfte vergleichen zu können, waren die Vertiefungen in den Silikonformen standardisiert.

Für die Beurteilung der mechanischen Belastbarkeit wurden reiner α -TCP-Zement und α -TCP-Zemente mit 23 wt% Füllstoff ausgewählt. Als Anmischungsverhältnisse wurden die jeweiligen, maximal möglichen P/L-Verhältnisse festgelegt (siehe Tabelle 4.15). Für den Vergleich mit reinem α -TCP-Zement wurden die α -TCP-Zemente mit Füllstoffen zusätzlich bei einem Anmischungsverhältnis von 3,5/1 geprüft. Die dazu gehörigen Druckfestigkeiten (CS-Werte) der Bruchkörper sind in Abbildung 4.17 dargestellt:

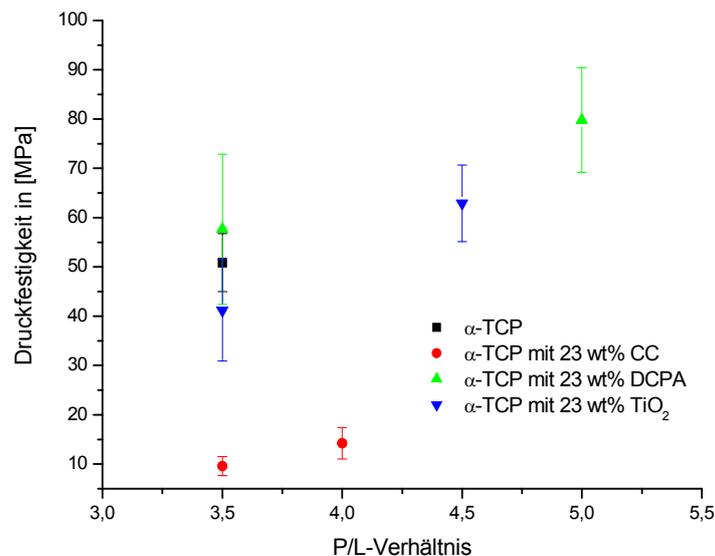


Abbildung 4.17: Druckfestigkeiten mit Standardabweichungen in [MPa] ohne Vorkompression von α -TCP-Zementen mit 23 wt% Füllstoff, Reaktionsdauer 7 d, P/L = 3,5/1 und P/L = P/L_{max}, L = 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM Na_3zitat

Im Falle des reinen α -TCP-Zementes betrug die Druckfestigkeit bei einem P/L-Verhältnis von 3,5/1 ungefähr 50 MPa. Der Einsatz von Füllstoffen hatte bei gleichem Anmischverhältnis keinen signifikanten Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften. In Gegenteil: CC als Füllstoff reduzierte sogar die Belastbarkeit auf unter 10 MPa Druckfestigkeit. Die Verringerung des Flüssigkeitsanteils hatte unter Verwendung der Additive DCPA und TiO_2 dagegen eine Steigerung der mechanischen Belastbarkeit zur Folge. Es wurden Werte von ungefähr 62 MPa für TiO_2 als Additiv und ca. 79 MPa für DCPA als Zusatz registriert.

Aufgrund der niedrigen CS-Werte bei der Präparation von Prüfkörpern ohne Vorkompression wurden die mechanischen Eigenschaften zusätzlich unter Idealbedingungen geprüft (siehe Kapitel 3.4.1). Die Herstellung der Probenkörper erfolgte hierbei mit einer Vorlast von 9 MPa, die Reaktionsdauer wurde auf 7 d festgesetzt (siehe Abbildung 4.18).

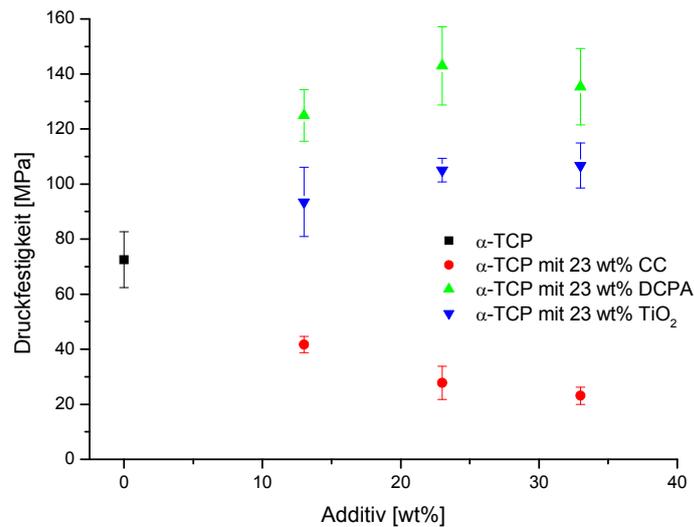


Abbildung 4.18: Druckfestigkeiten von α -TCP-Formulierungen unter Variation der Additive und des Füllstoffanteils, Vorkompression 9 MPa, Reaktionsdauer 7 d, P/L = 3,5/1, L = 500 mM $\text{Na}_3\text{ziträt}$ / 2,5 wt% Na_2HPO_4

Die Druckfestigkeit des reinen α -TCP-Zementes betrug nach 7 d Aushärten ca. 72 MPa. Mit DCPA als Füllstoff stieg der Wert auf mehr als 140 MPa bei 23 wt% Anteil in der Zementformulierung. Unter Verwendung von TiO_2 als Füllstoff konnten maximal 106 MPa Druckfestigkeit bei 33 wt% Anteil an der Formulierung erreicht werden. Überraschenderweise waren die Festigkeiten unter Verwendung von CC als Füllstoff weitaus geringer. Sie bewegten sich in einem Bereich von 23 bis 42 MPa. Selbst eine Vorkompression mit 9 MPa und die lange Aushärtedauer von 7 d konnten die Werte kaum steigern (siehe Abbildung 4.18).

Aufgrund der vorliegenden Ergebnisse wurden zusätzlich die Dichte und damit die Porosität der Formkörper einer Untersuchung unterzogen. Der Anteil der Poren am Gesamtgefüge des abgebundenen Zementes trägt zur mechanischen Stabilität bei. Ein Anstieg der Porosität kann hierbei die mechanische Belastbarkeit deutlich reduzieren. Für diese Analyse wurden zunächst Probenkörper ohne Vorkompression mit jeweils 23 wt% Füllstoff hergestellt, die Reaktionsdauer betrug ebenfalls 7 d, um die Ergebnisse mit den in Abbildung 4.18 aufgeführten CS-Werten korrelieren zu können. Die mit Hilfe der Heliumpyknometrie berechneten Dichten und Porositäten sind in Tabelle 4.19 zusammen gefasst. Die maximal möglichen P/L-Verhältnisse für die verschiedenen Zementformulierungen sind Tabelle 4.15 zu entnehmen.

Tabelle 4.19: Rein- und Rohdichten, sowie Porositäten von Probenkörpern ohne Vorkompression, Füllstoffkonzentration 23 wt%, P/L = 3,5/1 und P/L_{max}, L = 2,5 wt% Na₂HPO₄ / 500 mM Na₃zitrat

Additiv	Reindichte [g/cm ³]		Rohdichte [g/m ³]		Porosität [%]	
	P/L = 3,5/1	P/L _{max}	P/L = 3,5/1	P/L _{max}	P/L = 3,5/1	P/L _{max}
--	1,618 ± 0,006	--	2,924 ± 0,003	--	42,4	--
CC	1,5426 ± 0,006	1,688 ± 0,025	2,798 ± 0,002	2,982 ± 0,002	44,9	39,6
DCPA	1,661 ± 0,005	1,821 ± 0,044	2,822 ± 0,004	2,786 ± 0,004	41,1	35,5
TiO ₂	1,670 ± 0,038	2,062 ± 0,005	3,075 ± 0,002	3,053 ± 0,003	45,3	32,4

Unter der so genannten Rohdichte versteht man die Dichte eines Formkörpers inklusive aller Hohlraumanteile. Die Reindichte dagegen ist die reine Materialdichte (Feststoffdichte) ohne Hohlraumanteile. Die aus den verschiedenen Dichten berechneten Porositäten lagen bei einem P/L-Verhältnis von 3,5/1 zwischen ca. 41 % und 45 %. Für das jeweilige maximal mögliche Anmischverhältnis reduzierten sich die Porositäten auf ca. 32 % bis 39 %. Im Vergleich mit 9 MPa komprimierten Prüfkörpern unter ansonsten gleichen Reaktionsbedingungen und einem Anmischverhältnis von 3,5/1 reduzierten sich die Porositäten bei 23 wt% Füllstoff auf ca. 25 % bis 37 % (siehe Tabelle 4.20).

Tabelle 4.20: Einfluss der Additive auf die Porositäten von Probenkörpern, Vorlast 9 MPa, P/L = 3,5/1, L = 2,5 wt% Na₂HPO₄ / 500 mM Na₃zitrat

Additiv	Porosität [%]			
	-	13 wt%	23 wt%	33 wt%
--	37,0 ± 0,08	--	--	--
CC	--	36,5 ± 1,22	36,6 ± 0,72	38,1 ± 0,87
DCPA	--	29,3 ± 0,94	24,8 ± 1,09	26,9 ± 1,01
TiO ₂	--	33,7 ± 1,29	33,7 ± 0,53	32,8 ± 1,23

Die Verringerung der Porosität steht hier im Zusammenhang mit der Verdrängung der flüssigen Phase während der Vorkomprimierung. Wird die Konzentration des Füllstoffs verändert, lassen sich dagegen keine wesentlichen Unterschiede nachweisen. Die Porositätsdifferenzen im Vergleich der Füllstoffe miteinander sind offenbar im Wesentlichen auf die verschiedenen Rohdichten der Füllstoffe zurück zu führen. Die geringsten Werte für die Porositäten konnten in Zementsystemen, die mit DCPA versetzt und vorkomprimiert worden waren, nachgewiesen werden (25 % – 29 %).

Kennzeichnend für mit 9 MPa vorkomprimierte, ausgehärtete α -TCP-Formulierungen war ein Umsetzungsgrad zu CDHA zwischen 33 % und 86 %. Die Hydrolyse von reinem α -TCP-Zement war nach 7 d Reaktionsdauer nahezu abgeschlossen. Die Phasenzusammensetzungen der Zementformulierungen und der Umsetzungsgrad wurden mit Hilfe der Rietveld-Analyse der entsprechenden Röntgendiffraktogramme bestimmt (siehe Tabelle 4.21). Der Zusatz von Füllstoffen führte in allen Fällen zu einem geringeren Umsetzungsgrad. Der Einsatz von DCPA als Additiv bedingte noch den höchsten Umsetzungsgrad zu CDHA (70,2 %). Im Falle von TiO_2 betrug die Umsetzungsrate zu calciumarmem Apatit nur noch ca. 51 %. Unter Verwendung von CC als Füllmaterial konnte sogar nur noch eine Umsetzungsrate von ca. 33 % festgestellt werden. Die Analyse des jeweils im abgebundenen Zement verbliebenen Füllmaterials ergab eine marginale Involvierung von CC und DCPA in die Abbindereaktion ^[207,208]. Wie erwartet, war TiO_2 nicht an der Abbindereaktion beteiligt.

Tabelle 4.21: Phasenzusammensetzung von α -TCP-Zementen unter Variation der Additive nach 7 d Reaktionsdauer bei 37 °C gemäß Rietveld-Analyse, Füllstoffanteil: 23 wt%, P/L = 3,5/1, L = 2,5 wt% Na_2HPO_4 / 500 mM $\text{Na}_3\text{ziträt}$

Additiv	Umsetzungsgrad zu CDHA [%]	Kristallitgröße CDHA [nm]	Additiv in abgebundenem Zement [wt%]
--	86,2	21,0 ± 0,4	--
CC	33,2	10,0 ± 0,7	20,6
DCPA	70,2	10,9 ± 0,4	18,6
TiO_2	51,4	18,8 ± 0,7	25,9

Zusätzlich zu einem geringeren Umsetzungsgrad führten die Additive auch teilweise zu einer veränderten Mikrostruktur der abgebundenen Zemente (Abbildung 4.19). So bleibt die typische plättchenartige Morphologie der α -TCP Matrix nur bei Zusatz des (unreaktiven) TiO_2 erhalten, während die partiell löslichen Füllstoffe DCPA und CC eine signifikant andere Mikrostruktur mit wesentlich kleineren, sphärischen Kristalliten ergibt.

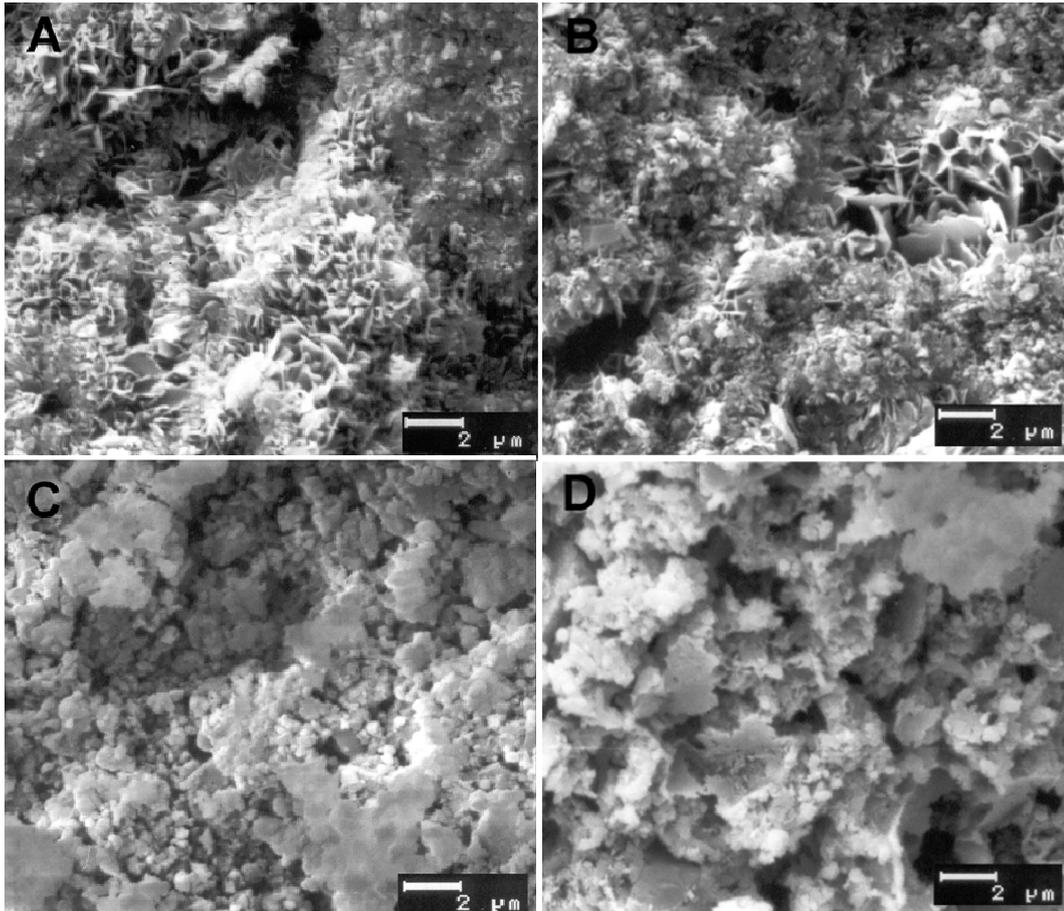


Abbildung 4.19: REM-Aufnahmen ausgehärteter Zementprüfkörper (7 d, 37 °C) bestehend aus A) α -TCP mit Zusatz von 23 wt% an B) TiO_2 , C) CaCO_3 und D) DCPA

4.3.2 Diskussion

Die rheologischen Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen werden, ähnlich wie die frischer Portlandzemente ^[209], von den Partikelgrößen, der Verteilung der Komponenten, dem P/L-Verhältnis sowie der Oberflächenladung der Partikel im Kontakt mit der flüssigen Phase bestimmt. Ein verflüssigender Effekt wird bei Calciumphosphat-Zementen erhalten, wenn Partikelagglomerate durch eine elektrostatische Abstoßung effizient dispergiert werden, etwa durch die Modifikation der flüssigen Phase mit Na_3zitrat . Das Na_3zitrat wird dabei sowohl an den Oberflächen der Zementkomponenten als auch denen des Reaktionsproduktes absorbiert und führt zu einem hohen ζ -Potential (Oberflächenpotential) der einzelnen Partikel und somit zu einer wechselseitigen Abstoßung der Teilchen ^[206]. Erstaunlicherweise führte der Einsatz von Na_3zitrat als flüssiger Phase in dem hier vorliegenden monomodalen α -TCP-System nur zu einer geringfügigen Verringerung der Viskosität. Das höchste P/L-Verhältnis, das für einen mechanisch aktivierten α -TCP-Zement möglich war, betrug 3,5/1. Bezieht man die theoretische Dichte des α -TCP-Zementes in Höhe von $3,05 \text{ g/cm}^3$ ^[210,195] mit ein, korreliert sie mit einem

relativen Volumenanteil von 55 % zum Zeitpunkt der Anmischung. Dieser Wert ist nur geringfügig höher als bei einer einfachen kubischen Packung (52,4 %), der sich nach Gleichung 4.5 errechnen lässt:

$$\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot (r^3/8r^3) \quad (4.5)$$

Im Falle einer zufälligen Packung von kugelförmigen Partikeln einheitlicher Größe wird typischerweise einen Wert von 61 % - 68 % relativem Volumenanteil ^[211], bei einer dicht gepackten Struktur ein Wert von 74 % beobachtet. Dabei ist es möglich den Anteil des festen Volumens zu erhöhen, indem das in einem Zementssystem eingelagerte Wasser partiell durch feste Füllstoffe ersetzt wird. Dafür müssen solche Additive eine geringere Partikelgröße als der Durchmesser des größten kugelförmigen Partikels im Zementssystem aufweisen, damit sie sich in die vorhandenen Zwischenräume einfügen können. Wenn die verschiedenen möglichen Raumanordnungen der Partikel im α -TCP-System betrachtet werden, kann bei einer einfachen kubisch angeordneten Packung der größte kugelförmige Partikel, der in die Zwischenräume des Systems passt, maximal 73 % des Durchmessers der größten Matrixkugel aufweisen. Für Zwischenräume in einer oktagonale angeordneten Packung beträgt der Durchmesser 41 %, für tetrahedrale dagegen 22,5 % des Durchmessers der größten Matrixkugel. Demzufolge können alle Füllstoffe, die hier in dieser Arbeit verwendet wurden, die vorhandenen Zwischenräume ausfüllen, unabhängig von der räumlichen Anordnung der α -TCP-Partikel.

Der Zusatz der feinkörnigen Partikelpopulationen führt dabei sukzessive zu einer Aufweitung der α -TCP-Partikelpackung ^[15]. Bei dem höchsten P/L-Verhältnis von 5/1 sind pro ml Zementvolumen nur noch 39 Vol% α -TCP enthalten. Für den Zusatz von TiO₂ und Calciumcarbonat ergibt ein Füllgrad von 23 % bei einem maximalen P/L-Verhältnis von 4,5/1 einen Volumenanteil von 45 % bzw. 47 % α -TCP an der Zementpaste. Wird auf Basis des Volumenanteils der α -TCP-Matrix und dem mittleren Durchmesser der α -TCP-Partikel bzw. der Füllstoffpartikel (DCPA) der Abstand d der Partikel in der Zementpaste berechnet, erhöht sich der Abstand der α -TCP-Partikel von 1,069 μm auf 2,217 μm für ein konstantes PLR von 3,5/1 bzw. auf 1,649 μm für ein PLR von 5/1. Gleichzeitig sinkt der interpartikuläre Abstand von 1,069 μm (reines α -TCP) sukzessive auf 320 nm (23 % DCPA, PLR 3,5/1) bis 159 nm (23 % DCPA, PLR 5/1) ^[15].

Das vorgestellte Modell ist jedoch stark vereinfacht, da es von monomodalen, kugelförmigen α -TCP-Partikeln mit einfacher kubischer Packung sowie einer homogenen Mischung der unterschiedlich großen Pulverpartikel ausgeht. Dennoch

zeigen sich mit Hilfe dieses vereinfachten Modells zwei wichtige Effekte. Zum einen weitete der Füllstoff die kubische α -TCP-Packung auf, zum anderen verringerte sich durch den Zusatz einer größeren Menge kleinerer Partikel der mittlere Partikelabstand um einen Faktor von ca. 6,5. Diese Reduktion des interpartikulären Abstandes sollte den elektrostatischen Abstoßungseffekt erhöhen ^[104,206]. Tatsächlich konnten unter Verwendung von Additiven und Na₃zitrat als flüssiger Phase statt Wasser die P/L-Verhältnisse im Vergleich zu reinem α -TCP-Zement erhöht werden, was als Erklärung für die Verbesserung der Injizierbarkeit angesehen wird. Das höhere PLR hat gleichzeitig eine geringere Porosität der abgebundenen Zemente zur Folge. Hiermit einhergehend stieg die Festigkeit der Zemente signifikant an, obwohl die Umsetzungsrate zu CDHA als ein festigkeitsbestimmender Parameter ^[46] durch den Zusatz der Füllstoffe verringert wurde. Da die mechanische Festigkeit exponentiell von der relativen Dichte abhängig ist ^[212], konnte innerhalb der hier untersuchten Bereiche nachgewiesen werden, dass die mechanische Stabilität mehr von der Porosität als vom Umsetzungsgrad zum Reaktionsprodukt abhängt.

Diese Ergebnisse indizieren erstaunlicherweise, dass die Füllstoffe in der Lage sind, eher Ladung von der Matrix zu transferieren, anstatt als Defektstellen im Zementgefüge zu fungieren. Die röntgendiffraktometrischen Untersuchungen bestätigen weitgehend das Fehlen einer Reaktion der Additive während des Abbindeprozesses. Das hier präsentierte Basismodell schließt allerdings lediglich die Situation direkt nach dem Anmischen ein. In der Realität liegen die Zementsysteme als „Dreikomponenten-Suspension“ aus mechanisch aktiviertem α -TCP, Füllstoff und ausgefälltem, nanokristallinem CDHA vor. In diesem System blieb nur die Partikelgröße des Füllstoffs konstant, während sich das α -TCP sukzessive auflöste und die CDHA-Kristalle langsam wuchsen. Trotz allem sind die hier beobachteten Effekte nicht nur immens wichtig für die Festigkeitssteigerung mechanisch aktivierter Zementsysteme, sondern auch für das Verständnis von schon intensiv untersuchten zweikomponentigen, säurebasierten Systemen wie dem von TTCP und DCPA. Die Reaktanten beeinflussen hierbei nicht nur die Abbindereaktion und die Umsetzungsrate durch Freisetzung von Ca²⁺, HPO₄²⁻ und CO₃²⁻, sondern der physikalische Unterschied bezüglich der Partikelgröße zwischen Matrix und Füllstoff bestimmt die Rheologie der Zementpaste durch eine effizientere Packung der Partikel. Es ist jedoch notwendig, in weiteren Untersuchungen die Grenzen dieser Effekte weiter zu bestimmen und den minimalen Reaktionsgrad (z.B. die maximale, effektive Verdünnung durch Zusatz von Füllstoffen) zu untersuchen.

4.3.3 Ausblick

In dieser Arbeit konnte am Beispiel des einkomponentigen, mechanisch aktivierten α -TCP-Systems zum ersten Mal gezeigt werden, dass der interpartikuläre Abstand in der Zementpaste entscheidend für eine effektive ionische Modifikation mit Na_3Zitrat zur Viskositätserniedrigung ist. Die Optimierung des interpartikulären Abstands durch die Verwendung eines weitgehend inerten Füllstoffs kann zu signifikanten Festigkeitssteigerungen und Verringerung der Viskosität führen. Das weitere Verständnis und die Anwendung dieses Effektes sind vielversprechend bezüglich der Entwicklung weiterer Verbesserungen in diesen bei Raumtemperatur abbindenden biokeramischen Systemen. Solche geringviskosen Systeme, die hochdichte anorganische Produkte erzeugen, sind ebenfalls von größtem Interesse im Bereich der Biomimetik und Beschichtung metallischer Prothesen. ^[213,214]

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit der Verbesserung der mechanischen Stabilität mineralischer Knochenzemente aus Calciumorthophosphaten (CPC) in Kombination mit ihrer Injizierbarkeit. In einem ersten Ansatz zur Steigerung der Festigkeit erfolgte dabei die Dotierung des Zementdukts TTCP mit verschiedenen biokompatiblen Oxiden (SiO_2 , TiO_2 , ZrO_2) vor der Sinterung. Dies führte zur Bildung von Calciummetallaten (CaTiO_3 , CaZrO_3) und einer Herabsetzung der Löslichkeit der TTCP-Komponente des Zements. Gegenüber einem oxidfreien Zement konnte hierbei die Druckfestigkeit von 65 MPa auf 80 MPa (SiO_2) bzw. 100 MPa (TiO_2) gesteigert werden; für den Zusatz von ZrO_2 wurde keine signifikante Änderung der mechanischen Eigenschaften erhalten. Die als kristalline Phase vorhandenen Calciummetallate zeigten keine Reaktivität während der Abbindereaktion der Zemente, als Ursache für die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften wurde die langsamer ablaufende Abbindereaktion mit einer besseren Verfilzung der Zementkristallite identifiziert.

Ein zweiter Ansatz, zur Verbesserung der Injizierbarkeit, betrachtete die Wechselwirkungen der Partikeloberflächen mit der flüssigen Zementphase. Durch biokompatible Additive sollte eine repulsive elektrostatische Wechselwirkung eingestellt werden, um Partikelagglomerate effektiv zu dispergieren und eine verflüssigende Wirkung zu erreichen. Als geeignet erwiesen sich Additive aus Zitronensäure bzw. Alkalizitrat als pharmakologisch unbedenkliche Verbindungen. Die Injizierbarkeit eines Zements aus TTCP und DCPA durch eine Kanüle mit 800 μm Durchmesser konnte durch die Verwendung von tri-Natriumzitat-Lösung (100 mM – 500 mM) als wässriger Phase aufgrund einer deutlichen Herabsetzung der Viskosität der Zementpaste signifikant gesteigert werden. Während mit einer Kraft von 300 N ein mit Wasser angemischter Zement (P/L-Verhältnis 3,3 g/ml) nur zu 60 % aus der Spritze gepresst werden konnte, war bei Verwendung von 500 mM tri-Natriumzitat (Na_3zitat) als Anmischflüssigkeit eine quantitative Extrusion bei einer Kraft von 20 N möglich (> 95 %). Mit der Verringerung der Viskosität einhergehend wurde eine Steigerung der Festigkeit der Zemente beobachtet. Während der Zement mit Wasser als flüssiger Phase eine Druckfestigkeit von 80 MPa unter validierten Bedingungen (Vorkompression 2,7 MPa) aufwies, wurde bei Verwendung von 500 mM Na_3zitat -Lösung eine Steigerung der Druckfestigkeit auf 130 MPa erhalten. Ein Vergleich der Festigkeit unter anwendungsnahen Bedingungen ohne Kompression der Zementpaste zeigte ebenfalls wesentlich höhere Druckfestigkeiten mit Natriumzitat (67 MPa) gegenüber der mit Wasser (18 MPa). Die Steigerung der Festigkeit ist hierbei vor allem auf eine Reduktion der Porosität durch die verringerte Flüssigkeitsmenge zurück zu führen. Ein „chemischer“ Effekt durch Modifikation der

Kristallstruktur von HA durch die Zitrationen konnte ausgeschlossen werden. Eine Analyse der mehrfach mit Wasser gewaschenen Zemente durch FT-IR-Spektroskopie ergab keinen Hinweis auf das Vorhandensein von Zitrationen. Der verflüssigende Effekt von Na₃zitrat wurde auf eine Erhöhung des Zeta-Potentials der Partikeloberfläche im Elektrolytkontakt zurückgeführt. So lag das Zeta-Potential für Calciumphosphatpartikel in reinem Wasser bei ca. -10 mV bis -20 mV und stieg auf Werte um -50 mV in tri-Natriumzitat-Lösung an. Die elektrostatische Aufladung führte zu einer gegenseitigen Abstoßung der Partikel in der Zementpaste, so dass Partikelagglomerate (speziell die feinkörnigen DCPA Partikel) suspendiert wurden und hierbei eine dichtere Packung der Zementpartikel bei geringerem Flüssigkeitsbedarf erzielt werden konnte.

Abschließend wurde der Einfluss der Partikelgrößenverteilung auf die Festigkeit und Injizierbarkeit einer α -TCP mit monomodaler Partikelgrößenverteilung ($d_{50} = 9,84 \mu\text{m}$) basierten Zementmatrix untersucht. Hierzu wurden unreaktive, feinkörnige Füllstoffpopulationen (TiO_2 , CaHPO_4 , CaCO_3) mit Korngrößen zwischen $0,55 - 1,16 \mu\text{m}$ in Konzentrationen von 13 – 33 wt% der Matrix zugesetzt und systematisch deren Effekt in Verbindung mit einer Partikelaufladung durch tri-Natriumzitat auf die rheologischen und mechanischen Eigenschaften untersucht. Die Injizierbarkeit des Zements änderte sich sehr stark mit der Zugabe kleiner Teilchen. Bei Zementen aus reinem α -TCP, hohem Zeta-Potential und einem P/L-Verhältnis von 3,5 g/ml konnten mit 300 N nur ca. 35 % des Zements durch eine 800 μm Kanüle ausgepresst werden. Mit Zusatz feiner Füllstoffteilchen wurde die Zementviskosität stark erniedrigt und es konnte die Zementpaste quantitativ unter gleichen Bedingungen ausgepresst werden. Ursächlich war eine Verringerung der Packungsdichte des α -TCPs, verknüpft mit einer Verkleinerung des interpartikulären Abstands der Zementpartikel und damit einhergehender Verstärkung des elektrostatischen Abstossungseffekts. Mit Vorkompression der Zementpaste konnte die Festigkeit der reinen α -TCP-Matrix (72 MPa) auf 142 (105) MPa nach Modifikation mit 23 wt% CaHPO_4 (TiO_2) gesteigert werden. Durch Reduktion der zur Pastenformung notwendigen Flüssigkeitsmenge konnte ebenfalls eine Festigkeitssteigerung ohne Vorkompression erreicht werden, so ergab α -TCP mit monomodaler Größenverteilung bei einem maximalen P/L-Verhältnis von 3,5 g/ml eine Druckfestigkeit von 50 MPa nach Aushärtung. Der Zusatz von 23 wt% CaHPO_4 ermöglichte ein maximales P/L-Verhältnis von 5 g/ml mit einer Druckfestigkeit von 80 MPa, begründet durch die geringere Porosität der Zemente. Solche derart optimierten mineralischen Zementssysteme sollten für den minimalinvasiven Einsatz in gering kraftbelasteten Bereichen des Skelettsystems geeignet sein.

6. SUMMARY

In this thesis an improvement of the mechanical strength of calcium phosphate bone cements in combination with a lower cement paste viscosity for better injectability was investigated.

A first approach to improve the mechanical stability consisted in adding several biocompatible oxides (SiO_2 , TiO_2 , ZrO_2) during the fabrication process of tetracalcium phosphate (TTCP). The formation of additional phases (CaTiO_3 and CaZrO_3) leads to a decrease of the solubility of the oxide doped tetracalcium phosphates. The cements based on tetracalcium phosphates mixed with SiO_2 and TiO_2 exhibit a significant increase of the compressive strengths – from 65 MPa for pure TTCP/DCPA cement up to values of 80 MPa (SiO_2) and 100 MPa (TiO_2). In contrast, nearly no change in mechanical behaviour was found when zirconia was added. X-ray diffraction measurements showed that the additional crystalline phases were not involved in the setting reactions. A mechanical reinforcement effect resulting from changes in the thermodynamic or kinetic solubilities of doped tetracalcium phosphates might lead to slower HA crystal formation and a more cross-linked cement structure.

A second approach to decrease the viscosity of CPC pastes considered the interactions between the particle surfaces and the liquid cement phase. To disperse agglomerates and improve the injection properties of CPC, biocompatible components were added to the liquid phase. These biocompatible components consisted of citric acid or trisodium citrate. In the case of trisodium citrate (100 mM – 500 mM) the adsorption properties of citrate ions lead to repulsive electrostatic interactions between the particles in the cement paste. As a result the injection properties of the TTCP/DCPA cement improved significantly. In comparison to a cement mixed with water at a powder to liquid (P/L) ratio of 3.3 g/ml the replacement of water by 500 mM trisodium citrate solution changed the viscosity of the cement paste to a point, where complete injectability (> 95%) through an 800 mm diameter hypodermic needle could be achieved at low loads. An improvement of the mechanical strength was observed simultaneously. The cement mixed with water showed a compressive strength of 80 MPa under ASTM standard testing methods (pre-compaction of 2.7 MPa and a 9 MPa constant load). In contrast, the use of 500 mM trisodium citrate solution resulted in cements which are almost 100 % stronger (130 MPa) than cements made with water. Without pre-compaction the effect is more pronounced – the compressive strength shows about 370 % higher values with trisodium citrate solution (67 MPa instead of 18 MPa). The liquefying effect of sodium citrate was caused by a strong increase in the surface charge of

both the reactants and the product as determined by zeta-potential measurement. The resulting repulsive electrostatic interactions lead to a dispersion of agglomerates, a reduction of the amount of liquid and, in consequence, a lower porosity and improved mechanical characteristics.

In order to transfer the results of a multi-constituent cement to a single reactive component cement, different fine-particle-sized fillers ($d_{50} = 0.55 \mu\text{m} - 1.16 \mu\text{m}$) were added to mechanically activated, monomodal α -tricalcium phosphate (α -TCP) cement ($d_{50} = 9.84 \mu\text{m}$). The inert fillers dicalcium phosphate anhydrous (DCPA), titanium dioxide (TiO_2) and calcium carbonate (CC) were added to the α -TCP-matrix in concentrations between 13 wt% and 33 wt%. For an effective ionic modification a 500 mM trisodium citrate solution was used as liquid phase as in the aforementioned TTCP/DCPA cement system. As expected, a high ζ -potential was measured for all the single components (α -TCP, DCPA, TiO_2 , CC) in trisodium citrate solution in comparison to water as liquid phase. In contrast, the use of trisodium citrate solution instead of water in a TTCP/DCPA cement system did not decrease the viscosity of the mechanically activated pure α -TCP cement paste. At a powder to liquid ratio of 3.3 g/ml only 35 % of the cement paste was injectable through an 800 μm diameter hypodermic needle at high loads (300 N). The use of fillers in combination with 500 mM trisodium citrate solution changed the cement viscosity to a point, where complete injectability could be obtained at low loads. Mechanistically, the α -TCP particle packing was disrupted by the additives and the interparticle spacing decreased by a factor of ~ 5.5 ; thereby enhancing the electrostatic repulsion effect. A strength improvement was found when DCPA and TiO_2 were used as fillers despite the lower degree of conversion of these cements in comparison to that of pure α -TCP cement at a P/L ratio of 3.3 g/ml. Pre-compacted cement samples (9 MPa) show an increase of the compressive strength from 72 MPa for unfilled α -TCP cement up to values of 142 MPa and 105 MPa for 23 wt% DCPA and TiO_2 fillers. The clinically more relevant uncompacted cements achieve higher mechanical strengths by higher powder-to-liquid ratio mixes for filled cements. A maximum strength of 80 MPa is obtained for 23 wt% DCPA additive at a P/L ratio of 5 g/ml compared with 50 MPa for single-component α -TCP cement.

7. LITERATURVERZEICHNIS

-
- [1] Mittelmeier H., Mittelmeier W., Gleitz M. "Xenogenic deproteinized bone substitute Pyrost: Experimental basics and 13 years of clinical experience in more than 1000 cases", *Orthopäde* **1998**, 27, 126-135.
- [2] Ng V. Y. "Risk of disease transmission with bone allograft", *Orthopedics* **2012**, 35, 679-681.
- [3] Claes L., Hoelen I., Ignatius A. "Biodegradable bone cements", *Orthopäde* **1997**, 26, 459-462.
- [4] Conrad E. U., Gretch D. R., Obermeyer K. R., Moogk M. S., Sayers M., Wilson J. J., Strong D. M. "Transmission of the hepatitis-c virus by tissue-transplantation", *J. Bone Joint Surg. Am.* **1995**, 77, 214-224.
- [5] Dorozhkin S. V. "Calcium Orthophosphate Cements and Concretes", *Materials* **2009**, 2, 221-291.
- [6] Dorozhkin S. V. "Self-Setting Calcium Orthophosphate Formulations: Cements, Concretes, Pastes and Putties", *Inter. J. Mater. Chem.* **2011**, 1, 1-48.
- [7] LeGeros R. Z., Chohayeb A., Shulman A. "Apatitic calcium phosphates: possible dental restorative materials", *J. Dent. Res.* **1982**, 61: Spec. Iss., 343 .
- [8] Brown W. E., Chow L. C. "A new calcium phosphate setting cement", *J. Dent. Res.* **1983**, 62, Spec. Iss., 672.
- [9] Faour O., Dimitriou R., Cousins C. A., Giannoudis P. V. "The use of bone graft substitutes in large cancellous voids: Any specific needs?", *Injury-Int. J. Care Injured* **2011**, 42, S87-S90.
- [10] Wolff K. D., Swaid S., Nolte D., Bockmann R. A., Holzle F., Muller-Mai C. "Degradable injectable bone cement in maxillofacial surgery: indications and clinical experience in 27 patients", *J. of Cranio-Maxillofac. Surg.* **2004**, 32, 71-79.
- [11] Ginebra M. P., Canal C., Espanol M., Pastorino D., Montufar E. B. "Calcium phosphate cements as drug delivery materials", *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2012**, 64, 1090-1110.
- [12] Lacout J., Mejdoubi E., Hamad M. "Crystallization mechanisms of calcium orthophosphate cement for biological uses", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1996**, 7, 371-374.
- [13] Song Y., Feng Z., Wang T. "In situ study on the curing process of calcium phosphate bone cement", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2007**, 18, 1185-1193.
- [14] Xia Z., Grover L. M., Huang Y., Adamopoulos I. E., Gbureck U., Triffitt J. T., Shelton R. M., Barralet J. E. "In vitro biodegradation of three brushite calcium phosphate cements by a macrophage cell-line", *Biomaterials* **2006**, 27, 4557-4565.
- [15] Gbureck U. „Injizierbare Calciumphosphat-Zemente als Knochenersatzwerkstoff in niedrig belasteten Bereichen des Skelettsystems", Habilitationsschrift Universität Würzburg **2005**.
- [16] Smartt J. M., Karmacharya J., Gannon F. H., Ong G., Jackson O., Bartlett S. P., Poser R. D., Kirschner R. E. "Repair of the immature and mature craniofacial skeleton with a carbonated calcium phosphate cement: assessment of bio-compatibility, osteoconductivity and remodeling capacity", *Plast. Reconstr. Surg.* **2005**, 115, 1642-1650.
- [17] Sinikovic B., Kramer F. J., Swennen G., Lubbers H. T., Dempf R. "Reconstruction of orbital wall defects with calcium phosphate cement: clinical and histological findings in a sheep model", *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* **2007**, 36, 54-61.
- [18] Aral A., Yalçın S., Karabuda Z. C., Anil A., Jansen J. A., Mutlu Z. "Injectable calcium phosphate cement as a graft material for maxillary sinus augmentation: an experimental pilot study", *Clin. Oral Implants Res.* **2008**, 19, 612-617.
- [19] Friedman C. D., Costantino P. D., Takagi S., Chow L. C. "BoneSource™ hydroxyapatite cement, a novel biomaterial for craniofacial skeletal tissue engineering and reconstruction", *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, 43, 428-432.
- [20] Schmitz J. P., Hollinger J. O., Milam S. B. "Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: a critical review", *J. Oral Maxillofac. Surg.* **1999**, 57, 1122-1126.

- [21] Lewis G. "Viscoelastic properties of injectable bone cements for orthopaedic applications: State-of-the-art review", *J. Biomed. Mater. Res. B* **2011**, *98*, 171-191.
- [22] Jaeblo T. "Polymethylmethacrylate: Properties and Contemporary Uses in Orthopaedics", *J. Am. Acad. Orthop. Surg.* **2010**, *18*, 297-305.
- [23] Heini P. F. „Vertebroplastie: ein Update“, *Orthopäde* **2010**, *39*, 658–664.
- [24] Grafe I. A., Baier M., Noldge G. et al. "Calcium phosphate and polymethylmethacrylate cement in long-term outcome after kyphoplasty of painful osteoporotic vertebral fractures", *Spine* **2008**, *33*, 1284-1290.
- [25] Bohner M. "Design of ceramic-based cements and putties for bone graft substitution", *Europ. Cell Mater.* **2010**, *20*, 1-12.
- [26] Hewlett P. C. Lea's "Chemistry of Cement and Concrete" - 4th edition. Arnold, London, **1998**.
- [27] Internet-Link: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1993L0042:20071011:de:PDF>.
- [28] Müller G. O. „Lehrbuch der angewandten Chemie“, S. Hirzel Verlag, Leipzig **1988**, S. 242.
- [29] Elliott J. C. "Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates", Amsterdam – London – New York – Tokyo: Elsevier, **1994**.
- [30] Dorozhkin S. V. "Calcium Orthophosphates: Applications in Nature, Biology, and Medicine", Pan Stanford Publishing; 1 edition, **2012**. SEITE?
- [31] Holzapfel B. M., Reichert J. C., Schantz J. T., Gbureck U., Rackwitz L., Nöth U., Jakob F., Rudert M., Groll J., Hutmacher D. W. "How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view", *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **2012**; doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2012.07.009>.
- [32] Gregory T. M., Moreno E. C., Brown W. E.: "Solubility of $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in the System $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5, 15, 25 and 37.5 °C", *J. Res. Nat. Bur. Stand.* **1968**, *74(A)*, 773-782.
- [33] Wenisch S., Stahl J. P., Horas U., Heiss C., Kilian O., Trinkaus K., Hild A., Schnettler R. "In vivo mechanisms of hydroxyapatite ceramic degradation by osteoclasts: Fine structural microscopy", *J. Biomed. Mater. Res. A* **2003**, *67*, 713-718.
- [34] Hamdan Alkhraisat M., Moseke C., Blanco L., Lopez-Carbacos E., Barralet J. E., Gbureck U. "Strontium modified biocements with zero order release kinetics", *Biomaterials* **2008**, *29*, 4691-4697.
- [35] Cama G., Gharibi B., Saif Sait M., Knowles J. C., Lagazzo A., Romeed S., Di Silvio L., Deb S. "Novel method of forming micro and macroporous monetite cements", *J. Mater. Chem. B* **2013**, *7*, 958-969; doi:10.1039/C2TB00153E.
- [36] Bermudez O., Boltong M. G., Driessens F. C. M., Planell J. A. "Development of an octacalcium phosphate cement", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1994**, *5*, 144-146.
- [37] Chow L. C., Markovic M., Takagi S.: "Calcium Phosphate Cements" in Cements Research Progress **1997**, ed. L. J. Struble, Westerville, OH; *The Am. Ceram. Soc.* **1998**, pp. 215-238.
- [38] Bohner M. "Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements", *Injury* **2000**, *31*, 37-47.
- [39] Ginebra M. P., Driessens F. C. M., Planell J. A. "Effect of the particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: a kinetic analysis", *Biomaterials* **2004**, *25*, 3453-3462.
- [40] Cho S. H., Hwang I. S., Lee J. K., Oh K. S., Kim S. R., Chung Y. C. "Effects of TCP particle size distribution on TCP - TTCP - DCPD bone cement system", *Key Engin. Mater.* **2004**, 254-256, 217-220.
- [41] Camire C. L., Saint-Jean S. J., McCarthy I., Hansen S., Lidgren L. "Study of particle size dependant reactivity in an α -TCP orthophosphate cement", *Key Engin. Mater.* **2004**, 254-256, 269-272.

-
- [42] Markovic M., Takagi S., Kim D., Chow L. C. "Effects of particle size and cement liquid composition on calcium phosphate cement properties", *J. Dent. Res.* **1997**, *76: Spec. Iss.*, 2942-2942.
- [43] Sanin N., Takagi S., Chow L. C., Matsuya S. "Particle size effects on pH and strength of calcium phosphate cement", IADR **1991**, Abstract No. 2411.
- [44] Otsuka M., Matsuda Y., Suwa Y., Fox J. L., Higuchi W.I. "Effect of particle size of metastable calcium phosphates on mechanical strength of a novel self-setting bioactive calcium phosphate cement", *J. Biomed. Mater. Res.* **1995**, *29*, 25-32.
- [45] Hofmann M. „Physikalische Charakterisierung von Calciumphosphat-Pulvern zur Einstellung von Prozessparametern für die Herstellung von Knochenzement“, Dissertation, Universität Würzburg, **2003**.
- [46] Gbureck U., Grolms O., Grover L. M., Barralet J. E., Thull R. "Mechanical activation of β -Tricalcium phosphate and cement formation with Na_2HPO_4 solution", *Biomaterials* **2003**, *24*, 4123-4131.
- [47] Grigorieva T. F., Barinova A. P., Lyakhov N.Z. "Mechanosynthesis of nanocomposites", *J. Nanoparticle Res.* **2003**, *5*, 439-453.
- [48] Weeber A. W., Bakker H. "Amorphisation by ball milling: a review", *Physica B* **1988**, *153*, 93-122.
- [49] Boldyrev V. V. "Mechanochemistry and mechanical activation of solids", *Bulletin of the academy of sciences of the USSR* **1990**, *39*, 2029-2044.
- [50] Gbureck U., Barralet J. E., Hofmann M., Thull R. "Mechanical Activation of Tetracalcium Phosphate", *J. Am. Ceram. Soc.* **2004**, *87*, 311-313.
- [51] Gbureck U., Thull R., Barralet J. E. "Alkali ion substituted calcium phosphate cement formation from mechanically activated reactants", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2005**, *16*, 423-427.
- [52] Zawacki S. J., Koutsoukos P. B., Salimi N. H., Nancollas G. H. "The growth of calcium phosphates" in: Davis J. A., Hayes K. F. (eds): "Geochemical processes at mineral surfaces", *Am. Chem. Soc. Symp. Series* **1996**, *323*, 650-662.
- [53] Fulmer M. T., Brown P. W. "Effects of Na_2HPO_4 and NaH_2PO_4 on hydroxyapatite formation", *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, *27*, 1095-1102.
- [54] Ishikawa K., Miyamoto Y., Takechi M., Ueyama Y., Suzuki K., Nagayama M., Matsumura T. "Effects of neutral sodium hydrogen phosphate on setting reaction and mechanical strength of hydroxyapatite putty", *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *44*, 322-329.
- [55] Chow L. C., Markovic M., Takagi S. "Formation of hydroxyapatite in cement systems: Effects of phosphate", *Phosphorous, Sulfur and Silicon and the related Elements* **1999**, *146*, 129-132.
- [56] Hassan K. A. R. "The microelectrophoretic behaviour of sparingly soluble salts", MS thesis. Suny, Buffalo, **1984**.
- [57] Bohner M., Lemaitre J., Ring T. A. "Effect of sulfate, pyrophosphate, and citrate ions on the physicochemical properties of cements made of beta-tricalcium phosphate-phosphoric acid-water mixtures", *J. Am. Ceram. Soc.* **1996**, *79*, 1427- 1434.
- [58] Bohner M., Merkle H. P., Van Landuyt P., Trophardiy G., Lemaitre J. "Effect of several additives and their admixtures on the physico-chemical properties of a calcium phosphate cement", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2000**, *11*, 111-116.
- [59] Fukase Y., Eanes E. D., Takagi S., Chow L. C., Brown W. E. "Setting reactions and compressive strength of calcium phosphate cements", *J. Dent. Res.* **1990**, *69*, 1852-1856.
- [60] Lui C., Shen W., Gu Y., Hu L. "Mechanism of hardening process for a hydroxyapatite cement", *J. Biomed. Mater. Res.* **1997**, *35*, 75-80.
- [61] Posset U., Löcklin E., Thull R., Kiefer W. "Vibrational spectroscopic study of tetracalcium phosphate in pure polycrystalline form and as a constituent of a self-setting bone cement", *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *40*, 640-645.

- [62] Kouassi M., Michalesco P., Lacoste-Armynot A., Boudeville P. "Antibacterial effect of a hydraulic calcium phosphate cement for dental applications", *J. Endodont.* **2003**, 29, 100-103.
- [63] El Briak H., Durand D., Nurit J., Munier S., Pauvert B., Boudeville P. "Study of a hydraulic dicalcium phosphate dihydrate/calcium oxide-based cement for dental applications", *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, 63, 447-453.
- [64] De Maeyer E. A. P., Verbeeck R. M. H., Vercruyssen C. W. J. "Conversion of octacalcium phosphate in calcium phosphate cements", *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, 52, 95-106.
- [65] Fulmer M. T., Martin R. I., Brown P. W. "Formation of Calcium Deficient Hydroxyapatite at Near-Physiological Temperature", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1992**, 3, 299-305.
- [66] Ginebra M. P., Fernandez E., Driessens F. C. M., Boltong M. G., Muntasell J., Font J., Planell J. A. "The effects of temperature on the behaviour of an apatitic calcium phosphate cement", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1995**, 6, 857-860.
- [67] Ginebra M. P., Fernandez E., De Maeyer E. A. P., Verbeeck R. M. H., Boltong M. G., Driessens F. C. M., Ginebra J., Planell J. A. "Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement", *J. Dent. Res.* **1997**, 76, 905-912.
- [68] Durucan C., Brown P. W. "alpha-Tricalcium phosphate hydrolysis to hydroxyapatite at and near physiological temperature", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2000**, 11, 365-371.
- [69] Gbureck U., Barralet J. E., Hofmann M., Thull R. "Nanocrystalline Tetracalcium Phosphate Cements", *J. Dent. Res.* **2004**, 83, 425-428.
- [70] Gbureck U., Knappe O., Grover L. M., Barralet J. E. "Antimicrobial properties of potassium and sodium substituted Calcium Phosphate Cements", *Biomaterials* **2005**, 26, 6880-6886.
- [71] Driessens F. C. M., Boltong M. G., de Maeyer E. A. P., Wenz R., Nies B., Planell J. A. "The Ca/P range of nanoapatitic calcium phosphate cements", *Biomaterials* **2002**, 23, 4011-4017.
- [72] Bermudez O., Boltong M. G., Driessens F. C. M., Ginebra M. P., Fernandez E., Planell J. A. "Chloride-containing and alkali-containing calcium phosphates as basic materials to prepare calcium phosphate cements", *Biomaterials* **1994**, 15, 1019-1023.
- [73] Driessens F., DeMayer E., Fernandez E. et al. "Amorphous calcium phosphate cements and their transformation into calcium deficient hydroxyapatite", *Bioceramics* **1996**, 9, 231-234.
- [74] Lee D. D., Rey C., Aiolova M., Tofighi A. "Methods and products related to the physical conversion of reactive amorphous calcium phosphate", US Patent No. 6'117'456, **1996**.
- [75] Lee D. D., Rey C., Aiolova M. "Synthesis of reactive amorphous calcium phosphates", US Patent No 5683461, **1995**.
- [76] Mirtichi A. A., Lemaitre J., Munting E. "Calcium phosphate cements: action of setting regulators on the properties of the beta-tricalcium phosphate – monocalcium phosphate cements", *Biomaterials* **1989**, 10, 634-638.
- [77] Lemaitre J., Munting E., Mirtichi A. A. "Setting, hardening and resorption of calcium phosphate hydraulic cements", *Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.* **1992**, 93, 163-65.
- [78] Boudeville P., Serraj S., Leloup J. M., Margerit J., Pauvert B., Terol A. "Physical properties and self-setting mechanism of calcium phosphate cements from calcium bis-dihydrogenophosphate monohydrate and calcium oxide", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1999**, 10, 99-109.
- [79] Bohner M., Gbureck U. "Thermal reactions of brushite cements", *J. Biomed. Mater. Res. Part B* **2008**, 84B, 375-385.
- [80] Andrianjatovo H., José F., Lemaitre J. "Effect of β -TCP granulometry on setting time and strength of calcium phosphate hydraulic cements", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1996**, 7, 34-39.
- [81] Pittet C., Grasso P., Lemaitre J. "Influence of raw powder granulometry on the mechanical properties of a calcium phosphate cement", *Key Engin. Mater.* **2002**, 206-212, 1555-1558.
- [82] Großardt C., Ewald A., Grover L. M., Barralet J. E., Gbureck U. "Passive and active in vitro resorption of low temperature calcium and magnesium phosphate ceramics by osteoclastic cells", *Tissue Engineering Part A* **2010**, 16, 3687-3695.

- [83] Constantz B. R., Barr B. M., Ison I. C., Fulmer M. T., Baker J., McKinney L., Goodman S. B., Gunasekaran S., Delaney D. C., Ross J., Poser R. D. "Histological, Chemical, and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit osseous sites", *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *43*, 451-461.
- [84] Grover L. M., Knowles J. C., Fleming G. J. P., Barralet J. E. "In vitro ageing of brushite calcium phosphate cement", *Biomaterials* **2003**, *24*, 4133-4141.
- [85] Ohura K., Bohner M., Hardouin P., Lemaitre J., Pasquier G., Flautre B. "Resorption of, and bone formation from, new beta-tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements: an in vivo study", *J. Biomed. Mater. Res.* **1995**, *30*, 193-200.
- [86] Frayssinet P., Ginestre L., Conte P., Fages J., Rouquet N. "Short-term implantation effects of a DCPD-based calcium phosphate cement", *Biomaterials* **1998**, *19*, 971-977.
- [87] Lu X. J., About I., Stephan G., van Landuyt P., Dejou J., Fioocchi M. et al. "Histological and biomechanical studies of two bone colonisable cements in rabbits", *Bone* **1999**, *25*, 41S-45S.
- [88] Flautre B., Delecourt C., Blary M. C., van Landuyt P., Lemaitre J., Hardouin P. "Volume effect on biological properties of a calcium phosphate hydraulic cement: experimental study in sheep", *Bone* **1999**, *25*, 35S-39S.
- [89] Flautre B., Maynou C., Lemaitre J., van Landuyt P., Hardouin P. "Bone colonisation of β -TCP granules incorporated in brushite cements", *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomat.* **2002**, *63*, 413-417.
- [90] Apelt D., Theiss F., El-Warrak A. O., Zlinszky K., Bettschart-Wolfisberger R., Bohner M., Matter S., Auer J. A., von Rechenberg B. "Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement", *Biomaterials* **2004**, *25*, 1439-1451.
- [91] Kuemmerle J. M., Oberle A., Oechslin C., Bohner M., Frei C., Boecken I., von Rechenberg B. "Assessment of the suitability of a new brushite calcium phosphate cement for cranioplasty - an experimental study in sheep", *J. Cranio-Maxillofac. Surg.* **2005**, *33*, 37-44.
- [92] Theiss F., Apelt D., Brand B., Kutter A., Zlinszky K., Bohner M., Matter S., Frei C., Auer J. A., von Rechenberg B. "Biocompatibility and resorption of a brushite calcium phosphate cement", *Biomaterials* **2005**, *26*, 4383-4394.
- [93] Habibovic P., Gbureck U., Doillon C. J., Bassett D. C., van Blitterswijk C. A., Barralet J. E. "Osteoconduction and induction of low temperature 3D printed bioceramic implants", *Biomaterials* **2008**, *29*, 944-953.
- [94] Tamimi F., Torres J., Lopez-Cabarcos E., Bassett D. C., Habibovic P., Luceron E., Barralet J. E. "Minimally invasive maxillofacial vertical bone augmentation using brushite based cements", *Biomaterials* **2009**, *30*, 208-216.
- [95] Wen C. Y., Qin L., Lee K. M., Chan K. M. "The use of brushite calcium phosphate cement for enhancement of bone-tendon integration in an anterior cruciate ligament reconstruction rabbit model", *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomat.* **2009**, *89B*, 466-474.
- [96] Larsson S., Bauer T. W. "Use of injectable calcium phosphate cement for fracture fixation: a review", *Clin. Orthop. Rel. Res.* **2002**, *395*, 23-32.
- [97] Low K. L., Tan S. H., Zein S. H. S., Roether J. A., Mourino V., Boccaccini A.R. "Calcium phosphate-based composites as injectable bone substitute materials", *J. Biomed. Mater. Res. B* **2010**, *94B*, 273-86.
- [98] Habib M., Baroud G., Gitzhofer F., Bohner M. "Mechanisms underlying the limited injectability of hydraulic calcium phosphate paste", *Acta Biomaterialia* **2008**, *4*, 1465-1471.
- [99] Bohner M., Baroud G. "Injectability of calcium phosphate pastes", *Biomaterials* **2005**, *26*, 1553-1563.
- [100] Scheidegger A. E. "Hydrodynamics in porous media" in: Flügge S: „Handbuch der Physik“, Vol. 8/2, Springer, Berlin **1962**, S. 625-662.
- [101] Ginebra M. P., Rilliard A., Fernandez E., Elvira C., San Roman J., Planell J. A. "Mechanical and rheological improvement of α -calcium phosphate cement by the addition of a polymeric drug", *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *57*, 113-118.

- [102] Leroux L., Hatim Z., Freche M., Lacout J. L. "Effects of various adjuvants (lactic acid, glycerol and chitosan) on the injectability of a calcium phosphate cement", *Bone* **1999**, 25, 31-34.
- [103] Sarda S., Fernandez E., Nilsson M., Balcells M., Planell J. A. "Kinetic study of citric acid influence on calcium phosphate bone cements as water reducing agent", *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, 61, 653-659.
- [104] Gbureck U., Barralet J. E., Grover L. M., Spatz K., Thull R. "Ionic Modification of Calcium Phosphate Cement Viscosity Part I: Hypodermic injection and strength improvement of apatite cements", *Biomaterials* **2004**, 25, 2187-2195.
- [105] Gbureck U., Spatz K., Thull R., Barralet J. E. "Rheological enhancement of mechanically activated α -tricalcium phosphate cements", *J. Biomed. Mater. Res.* **2005**, 73B, 1-6.
- [106] Habib M., Baroud G., Galea L., Bohner M. "Evaluation of the ultrasonication process for injectability of hydraulic calcium phosphate pastes", *Acta Biomaterialia* **2012**, 8, 1164-1168.
- [107] Sariibrahimoglu K., Leeuwenburgh S. C. G., Wolke J. G. C., Li Y. B., Jansen J. A. "Effect of calcium carbonate on hardening, physicochemical properties, and in vitro degradation of injectable calcium phosphate cements", *J. Biomed. Mater. Res. A* **2012**, 100A, 712-719.
- [108] Xue Z. L., Zhang H., Jin A. M., Ye J. D., Ren L., Ao J. et al. "Correlation between degradation and compressive strength of an injectable macroporous calcium phosphate cement", *J. Alloys Compounds* **2012**, 520, 220-225.
- [109] Perut F., Montufar E. B., Ciapetti G., Santin M., Salvage J., Traykova T., et al. « Novel soybean/gelatine-based bioactive and injectable hydroxyapatite foam: Material properties and cell response", *Acta Biomaterialia* **2011**, 7, 1780-1787.
- [110] Pina S., Torres P. M. C., Ferreira J. M. F. "Injectability of brushite-forming Mg-substituted and Sr-substituted alpha-TCP bone cements", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2010**, 21, 431-438.
- [111] Qi X. P., Ye J. D. "Mechanical and rheological properties and injectability of calcium phosphate cement containing poly (lactic-co-glycolic acid) microspheres", *Mater. Sci. & Engin. C-Mater. Biological Appl.* **2009**, 29, 1901-1906.
- [112] Hesarakı S., Zamanian A., Moztarzadeh F. "Effect of adding sodium hexametaphosphate liquefier on basic properties of calcium phosphate cements", *J. Biomed. Mater. Res. A* **2009**, 88A, 314-321.
- [113] Wang X., Ye J., Wang H. "Effects of additives on the rheological properties and injectability of a calcium phosphate bone substitute material", *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.* **2006**, 78, 259-264.
- [114] Komath M., Varma H. K. "Development of a fully injectable calcium phosphate cement for orthopaedic and dental applications", *Bull. Mater. Sci.* **2003**, 26, 415-422.
- [115] Sarda S., Fernandez E., Llorenz J., Martinez S., Nilsson M., Planell J. A. „Rheological Properties of an apatitic bone cement during initial setting“, *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **2001**, 12, 905-909.
- [116] Combes C., Tadier S., Galliard H., Girod-Fullana S., Charvillat C., Rey C., et al. "Rheological properties of calcium carbonate self-setting injectable paste", *Acta Biomater* **2010**, 6, 920-927.
- [117] Hu G.F., Xiao L.W., Fu H., Bi D.W., Ma H.T., Tong P.J. "Study on injectable and degradable cement of calcium sulphate and calcium phosphate for bone repair", *J Mater Sci.: Mater. Med.* **2010**, 21, 627-634.
- [118] Wang X., Chen L., Xiang H., Ye J. „Influence of Anti-Washout Agents on the Rheological Properties and Injectability of a Calcium Phosphate Cement“, *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* **2007**, 81B, 410-418.
- [119] Burguera E. F., Xu H. H. K., Weir M. D. "Injectable and rapid-setting calcium phosphate bone cement with dicalcium phosphate dehydrate", *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* **2006**, 77B, 126-134.
- [120] Rocha Alves H. L., dos Santos L. A., Bergmann C. P. "Injectability evaluation of tricalcium phosphate bone cement", *J. Mater. Sci: Mater. Med.* **2008**, 19, 2241-2246.

-
- [121] Khairoun I., Boltong M. G., Diressens F. C. M., Planell J. A. "Some factors controlling the injectability of calcium phosphate bone cements", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1998**, *9*, 425-428.
- [122] Spieß L., Teichert G., Schwarzer R., Behnken H., Genzel C. „Moderne Röntgenbeugung“, Vieweg + Teubner, GWV Fachverlage Wiesbaden, **2009**, 2. Auflage, S. 73.
- [123] Massa W. „Kristallstrukturbestimmung“, Vieweg + Teubner, Springer Fachmedien Wiesbaden, **2011**, 7. Auflage, S. 27.
- [124] Spieß L., Teichert G., Schwarzer R., Behnken H., Genzel C. „Moderne Röntgenbeugung“, Vieweg + Teubner, GWV Fachverlage Wiesbaden, **2009**, 2. Auflage, S. 220.
- [125] Allmann R. „Röntgenpulverdiffraktometrie“, Springer Verlag Berlin **2003**, 2. Auflage, S. 84.
- [126] Mie G. „Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen“, *Annalen der Physik*, **1908**, *330*, 377-445.
- [127] ASTM-Standard C266-99: "Standard test method for time of setting of hydraulic cement paste by Gilmore needles", ASTM International, **2002**.
- [128] Chow L. C., Hirayama S., Takagi S., Parry E. "Diametral tensile strength and compressive strength of a calcium phosphate cement: effect of applied pressure", *J. Biomed. Mater. Res.: Appl. Biomater.* **2000**, *53*, 511-517.
- [129] Grolms O. „Mechanische Aktivierung und Zementbildung von Beta-Tricalciumphosphat“, Dissertation Universität Würzburg, **2005**.
- [130] Hench L. L. "Ceramics, glasses, and composites in medicine", *Med. Instrum.* **1973**, *7*, 136-144.
- [131] Hench L. L., Anderson O. "Bioactive glasses" in: Hench L. L., Wilson J. (Eds.), "Advanced Series in Ceramics: Volume 1, An Introduction to Bioceramics", Singapore, World Scientific, **1993**, 41-62.
- [132] Vert M., Li S. M., Spenlehauer G., Guerni P. "Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1992**, *3*, 432-446.
- [133] Costantino P. D., Friedman C. D., Jones K., Chow L. C., Sisson G. A., "Experimental hydroxyapatite cement cranioplasty", *Plas. Reconstr. Surg.* **1992**, *90*, 174-185.
- [134] Kamerer D. B., Hirsch B. E., Snyderman C. H., Costantino P., Friedman C. D. "Hydroxyapatite cement: a new method for achieving watertight closure in transtemporal surgery", *Am. J. Otol.* **1994**, *15*, 47-49.
- [135] Fukase Y., Eanes E. D., Takagi S., Chow L. C., Brown W. E. "Setting reactions and compressive strength of calcium phosphate cements", *J. Dent. Res.* **1990**, *69*, 1852-1856.
- [136] Fernandez E., Best S. M., Planell J. A., Bonfield W. "Synthesis of dahllite through a cement setting reaction", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1998**, *9*, 789-792.
- [137] Fernandez E., Planell J. A., Best S. M. "Precipitation of carbonated apatite in the cement system $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{-Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\text{-CaCO}_3$ ", *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *47*, 466-471.
- [138] Mirtchi A. A., Lemaitre J., Terao N. "Calcium-phosphate cements - study of the beta-tricalcium phosphate - monocalcium phosphate system", *Biomaterials* **1989**, *10*, 475-480.
- [139] Fulmer M. T., Brown P. W. "Effects of temperature on the formation of hydroxyapatite", *J. Mater. Res.* **1993**, *8*, 1687-1696.
- [140] Xie L., Monroe E. A. "Calcium Phosphate Dental Cements", *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.* **1991**, *179*, 25; doi: <http://dx.doi.org/10.1557/PROC-179-25>.
- [141] Ishikawa K., Takagi S., Chow L. C., Ishikawa Y. "Properties and mechanisms of fast-setting calcium-phosphate cements", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1995**, *6*, 528-533.
- [142] Ishikawa K., Asoaka K. "Estimation of ideal mechanical strength and critical porosity of calcium phosphate cement", *J. Biomed. Mater. Res.* **1995**, *29*, 1537-1543.
- [143] Diressens, F.C.M.; Planell, J.A.; Boltong, M.G.; Khairoun, I.; Ginebra, M.P. "Osteotransductive bone cements", *Proc. Inst. Mech. Eng. H: J. Eng. Med.* **1998**, *212*, 427-435.

-
- [144] Wintermantel E., Ha S. W. „Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen“, Springer Verlag, Berlin, 2008, S. 274.
- [145] Dembski, S. „Untersuchungen von Löslichkeit metalloxidotierter Tetracalciumphosphate für in situ härtende Knochenzemente“, Bericht zum Fortgeschrittenenpraktikum, Fakultät für Chemie und Pharmazie, Universität Würzburg, **2001**.
- [146] Ritschel, K., „Dotierung von Tetracalciumphosphat mit biokompatiblen Additiven zur Steigerung der mechanischen Festigkeit von Calciumphosphat-Knochenzement“, Dissertation, Universität Würzburg, **2006**.
- [147] Reilly D. T., Burstein A. H. “The elastic and ultimate properties of compact bone tissue”, *J. Biomech.* **1975**, *8*, 393–405.
- [148] Wintermantel E., Ha S. W. „Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen“, Springer Verlag, Berlin, **2008**, S. 272.
- [149] Rapacz-Kmita A., Slosarczyk A., Pasziewicz Z., Paluch D. “Evaluation of Hap-ZrO₂ composites and monophase Hap bioceramics. In vitro study”, *J. Mater. Sci. Let.* **2004**, *39*, 5865-5867.
- [150] Wintermantel E., Ha S. W. „Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen“, Springer Verlag, Berlin, **2008**, S. 1456.
- [151] Saravanapavan P., Jones J. R., Verrier S., Beilby R., Shirliff V. J., Hench L. L. et al. “Binary CaO-SiO₂ gel-glasses for biomedical applications”, *Bio-Medical Materials and Engineering.* **2004**, *14*, 467-486.
- [152] Wilson J., Douek E., Rust K. “Bioglass middle ear devices: Ten year clinical results”, *Bioceramics 8*, Wilson J., Hench L. L., Greenspan D. (eds.), Elsevier Science Ltd., Florida, USA, **1995**, 239-245.
- [153] Eichner K., Kappert H. F. „Zahnärztliche Werkstoffe und ihre Verarbeitung“, Hüthig Verlag, Heidelberg, **1996**.
- [154] Faltermeier A. „Modifikation dentaler Polymere mittels hochenergetischer Elektronenbestrahlung“, Dissertation, Medizinische Fakultät Regensburg, **2004**.
- [155] Suzuki Y., Kondo N., Ohji T. „Reactive Synthesis of a Porous Calcium Zirconate / Spinel Composite with Idiomorphic Spinel Grains“, *J. Am. Ceram. Soc.* **2003**, *86*, 1128-1131.
- [156] Nadler M. R., Fitzsimmons E. S. “Preparation and Properties of Calcium Zirconate” *J. Am. Ceram. Soc.* **1955**, *38*, 214–217.
- [157] Nils Wiberg “Holleman-Wiberg - Lehrbuch der Anorganischen Chemie”, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 1995, 101. Auflage, S. 933.
- [158] Glasser F. P. „The Chemistry of Cements – Volume 2“, Editor: Taylor H. F. W., Academic Press London, 1964, S. 141.
- [159] Trömel G., Harkort H.-J., Hotop W., „Untersuchungen im System CaO-P₂O₅-SiO₂“, *Zeitschrift für anorganische Chemie* **1948**, *256*, 253-348.
- [160] Eitel W., „The Physical Chemistry of the Silicates“, The University of Chicago Press, Chicago, **1954**, S. 827.
- [161] Chow L.C., Takagi S., “Calcium phosphate hydroxyapatite precursors and methods for making and using the same”, US-Patent, No. 30,709, **1996**.
- [162] Frigioine G., Marra S. “Relationship between particle size distribution and compressive strength in portland cement”, *Cem. Concr. Res.* 1976, *6*, 113-127.
- [163] Kveton J. F., Friedman C. D., Piepmeier J. M., Constantino P. D. “Reconstruction of suboccipital craniectomy defects with hydroxyapatite cement: a preliminary report”, *Laryngoscope* **1995**, *105*, 156–159.
- [164] Kveton J. F., Friedman C. D., Constantino P. D. “Indications for hydroxyapatite cement reconstruction in lateral skull base surgery”, *Am. J. Otol.* **1995**, *16*, 465–469.

-
- [165] Otsuka M., Matsuda Y., Suwa Y., Fox J. L., Higuchi W. I. "Effect of particle size of metastable calcium phosphates on mechanical strength of a novel self-setting bioactive calcium phosphate cement", *J. Biomed. Mater. Res.* **1995**, 29, 25–32.
- [166] Reilly D. T., Burstein A. H. "The elastic and ultimate properties of compact bone tissue", *J. Biomech.* **1975**, 8, 393–405.
- [167] Wintermantel E., Ha S. W. „Biokompatible Werkstoffe und Bauweisen“, Springer Verlag, Berlin, **1996**, 178–182.
- [168] Mallon T. „Bauchemie“, 1. Auflage, Vogel Verlag, Würzburg, **2005**, S. 154.
- [169] Berlemann U., Ferguson S. J., Nolte L. P., Heini P. F. „Adjacent vertebral failure after vertebroplasty. A biomechanical investigation“, *J. Bone Joint Surg. Br.* **2002**, 84, 748–752.
- [170] Grados F., Depriester C., Cayrolle G. et al. "Long-term observations of vertebral osteoporotic fractures treated by percutaneous vertebroplasty", *Rheumatology (Oxford)* **2000**, 39, 1410–1414.
- [171] Bohner M. "Theoretical considerations on the injectability of calcium phosphate cements", Proceedings on the 17th European Conference on Biomaterials, Barcelona, Spain, **2002**. p. 124.
- [172] Brecevic L., Furedi-Milhofer H. "Precipitation of calcium phosphates from electrolyte solutions V. The influence of citrate ions", *Calcif. Tissue Int.* **1979**, 28, 131–136.
- [173] Tenhuisen K. S., Brown P. W. "The effects of citric and acetic acids on the formation of calcium deficient hydroxyapatite at 38°C", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1994**, 5, 291–298.
- [174] Van der Houwen J. A. M., Valsami-Jones E. "The application of calcium phosphate precipitation chemistry to phosphorous recovery: the influence of organic ligands", *Environ Technol.* **2001**, 22, 1325–1335.
- [175] Dai H. L., Yan Y. H., Feng L. Y., Li S. P., He J. H. "Basic properties of calcium phosphate cement containing different concentrations of citric acid solution", *Trans. Non-Ferrous Metal Soc. China* **2002**, 12, 475–479.
- [176] Sicherheitsdatenblatt Carl Roth, Verordnung EG Nr. 1907/2006, 21.02.2012.
- [177] Willmes A. „Taschenbuch chemische Substanzen“, Harry Deutsch Verlag, Frankfurt a.M. **2001**, S. 699.
- [178] TOPAS Tutorial Quantitative Analysis, Users Manual, Karlsruhe: Bruker AXS; **2001**.
- [179] Khairoun I., Driessens F. C. M., Boltong M. G., Planell J. A., Wenz R. "Addition of cohesion promoters to calcium phosphate cements", *Biomaterials* **1999**, 20, 393–398.
- [180] Weiss P., Gauthier O., Bouler J. M., Grimandi G., Daculsi G. "Injectable bone substitutes using a hydrophilic polymer", *Bone* **1999**, 25, 67S-70S.
- [181] Barralet, J. E., Hofmann, M., Grover, L. M., and Gbureck, U. "High strength apatitic cement by modification with α -hydroxy acid salts", *Adv. Mater.* **2003**, 15, 2091-2095.
- [182] Barralet J. E., Tremayne M. J., Lilley K. J., Gbureck U. "Chemical modification of calcium phosphate cements with α -hydroxy acids and their salts", *Chem. Mater.* **2005**, 17, 1313-1319.
- [183] Mueller R. H. „Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis“, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart, **1996**.
- [184] Suzuki T., Yamamoto T., Toriyama M., Nishizawa K., Yokogawa Y., Mucalo M. R., Kawamoto Y., Nagata F., Kameyama T. "Surface instability of calcium phosphate ceramics in tissue culture medium and the effect on adhesion and growth of anchorage-dependent animal cells", *J. Biomed. Mater. Res.* **1997**, 34, 507–517.
- [185] Ducheyne P., Kim C. S., Pollack S. R. "The effect of phase differences on the time-dependent variation of the zeta-potential of hydroxyapatite", *J. Biomed. Mater. Res.* **1992**, 26, 147–168.
- [186] Gbureck U., Probst J., Thull R. "Surface properties of calcium phosphate particles for self-setting bone cements", *J. Biomol. Eng.* **2002**, 19, 51–55.

- [187] Willmes A. „Taschenbuch chemische Substanzen“, Harry Deutsch Verlag, Frankfurt a.M. **2001**, S. 297 ff, S. 699.
- [188] Willmes A. „Taschenbuch chemische Substanzen“, Harry Deutsch Verlag, Frankfurt a.M. **2001**, S. 699.
- [189] Sicherheitsdatenblatt Carl Roth, Verordnung EG Nr. 1907/2006, 23.01.2013.
- [190] Atkins P. W. „Physikalische Chemie“, 2. korr. Druck der 1. Auflage, VCH-Verlag, Weinheim **1990**, S. 669.
- [191] Barralet J. E., Gaunt T., Wright A. J., Gibson I. R., Knowles J. C. “Effect of porosity reduction by compaction on compressive strength and microstructure of calcium phosphate cement”, *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, 63, 1-9.
- [192] Takahashi T., Yamamoto M., Ioku K., Goto S. “Relationship between compressive strength and pore structure of hardened cement pastes”, *Adv. Cem. Res.* **1997**, 9, 25-30.
- [193] Hofmann M.P., Gbureck U., Duncan C.O., Dover M.S., Barralet J.E. “Carvable calcium phosphate bone substitute material”, *J. Biomed. Mater. Res. Part B-Appl. Biomater.* **2007**, 83B(1), 1-8.
- [194] Li Y., Zhang X., de Groot K. “Hydrolysis and phase transition of alpha-tricalcium phosphate”, *Biomaterials* **1997**, 18, 737–741.
- [195] Leamy P., Brown P. W., TenHuisen K., Randall C. “Fluoride uptake by hydroxyapatite formed by the hydrolysis of α -tricalcium phosphate”, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, 42, 458–464.
- [196] TenHuisen K. S., Brown P. W. “Formation of calcium-deficient hydroxyapatite from α -tricalcium phosphate”, *Biomaterials* **1998**, 19, 2209 –2217.
- [197] Driessens F. C. M., Boltong M. G., Planell J. A., Bermudez O., Ginebra M. P., Fernandez E. “A new apatitic calcium phosphate bone cement: preliminary results”, In: Ducheyne P, Christiansen D, editors. *Bioceramics 6*. London: Butterworth-Heinemann; **1993**. p 469–472.
- [198] Ginebra M. P., Fernandez E., Driessens F. C. M., Boltong M. G., Muntasell J., Font J., Planell J. A. “The effects of temperature on the behaviour of an apatitic calcium phosphate cement”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1995**, 6, 857–860.
- [199] Monma H., Kanazawa T. “The hydration of α -tricalcium phosphate”, *J. Ceram. Soc. Jpn (Yogo Kyokaishi)* **1976**, 84, 209 –213.
- [200] Ginebra M., Fernandez E., Boltong M. G., Driessens F. C. M., Ginebra J., De Maeyer E. A. P., Verbeeck R. M. H., Planell J. A. “Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement”, *J. Dent. Res.* **1997**, 76, 905–912.
- [201] Ginebra M. P., Fernandez E., Boltong M. G., Driessens F. C. M., Planell J. A. “Influence of the particle size of the powder phase in the setting and hardening behaviour of a calcium phosphate cement”, In: Sedel L, Rey C, editors. *Bioceramics, Vol. 10, Proceedings of the 10th International Symposium on Ceramics in Medicine*; **1997** Oct 5–9; Paris, France. New York: Elsevier Science; **1997**. p 481–484.
- [202] Ginebra M. P., Fernandez E., Driessens F. C. M., Planell J. A. “Modeling the hydrolysis of α -tricalcium phosphate”, *J. Am. Ceram. Soc.* **1999**, 82, 2808–2812.
- [203] Gbureck U., Barralet J. E., Radu L., Klinger H. G., Thull R. “Amorphous α -tricalcium phosphate: preparation and aqueous setting reaction”, *J. Am. Ceram. Soc.* **2004**, 87, 1126–1132.
- [204] Barralet J. E., Gbureck U., Grover L. M., Thull R. “Mechanically induced phase transformation of α/β -tricalcium phosphate”, *Key Eng. Mater.* **2004**, 254-256, 277-280.
- [205] Barralet J. E., Gaunt T., Wright A. J., Gibson I. R., Knowles J. C. “Effect of porosity reduction by compaction on compressive strength and microstructure of calcium phosphate cement”, *J. Biomed. Mater. Res.* **2002**, 63, 1-9.
- [206] Barralet J. E., Gbureck U., Grover L. M. “Ionic modification of calcium phosphate cement viscosity. Part II. Hypodermic injection and strength improvement of brushite cements”, *Biomaterials* **2004**, 25, 2197-2203.

-
- [207] Fernandez E., Gil F. J., Best S. M., Ginebra M. P., Driessens F. C. M., Planell J. A. "The cement setting reaction in the CaHPO_4 - α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ system: an X-ray diffraction study", *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *42*, 403-406.
- [208] Fernandez E., Gil F. J., Ginebra M. P., Driessens F. C. M., Planell J. A., Best S. M. "Production and characterisation of new calcium phosphate bone cements in the CaHPO_4 - α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ system: pH, workability and setting times", *J. Mater. Sci.: Mater. Med.* **1999**, *10*, 223-230.
- [209] Banfill P. G. F. "The rheology of fresh cement and concrete — a review", Proceedings of the 11th International Cement Chemistry Congress, May **2003**, Durban.
- [210] Elliott J. C. "Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates", New York: Elsevier, **1994**, p 6.
- [211] Torquato S., Truskett T. M., Debenedetti P. G. "Is random close packing of spheres well defined?", *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *84*, 2064-2067.
- [212] Gbureck U., Thull R. „Mechanische und rheologische Eigenschaften mineralischer Knochenzemente“, *BIOmaterialien* **2005**, *6*, 287-296.
- [213] Gower L. B., Odom D. J. "Deposition of calcium carbonate films by a polymer induced liquid precursor (PILP) process", *J. Cryst. Growth* **2000**, *20*, 719-734.
- [214] Cölfen H. "Precipitation of carbonates: recent progress in controlled production of complex shapes", *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* **2003**, *8*, 23-31.

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen Personen herzlich bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre:

Mein besonderer Dank gilt dem leider schon verstorbenen Herrn Prof. Dr.-Ing. Roger Thull, dem ehemaligen Leiter des Lehrstuhls für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnheilkunde. Ihm verdanke ich eine sehr interessante und anwendungsorientierte wissenschaftliche Arbeit, die ich nun während meiner Genesungsphase mit der freundlichen Unterstützung von Herrn Prof. Dr. Jürgen Groll, dem heutigen Direktor des Lehrstuhls für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnheilkunde, zu einem erfolgreichen Abschluss bringen kann.

Herrn Dekan Prof. Dr. Utz Fischer und dem Promotionssausschuss danke ich für das Verständnis für meine gesundheitliche Situation und für die Möglichkeit meine Promotion jetzt abzuschließen.

Bedanken möchte ich mich ebenfalls bei Herrn Prof. Dr. Gerd Müller, meinem vorhergehenden fakultätsinternen Betreuer und ehemaligen Leiter des Fraunhofer Instituts für Silicatchemie Würzburg und dem Lehrstuhl für Silicatchemie, durch dessen bereitwillige Übernahme der Betreuung die Anfertigung dieser Arbeit erst möglich wurde, für seine wissenschaftlichen Anregungen und seine moralische Unterstützung während meiner Genesungsphase. Herrn Prof. Dr. Gerhard Sextl, Leiter des Fraunhofer Instituts für Silicatchemie und des Lehrstuhls für Chemische Technologie der Materialsynthese, gilt mein Dank für die Übernahme des Zweitgutachtens.

Sehr herzlich möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Uwe Gbureck bedanken, Lehrstuhl für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnheilkunde, der durch seine intensive fachliche und moralische Unterstützung zum Gelingen der Arbeit entscheidend beigetragen hat.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. Volker Behr, Lehrstuhl für Experimentelle Physik V, der mich während meiner langen Krankheit immer in jeglicher Hinsicht unterstützt und aufgebaut hat. Er gab mir durch sein freundliches Angebot, meine Dissertation in seinem Büro zu schreiben, die Gelegenheit, im Rahmen meiner Möglichkeiten wieder an einem Arbeitsalltag teilzunehmen, wodurch ich meinem Ziel, wieder voll arbeitsfähig zu werden, ein Stück näher gekommen bin.

Für ihren unermüdlichen Einsatz im Labor und den damit geleisteten Beitrag zu dieser Dissertation danke ich meiner damaligen Forschungspraktikantin Frau Dr. Sofia Dembski, Fraunhofer Institut für Silicatchemie, und der ehemaligen Promotionsstudentin der Zahnmedizin, Frau Dr. med. Katharina Ritschel.

Ich bedanke mich auch bei Frau Dipl.-Ing. Tina Oertel, Fraunhofer Institut für Silicatchemie, für die grundlegenden Informationen im Bereich Portlandzemente und die zeitweise Überlassung fachbezogener Literatur.

Herzlichen Dank auch der Chemisch-Technischen Assistentin am Lehrstuhl für Funktionswerkstoffe, Frau Isabell Biermann, die mich voller Elan durch die gesamte Promotion begleitet und tatkräftig unterstützt hat und den Feinmechanikermeistern Anton Hofmann und Harald Hümpfer, die in der Not immer zur Stelle waren, um erste Hilfe zu leisten, wenn wieder die Gerätschaften nicht funktionierten oder um neue Apparaturen zu planen und zu bauen.

Herzlichen Dank auch allen anderen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnheilkunde, die mit Rat und Tat in einer harmonischen Arbeitsatmosphäre einen Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben.

Ganz herzlich möchte ich mich bei meinen Freundinnen Frau Dr. Marianne Möller, Frau Dr. Mirjam Falge, Institut für Physikalische und Theoretische Chemie Würzburg, und Frau Dr. Sofia Dembski, Fraunhofer Institut für Silicatchemie, für ihre unterstützenden, wissenschaftlichen Anregungen bedanken.

Ich bedanke mich außerdem bei allen Freundinnen und Freunden, die mich in all der Zeit begleitet haben.

Mein ganz besonderer Dank aber gilt meiner Familie, die mich die ganzen Jahre mit ihrer Liebe und dem Vertrauen in meine Genesung getragen hat.

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die Dissertation

„Mechanische und rheologische Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementen“

selbständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe.

Ich erkläre außerdem, dass diese Dissertation weder in gleicher oder anderer Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

Ich habe früher außer den mit dem Zulassungsgesuch urkundlich vorgelegten Graden keine weiteren akademischen Grade erworben oder zu erwerben versucht.

Würzburg, den 27.03.2013

Kerstin Spatz

Publikationen und Konferenzbeiträge

Publikationen

Gbureck U., Spatz K., Thull R. „Improvement of mechanical properties of self setting calcium phosphate bone cements mixed with different metal oxides“, *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* **2003**, 34, 1036-1040.

Gbureck U., Barralet J. E., Spatz K., Grover L. M., Thull R. “Ionic modification of calcium phosphate cement viscosity. Part I: hypodermic injection and strength improvement of apatite cement”, *Biomaterials* **2004**, 25, 2187-2195.

Gbureck U., Spatz K., Thull R., Barralet J. E. “Rheological enhancement of mechanically activated α -tricalcium phosphate cements”, *Journal of Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomat.* **2005**, 73B, 1-6.

Konferenzbeiträge auf nationalen Kongressen

Spatz K., Barralet J. E., Gbureck U., Hofmann M., Thull R. “Hydroxyapatite formation of mechanically activated tetracalcium phosphate”

Vortrag, Kongress “18th European Conference on Biomaterials”, gemeinsam mit der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien e.V., 01.–04. Oktober 2003, Stuttgart, T080.

Konferenzbeiträge auf internationalen Kongressen

Gbureck U., Spatz K., Thull R. “Reinforcement of self-setting calcium phosphate cements with several metal oxides”

Abstract, Kongress “17th European Conference on Biomaterials”, 11.–14. September 2002, Barcelona, T72.

Gbureck U., Spatz K., Thull R. “Improvement of the mechanical properties of calcium phosphate cements with several metal oxides”

Abstract, Kongress “5. Symposium on Biomaterials”, 09.-11. Oktober 2002, Essen, S. 35.

Gbureck U., Spatz K., Barralet J. E., Thull R. "Engineering α -tricalcium phosphate cement rheology: high strength and injectability"
Abstract, Kongress "7th World Biomaterials Congress", 17.-21.Mai 2004, Sydney, S. 419.