

Aus der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten
Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde
der Universität Würzburg
Leitung: Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Groll

**Neue adhäsive mineral-organische Knochenzemente auf Basis von Phosphoserin
und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Dr. med. dent. Tobias Renner
aus Buttenheim
Würzburg, März 2023

Referent: Prof. Dr. U. Gbureck
Korreferent: Prof. Dr. Dr. A. C. Kübler
Schriftführer: Prof. Dr. M. Kortüm

Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 31.07.2023

Der Promovend ist Arzt und Zahnarzt

In Liebe und Dankbarkeit meiner Familie gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

1	Motivation und Problemstellung	1
2	Kenntnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible Knochenersatzstoffe	3
2.1	Biomaterialien für Knochenersatz und -regeneration.....	3
2.1.1	Knochenersatzmaterialien.....	3
2.1.2	Knochenadhäsive	4
2.2	Mineralische Knochenzemente.....	9
2.2.1	Medizinische Calciumphosphatzemente.....	9
2.2.2	Medizinische Magnesiumphosphatzemente	11
2.3	Knochenzemente mit alternativen Abbinde-mechanismen.....	15
2.3.1	Calcium bindende und dual abbindende Zementsysteme	15
2.3.2	O-Phospho-L-Serin (OPLS) in adhäsiven Knochenzementen.....	17
3	Material und Methoden	21
3.1	Prüfkörperherstellung	21
3.1.1	Herstellung der Knochenprüfkörper	21
3.1.2	Herstellung der Hydroxylapatitprüfkörper	22
3.2	Herstellung eines neuartigen Knochenzementes auf Basis von O-Phospho-L-serin und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden	23
3.2.1	Rohpulver und Rohpulversynthesen	23
3.2.2	Zementherstellung.....	25
3.2.3	Zementmodifikationen	29
3.3	Klebevorgang und Lagerung der Klebungen.....	31
3.4	Mechanische Testung	31
3.4.1	Druckfestigkeit.....	32
3.4.2	Abscherfestigkeit	33
3.5	Analyse des Abbindeverhaltens.....	34
3.5.1	Temperatur, pH-Wert und Gewichtsverlust in PBS-Lagerung.....	34
3.5.2	Injizierbarkeit.....	34
3.5.3	Fourier-Transform-Infrarotspektrometer (FTIR).....	34
3.6	Weiterführende Analysen	35
3.6.1	Röntgendiffraktometrie (XRD).....	35
3.6.2	Elektronenmikroskopie und Mikroskopie.....	36

4	Ergebnisse	38
4.1	Eingehende Hinweise	38
4.2	Mechanische Charakterisierung.....	39
4.2.1	Prüfung der Druckfestigkeit.....	39
4.2.2	Prüfung der Klebefestigkeit	41
4.2.3	Klebesystemeigenschaften und Versagensmuster	43
4.3	Systemcharakterisierung.....	44
4.3.1	Analyse mittels Fourier-Transform-Infrarotspektrometrie	44
4.3.2	Analyse mittels Röntgendiffraktometrie.....	47
4.3.3	Analyse von Temperatur, pH-Wert und Gewichtsverlust bei PBS-Lagerung.	50
4.3.4	Elektronenmikroskopische Analyse.....	53
5	Diskussion	60
5.1	Verwendete Methoden.....	60
5.2	Verbundmechanismen	61
5.3	Resultate und Interpretation.....	65
5.4	Systemmodifikationen	75
5.5	Résumé und Ausblick.....	80
6	Zusammenfassung	83
7	Literaturverzeichnis.....	85

Appendix

I	Abkürzungsverzeichnis
II	Abbildungsverzeichnis
III	Tabellenverzeichnis
IV	Anhang
V	Danksagung
VI	Eigene Veröffentlichungen und Kongressteilnahme

1 Motivation und Problemstellung

In der kontemporären Medizin sind einige Bruchkonfigurationen mit den üblichen Osteosyntheseverfahren wie etwa der Platten- oder Schraubenosteosynthese überhaupt nicht oder nur mangelhaft durchführbar^[1]. Insbesondere das Fixieren von kleinen Fragmenten, wie etwa bei Trümmerfrakturen, stellt Operateure noch vor eine große Herausforderung. Daher wird die Realisierung eines resorbierbaren Knochenklebstoffes schon lange ersehnt^[2-4]. Gegenwärtig hat sich der Einsatz eines solchen Adhäsives in der Routine aber noch nicht etablieren können^[5]. Der bayerische Epoxidharz-Klebstoff DELO VE403728 hält Stand Juli 2019 mit 17,20 Tonnen den Weltrekord für das höchste Gewicht, das je mit einem Klebstoff hochgehoben wurde^[6]. Vor diesem Hintergrund drängt sich die Frage auf, warum sich bislang noch kein Knochenkleber behaupten konnte, wenn generell solch immense Lasten mit Klebstoffen bewältigt werden können. Ein Knochenadhäsiv müsste in jedem Fall deutlich weniger Last standhalten. In der Literatur werden als Mindestanforderung für einen Knochenklebstoff zumeist die von Weber und Chapman^[7] postulierten 0,2 MPa zitiert. Gerade vor dem Hintergrund, dass bei der Verwendung von einfachem Klebestift (Fa. Pritt) auf Holz Klebefestigkeits von 1,63 MPa gemessen wurden^[8], erscheinen 0,2 MPa eigentlich recht niedrig. Die Entwicklung eines Knochenadhäsives ist allerdings bei weitem nicht trivial. Nötige Anforderungen sind beispielsweise die Cyto- und Biokompatibilität, die biologische Abbaubarkeit, die Substitution durch neues Knochengewebe und die Funktionalität unter schwierigen Aushärtebedingungen^[5]. Diese stellen die Forschenden vor eine bislang noch unzureichend gelöste Aufgabe. Zuletzt wurden die beiden Knochenadhäsive Tetranite®^[9] und OsStic™^[10] eingeführt. Sie basieren auf einem Calciumphosphat und Phosphoserin. Die schon länger als Knochenersatzmaterial bekannten Calciumphosphatzemente wurden erstmals in den 1980ern von Brown und Chow^[11], sowie von LeGeros^[12] eingeführt. Sie sind intensiv untersucht und es existieren zahlreiche Varianten. Dabei bestechen sie vor allem durch ihre hervorragende Biokompatibilität sowie ihre Osteoinduktivität und -konduktivität *in vivo*^[13]. Magnesiumphosphate sind auf dem Gebiet der Knochenersatzmaterialien vergleichsweise wenig erforscht. Allerdings zeigen sie in Tierversuchen neben Biokompatibilität herausragende, den Calciumphosphaten teils überlegene Eigenschaften hinsichtlich Abbaubarkeit und der Bildung von neuem Knochen^[14-19]. Die Verwendung einer phosphorylierten Aminosäure in einem

Knochenadhäsiv ist dabei nicht willkürlich gewählt. Phosphoserin ist wichtiger Bestandteil nicht-kollagenöser Proteine des Knochenstoffwechsels wie Osteopontin oder Bone Sialoprotein und vermittelt Interaktionen mit dem Hydroxylapatit der anorganischen Knochenmatrix^[20-24]. Mit Phosphoserin modifizierte Knochenzemente zeigen neben einer allgemein erhöhten Knochenumbaurate eine erhöhte Osteoblastenproliferation und -differenzierung, eine verstärkte Monozyten-Aktivierung sowie eine verbesserte Osteokonduktion in Tierversuchen^[25]. Phosphoserin spielt ferner eine Rolle in von Tieren produzierten organischen Adhäsiven wie etwa bei der gemeinen Miesmuschel^[26-28], dem Sandburgen-Wurm^[29-33] oder der Köcherfliege^[34]. Diese spielen im Sinne der Bionik eine entsprechende Rolle auf dem Gebiet der Knochenklebstoffe. Sowohl Magnesiumphosphatzemente als auch Phosphoserin gelten also als vielversprechende Bestandteile in Knochenersatzmaterialien. Überdies scheint gerade Phosphoserin in der Lage zu sein, adhäsive Eigenschaften zu evozieren.

Ziel dieser Arbeit war die Entwicklung von neuen mineral-organischen Knochenzementen auf Basis von Phosphoserin und Magnesiumphosphaten bzw. Magnesiumoxiden, welche adhäsive Eigenschaften besitzen. Es wurden geeignete Formulierungen herausgearbeitet, welche mittels Röntgendiffraktometrie, Fourier-Infrarot-Spektroskopie und Elektronenmikroskopie analysiert und mechanischen Tests unterzogen wurden. Dabei wurde ein neuartiges mechanisches Prüfverfahren zur Ermittlung der Klebefestigkeit an Knochen verwendet. Bei der Ergründung geeigneter Klebezement-Kompositionen wurden verschiedenartig calcinierte Magnesiumoxide mit wechselnder Reaktivität verwendet. Zudem wurde mit verschiedenen Magnesiumphosphaten, wie etwa tribasischem Magnesiumphosphat-Hydrat, Farringtonit oder Cattiit, gearbeitet. Auf Basis des neuen Systems wurden unterschiedliche Modifikationen erprobt. Hierfür wurden Additive wie Mannit-Porogen, Glycerol-Matrices oder dreiarmliges sternförmiges NCO-sP(EO-*stat*-PO) herangezogen. Nach Kenntnis des Autors ist es das erste Mal, dass in einer Forschungsarbeit im Kontext von Knochenadhäsiven bzw. -ersatzmaterialien Magnesiumverbindungen mit Phosphoserin kombiniert wurden. Es wurden die Vorzüge, wie insbesondere die deutliche adhäsiv-mechanische Überlegenheit gegenüber den bislang bekannten Knochenklebstoffen, diskutiert und das besondere Potential dieser neuen Systeme herausgearbeitet.

2 Kennnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible Knochenersatzstoffe

2.1 Biomaterialien für Knochenersatz und -regeneration

2.1.1 Knochenersatzmaterialien

Bei Knochenersatzmaterialien können generell natürliche, synthetische und Composite-Materialien unterschieden werden. Unter den synthetischen bzw. alloplastischen Werkstoffen werden Keramiken, Polymere, Composites und Zemente subsummiert^[35]. Nicht-synthetische Materialien beinhalten autologe Transplantate, welche bezüglich des Einwachsverhaltens aktuell als „Goldstandard“ gelten, allogene Fremdknochen-transplantate oder xenogene Transplantate meist porcinen oder bovinen Ursprungs^[36]. Nachteile der meisten natürlichen Knochenersatzmaterialien sind das Infektionsrisiko mit Viren, Bakterien oder Prionen, die begrenzte Verfügbarkeit sowie die beschränkte Qualitätskonstanz der Transplantate.^[37] Da alloplastische Transplantate diese Anforderungen erfüllen, sind sie von wissenschaftlichem Interesse. Als Hauptbestandteil des natürlichen Knochens kommt dem künstlich hergestellten Hydroxylapatit (HA) dabei eine große Bedeutung zu. Es besitzt eine hohe Biokompatibilität, hat osteokonduktive Eigenschaften und gilt als bioaktiv^[38] - bei jedoch langer Resorptionszeit. Gerade nanokristallines HA besitzt eine große Oberfläche und gewährleistet seinen Abbau durch phagozytierende Osteoklasten durch seine lockere Partikellagerung. Die Werkstoffgruppe der bioaktiven Gläser vermag per spezifischer Oberflächenreaktion kristallines HA auszubilden.^[37] Durch die Freisetzung von Calcium- und Silizium-Ionen aus bioaktivem Glas können sogar knochenbildende osteoproliferative Zellen mobilisiert werden, welche die Knochenregeneration antreiben^[39]. Tricalciumphosphate, genauer β -TCP und seine hochtemperaturmodifizierte Form α -TCP, kommen zumeist als Granulate bei Augmentationen von Kieferknochen zum Einsatz.^[37] Sie zeigen ebenfalls resorptive Eigenschaften. Klinisch konnte beispielsweise eine >85 %-ige Resorption von β -TCP mit anschließender Verknöcherung innerhalb von 24 Monaten gezeigt werden^[40]. Neben diesen Granulaten läuft bei Calciumphosphatzementen (CPC), welche in Kapitel 2.2.1 intensiviert werden, die Zementreaktion *in vivo* unter physiologischen Bedingungen.

Die Porengeometrie eines Materials spielt im Sinne einer osteokonduktiven Leitschiene

und der osteoinduktiven Dynamik eine herausragende Bedeutung^[41]. Eine Porengröße von 150-600 µm wird hierbei postuliert^[42, 43], wobei von einigen Autoren auch Porengrößen unterhalb der häufig beschriebenen 100 µm-Marke als ausreichend groß angesehen werden^[44, 45]. Fraglich ist bei bestehenden Poren jedoch oftmals die nötige Interkonnektivität^[37].

Orthopädische Eingriffe an der Wirbelsäule stellen generell eine der häufigsten Indikationen für Knochenersatzmaterialien dar, genauso wie metaphysäre und diaphysär-kortikale Segmentdefekte^[46]. Auch viele oralchirurgische Eingriffe bedürfen einer Hartgewebsrekonstruktion und damit Knochenersatz^[36]. Der Großteil der kommerziell erhältlichen synthetischen Zemente wird vor Anwendung manuell angemischt^[37]. Neben Applikatoren mit Doppelkammersystem sind dabei präfabrizierte Zementpasten, bei welchen das Pulver in einer inerten Substanz wie Glycerol gelöst ist, eine Alternative. Diese lagestabilen Pasten beginnen in einem feuchten Milieu, wie dem operierten Defektgebiet, auszuhärten^[47].

Hench und Polak (2002)^[48] unterteilen biomedizinische Materialien in unterschiedliche Generationen. In der ersten Generation war das Bestreben groß, möglichst inerte Im- und Transplantate zu entwickeln. Im Hinblick auf die aktuell fest etablierte Verwendung von Titan- oder Keramikimplantaten hat dieses Konzept in seinen Grundzügen immer noch Bestand. Materialien der zweiten Generation beinhalten bioaktive Komponenten, womit die zuvor erwähnten bioaktiven Gläser dieser Generation zuzuordnen sind. Aber auch HA-beschichtete Implantate oder HA-inkorporierte Polyethylen-Matrizes sind Teil dieser Generation. Das besondere Attribut von Biomaterialien der dritten Generation sei das Induzieren von spezifischen Zellantworten auf molekularer, auch genetischer, Ebene. Hierzu würden im Sinne des Tissue Engineerings beispielsweise modifizierte vom Körper resorbierbare Scaffold zählen, auf welche Progenitorzellen aufgebracht wurden. Alternativ könnten bioaktive Materialien entsprechende Chemikalien oder Proteine wie etwa das *bone morphogenic protein* (BMP) freisetzen.^[48]

2.1.2 Knochenadhäsive

Zum Thema „Adhäsive in der Medizin“ ist der heilberuflichen Mehrheit der Begriff des „Gewebeklebers“ vermutlich geläufig. Histologisch subsumiert der Begriff „Gewebe“ Epithelgewebe, Binde- und Stützgewebe, Nerven- oder auch Muskelgewebe^[49]. Dem

Kennnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible Knochenersatzstoffe

Binde- und Stützgewebe ist wiederum das Knochengewebe zuzuordnen^[49], was somit das Knochenadhäsiv zur Subform des Gewebeklebers macht. Nicht verwunderlich ist daher, dass in den Forschungsbemühungen der letzten Jahrzehnte designierte Gewebekleber auch an Knochen getestet wurden und die Themen „Gewebekleber“ und „Knochenadhäsiv“ nicht scharf voneinander getrennt werden können. In seiner Übersichtsarbeit über Knochenadhäsive beschreibt Farrar^[50] 2012 die Anforderungen und Herausforderungen an einen Knochenklebstoff. Die Umsetzung eines solchen Adhäsives ist dabei nicht trivial. Ein Knochenklebstoff sollte auf einer feuchten Oberfläche mindestens eine Klebefestigkeit von 0,2 MPa aufweisen^[7]. Im Anwendungsgebiet kommt es zudem oft zu Kontaminationen mit diversen Stoffen wie Fetten und Proteinen. Neben seinen mechanischen Eigenschaften muss ein solches Adhäsiv einfach in der Präparation und Anwendung sein. Anschließend muss eine adäquate Verarbeitungszeit gegeben sein, bei gleichzeitig aber insgesamt schneller Durchhärtung. Der Klebstoff darf sich weder während des Aushärtens noch *in situ* als chemisch toxisch erweisen. Hitzenekrosen im Zuge einer exothermen Abbindereaktion müssen vermieden werden, wobei der Klebstoff bei Raumtemperatur stabil sein muss. Er sollte nicht nur eine Knochenheilung ermöglichen, sondern muss auch in allen Belangen vollständig biokompatibel sein. Im besten Fall sollte die Möglichkeit bestehen, Medikamente oder bioaktive Substanzen zur Förderung der Knochenheilung zu inkorporieren. Aber nicht nur die Adhäsionskraft gegenüber Knochen ist entscheidend. Hohe Abscherkräfte gegenüber chirurgisch relevanten Metallen können ebenfalls von Vorteil sein. Neben diesen Aspekten auf chemischer und biochemischer Ebene sind zahlreiche weitere Faktoren entscheidend. Zu erwähnen ist hierbei beispielsweise, dass das Knochenadhäsiv sterilisierbar sein und ein angemessenes Haltbarkeitsdatum besitzen sollte. Die Kosteneffektivität und die Kommerzialität sind weitere Gesichtspunkte.^[50]

Auf Grund der geforderten Fähigkeit, in feuchter Umgebung auszuhärten waren Cyanoacrylate, welche in den frühen 1950ern entwickelt wurden, von großem medizinischen Interesse^[51]. Matsumoto^[52] untersuchte 1970 Klebungen zwischen Cyanoacrylaten und Knochen. Cyanoacrylate mit größerer Molekülgröße bzw. längerer Alkylseitenkette wie n- und i-Butylcyanoacrylate scheinen dabei gegen eine Hydrolyse in feuchter Umgebung beständiger zu sein^[52, 53]. Sie konnten jedoch 1979 für

Meyer *et al.* (1979)^[54] auf Grund der schlechten Biokompatibilität und der ungenügenden Klebefestigkeit in einem Frakturspalt nicht die allgemeinen Anforderungen an einen Knochenklebstoff erfüllen^[54] und auch bis heute haben sie sich nicht als solche etablieren können. Gleiches gilt für Polyurethane, die in den späten 1950ern und frühen 1960ern intensiv auf den Einsatz bei Frakturen hin untersucht wurden^[2]. Neben diesen beiden im Hinblick auf Knochenklebungen eher historischen Versuchen haben sich PMMA-Zemente, welche ebenfalls sehr früh von Interesse waren, konstituiert und finden heute noch weitreichend Anwendung. Bereits 1958 verwendete Charnley^[55] Acrylzement für die Zementierung von Hüftkopfprothesen^[55]. Er spielt auch heute noch in zahlreichen modifizierten Formen eine große Rolle bei der Zementierung von Implantaten^[56]. PMMA-Zemente sind jedoch, wie auch Polyurethane, keine Klebstoffe im engeren Sinne. Sie erzeugen keine chemische Verbindung, sondern wirken über mechanische Verzahnung, indem sie Spalten und Zwischenräume besetzen^[57]. PMMA-„Zemente“ werden zwar als solche bezeichnet, sind jedoch der Stoffgruppe der Kunststoffe zugehörig^[58]. Medizinische Zemente wie Calcium- und Magnesiumphosphatzemente im Allgemeinen werden intensiver in den Kapiteln 2.2.1 und 2.2.2 behandelt. Innerhalb dieser Werkstoffgruppe der Zemente, welche im Zuge einer Säure-Base-Reaktion aushärten^[37], gibt es ebenfalls Bemühungen biokompatible Adhäsive zu ergründen. Beispielsweise beschrieb Christel *et al.* (2015)^[59] die Herstellung eines adhäsiven Magnesiumphosphatzementes mit Hilfe von Phytinsäure (C₆H₁₈O₂₄P₆) (siehe Abbildung 1). Diese anorganische Säure mit antioxidativen Eigenschaften^[60] fungiert im System als Komplexbildner^[59]. Unter Zugabe der Phytinsäure wird aus Farringtonit (Mg₃(PO₄)₂) Newberyit (MgHPO₄ · 3 H₂O) ausgefällt^[59]:

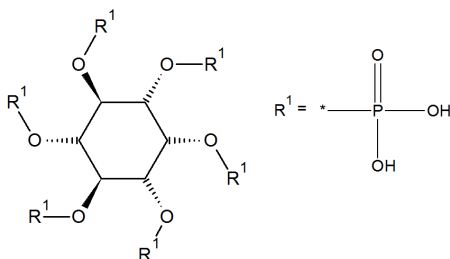
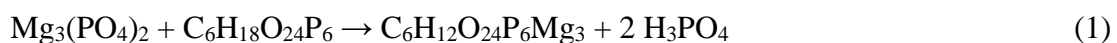


Abbildung 1: Strukturformel von Phytinsäure.

Kenntnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible Knochenersatzstoffe

Wistlich *et al.* (2017)^[61] verwendeten hingegen Newberyit sowie andere Keramiken wie Struvit ($\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) oder Gips ($\text{CaSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) als osteokonduktiven Füller innerhalb ihres Adhäsivsystems^[62]. Dieses fußt auf zwei Komponenten, welche letztendlich ein interpenetrierendes Netzwerk bilden. Zum Einen lösen sternförmige NCO-sP(EP-*stat*-PO)-Moleküle (siehe Abbildung 2) in wässrigem Milieu eine Polyadditionsreaktion aus, indem sie über Harnstoff-Brücken quervernetzen. Zum Anderen polymerisiert Poly(ethylenglykol)dimethacrylat (PEGDMA) (siehe Abbildung 3), dessen Reaktion lichtinduziert über einen Photoinitiator wie Campherchinon initiiert wird, aus.^[61]

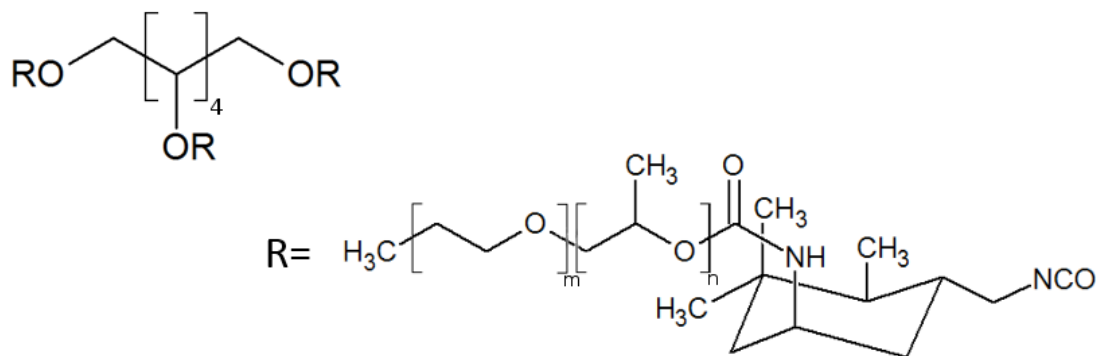


Abbildung 2: Strukturformel von sechsarmigem NCO-sP(EO-*stat*-PO).

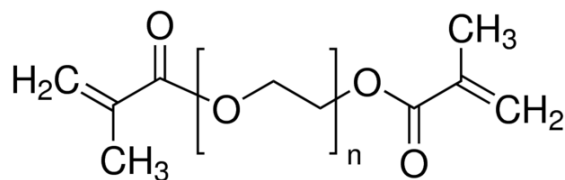


Abbildung 3: Strukturformel von Poly(ethylenglykol)dimethacrylat.

Neben den dargestellten synthetischen Klebstoffen existieren zahlreiche biomimetische Adhäsive. Ein Beispiel für ein umfangreich biokompatibles und biodegradierbares Adhäsiv ist unter diesem Aspekt der Bionik der Fibrinkleber, der auch in der Verwendung als Knochenklebstoff versucht wurde^[63-65]. Inhaltsstoffe des Fibrinklebers sind angereichertes Fibrinogen, Faktor XIII, Thrombin, Fibronectin, Aprotinin und/oder Tranexamsäure, Calciumchlorid und Plättchen-Wachstumsfaktoren^[66]. Die Kombination von Fibrinogen und Thrombin entspricht der späten Phase der Gerinnungskaskade, in welcher Fibrin-Monomere entstehen, aus denen wiederum das

Polymer-Netzwerk resultiert^[67]. Auch die Herstellung von autologem Fibrinkleber ist möglich, was im Gegensatz zu kommerziell erhältlichen Produkten beispielsweise Vorteile im Hinblick auf die Infektionsgefahr oder Biokompatibilität bietet^[66]. Ein anderes Adhäsiv auf Basis von Protein-Polymeren ist das GRF-System, welches basierend auf Gelantine und Resorcinol erstmals von Bonchek und Braunwald (1967)^[68] beschrieben wurde. Bei Zugabe von Formaldehyd vernetzen die Edukte im Rahmen einer Kondensationsreaktion quer^[68, 69]. Jedoch ist die Verwendung von hohen Konzentrationen an Formaldehyd auf Grund der gewebsschädigenden Wirkung nicht unumstritten^[70]. Niedrigere Aldehydkonzentrationen sind bei einem System auf Basis von bovinem Serumalbumin nötig, welches lediglich 10 % Glutaraldehyd benötigt. Die Aminogruppe des im Albumin enthaltenen Lysins reagiert bei der Klebstoffaushärtung mit den zwei Aldehydgruppen des Glutaraldehyds über kovalente Bindungen, wodurch der Klebstoff sowohl innerhalb von sich selbst, als auch mit einer organischen Oberfläche quervernetzt^[71, 72]. Mit Blick auf die Tierwelt gibt es im Sinne des Biomimikry Bestrebungen, xenogene Adhäsive am Menschen medizinisch nutzbar zu machen. So erzielte man zum Beispiel erste positive *in vitro* Ergebnisse bei der Reinsertion von rupturierten Sehnen der Rotatorenmanschette am Knochen mit Hilfe eines „Frog Glues“, welcher zuvor aus den Hautdrüsen des australischen Frosches *Notaden bennettii* gewonnen worden war^[73]. Die adhäsiven Muschel-Proteine der gemeinen Miesmuschel *Mytilus edulis* finden im Kontext von Knochenklebstoffen auf Grund der Tatsache Beachtung, dass Muscheln in unserem Milieu an Felsen oder Schiffen zu haften vermögen^[26, 74, 75]. Diese Proteine bestehen vornehmlich aus DOPA und Lysin. Von diesen Aminosäuren inspiriert, verwendete Liu (2014)^[75] Polydopamin, um Calciumphosphatzement zu modifizieren. Dopamin beinhaltet, genauso wie DOPA, eine Brenzcatechin-Struktur und besitzt, gleich dem Lysin-Rest, eine funktionelle Aminogruppe^[75]. Die vielen Catechole des Polydopamins formen starke nicht-kovalente Bindungen wie Wasserstoffbrückenbindungen oder π - π -Wechselwirkungen mit anderen Substraten und sind damit maßgeblich für die adhäsive Wirkung verantwortlich^[76, 77]. Die ebenfalls unter Wasser lebenden Larven der Köcherfliege produzieren ein Seiden-Adhäsiv aus Poly(pSer-co-Val)-Urea-Copolymeren, welches von Bhagat *et al.* (2016)^[34] auf die Anwendung als Knochenadhäsiv hin untersucht wurde. Hierbei wurden gerade dem Phosphoserin die entscheidenden adhäsiven

Eigenschaften im Dasein bivalenter Ionen wie Ca^{2+} oder Mg^{2+} zugeschrieben^[34]. Zum Themenfeld der Fauna und gerade im Hinblick auf Phosphoserin ist abschließend der „sandcastle worm“ *Phragmatopoma californica* zu nennen. Dieser vermag es, Sandkörner zu verkleben, sodass ein schlauchförmiger Panzer entsteht^[78-80]. Das dabei verwendete Adhäsiv beinhaltet verschiedene hoch basische und hoch saure Proteine, wobei die Aminosäuren Lysin, Histidin und Arginin die basischen Reste verschaffen und Phosphoserin die sauren Reste bereitstellt. Mg^{2+} - und Ca^{2+} -Ionen sind ebenfalls in höheren Mengen zu verzeichnen^[78]. Vom Adhäsiv dieses Wurmes inspiriert, entstand das Knochenadhäsiv Tetranite®, das sich in der Anwendung als adhäsives Knochen-Scaffold im Feld der dentalen Tiermedizin bereits in der präkommerziellen Phase befindet^[9]. Tetranite®, sowie insbesondere die phosphorylierte Aminosäure Phosphoserin, werden in Kapitel 2.3.2 intensiver behandelt.

2.2 Mineralische Knochenzemente

2.2.1 Medizinische Calciumphosphatzemente

Calciumphosphatzemente (CPC) stellen neben Metallen, Polymeren, Keramiken, bioaktiven Gläsern, Calciumsulfaten und Calciumcarbonaten eine etablierte und viel versprechende Sparte synthetischen Biomaterials dar, die bereits seit mehreren Dekaden bei der Reparatur und Regeneration von Knochen zum Einsatz kommt^[81]. In Tabelle 1 sind die wichtigsten CPC-relevanten Verbindungen und deren Abkürzungen zusammenfassend aufgelistet. Das Ca:P-Verhältnis von einem CaP ist von besonderer Bedeutung, da kleine Verhältnisse ein eher saures und besser wasserlösliches CaP charakterisieren^[82]. MCPM ist dabei das CaP mit der höchsten Löslichkeit und damit verbunden am meisten sauer. DCPD/Brushit ist biologisch als intermediäre Phase bei der Knochenbildung sowie beim kariogenen Zerfall von Zahnschmelz bekannt^[83-85]. MCPA bzw. DCPA sind jeweils die wasserfreien Formen von MCPM bzw. DCPD, die biologisch nicht vorkommen. DCPA/Monetit findet aber Anwendung in medizinischen CPCs^[86-89]. Das aus apatitähnlichen Schichten bestehende OCP ist wiederum von biologischer großer Bedeutung. Es ist mitunter Bestandteil von Zahnstein oder Blasensteinen^[90]. Einen hohen Stellenwert bei biomedizinischen CPCs nimmt β -TCP ein. Es kann nicht gefällt werden, sondern entsteht nur durch Calcinieren über 800 °C. Bei noch höherer Temperatur von 1125 °C entsteht α -TCP^[85]. Generell unterscheiden sich

Kenntnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible Knochenersatzstoffe

β -TCP und α -TCP lediglich in ihrer Kristallstruktur, wobei α -TCP löslicher und dadurch auch reaktiver ist^[91, 92]. HA ist das stabilste CaP mit der geringsten Löslichkeit^[85, 93, 94], während TTCP das basischste CaP darstellt. Es kann nicht per Fällungsreaktion entstehen und muss daher in einer Festkörperreaktion bei $>1300\text{ }^{\circ}\text{C}$ hergestellt werden^[95].

Als Pioniere auf dem Gebiet der biomedizinischen CPCs gelten Brown und Chow (1985)^[96], die ein Zementssystem entwickelten, welches mit Hilfe der Komponenten TTCP und Monetit HA erhielt^[91, 96, 97]. Generell werden im Zuge einer Zementreaktion CaP-Pulver mit einer wässrigen Lösung vermennt, wodurch sich das Pulver löst^[91, 98-100]. Das Produkt ist hierbei ein CaP mit geringerer Löslichkeit, welches, nach Übersättigung der Lösung zuvor, ausfällt. Es folgt das Kristallwachstum, das dem Zement seine endgültigen mechanischen Eigenschaften verleiht^[91, 98-101]. Die Löslichkeit einer Phase -bezogen auf den vorliegenden pH-Wert- ist wiederum voraussagend für das entstehende Reaktionsprodukt in der Zementreaktion^[101-103]. Wie eben bei Brown und Chow entsteht bei neutralem pH-Wert HA. Bei sauren pH-Werten $<4,2$ haben Brushit (DCPD) oder sein dehydriertes Pendant Monetit die geringste Löslichkeit^[104, 105].

Tabelle 1: CaP-Verbindungen und ihre entsprechenden chemischen Formeln^[85, 93, 94].

CaP-Verbindung	Chemische Formel
Monocalciumphosphatmonohydrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)\cdot\text{H}_2\text{O}$
Monocalciumphosphatanhydrat (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)$
Dicalciumphosphatdihydrat (DCPD, Brushit)	$\text{CaHPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Dicalciumphosphatanhydrat (DCPA, Monetit)	CaHPO_4
Octacalciumphosphat (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\cdot 5\text{H}_2\text{O}$
α -Tricalciumphosphat (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
β -Tricalciumphosphat (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Calcium-defizientes Hydroxylapatit (CDHA)	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$
Hydroxylapatit (HA)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$

2.2.2 Medizinische Magnesiumphosphatzemente

Im Gegensatz zu Calcium, bei welchem Hormone wie Calcitriol, Calcitonin oder PTH den Stoffwechsel regulieren^[106], gibt es bei Magnesium keine Hormone, die die Menge an Magnesium in einzelnen Körperregionen direkt beeinflussen. Magnesium wird strikt durch Resorptionsvorgänge in Gastrointestinaltrakt und Niere reguliert^[107, 108]. Neben dem vergleichsweise prominenten Calcium fehlt es der Rolle des Magnesiums im Knochenstoffwechsel oft an Beachtung. Als vierthäufigstes Ion im menschlichen Körper ist etwa die Hälfte des Mg^{2+} im Knochen gespeichert^[109, 110], was 0,72 Gew.% des Knochens ausmacht^[111]. Magnesiummangel geht mit geringer Knochenmasse, reduziertem Knochenwachstum oder Knochenbrüchigkeit einher, was Erkrankungen wie Osteoporose provoziert^[112]. Im Tierversuch konnte weiterführend gezeigt werden, dass Magnesiumdefizite niedriges PTH und Calcitriol verursachen^[113], was eine enge Beziehung von Calcium- und Magnesiumstoffwechsel nahelegt. Zusätzlich stieg Substanz P an, das unter anderem indirekt die Knochenresorption durch Osteoklasten vorantreibt. Ferner war das Protein Osteoprotegerin minder exprimiert und eine Zunahme von RANKL feststellbar, was wiederum die Knochenresorption begünstigt.^[113] Magnesium ist zudem eng mit der Adhäsion und dem Wachstum von osteoblastischen Zellen verknüpft^[114].

Kommerziell erhältliche keramische Knochenersatzstoffe basieren in der Mehrheit auf CaP-Phasen, wie Hydroxylapatit oder Tricalciumphosphat^[115]. Materialien auf Basis von Magnesiumphosphat (MgP) als Alternative zu den in Kapitel 2.2.1 beschriebenen Calciumphosphaten sind jedoch derzeit im Fokus einiger Forschungsarbeiten. Der Antrieb dahinter resultiert aus Besonderheiten, welche derartige Systeme mit sich bringen. Die hinreichende Löslichkeit von MgP-Phasen *in vivo* und die erfolgreiche Inhibition des Hydroxylapatit-Kristallwachstums durch Mg^{2+} -Ionen zählen zu den Vorteilen. Letztere bewirkt, dass *in vivo* ungewollte Kristallisationsvorgänge unterdrückt werden.^[115] Wichtige Zementvorstufen und Produktphasen im binären MgO-P₂O₅-System sowie mögliche Salze als Reaktionspartner sind in Tabelle 2 zusammenfassend aufgelistet^[116].

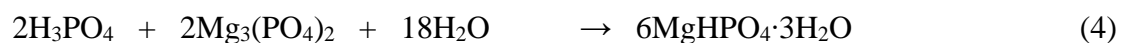
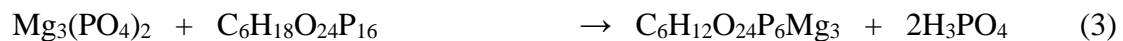
Kenntnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible
Knochenersatzstoffe

Tabelle 2: MgP-Verbindungen und ihre entsprechenden chemischen Formeln^[116].

MgP-Verbindung	Chemische Formel
Bobierrit	$Mg_3(PO_4) \cdot 8H_2O$
Brucit	$Mg(OH)_2$
Cattiit	$Mg_3(PO_4)_2 \cdot 22H_2O$
Dittmarit	$NH_4MgPO_4 \cdot H_2O$
Farringtonit	$Mg_3(PO_4)_2$
Hannayit	$(NH_4)_2Mg_3(HPO_4)_4 \cdot 8H_2O$
Struvit-(K)	$KMgPO_4 \cdot 6H_2O$
Magnesia	MgO
Newberyit	$MgHPO_4 \cdot 3H_2O$
Schertelit	$(NH_4)_2Mg(HPO_4)_2 \cdot 4H_2O$
Struvit	$NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$
Reagierende Salze	Chemische Formel
Ammoniumdihydrogenphosphat (ADHP)	$(NH_4)H_2PO_4$
Diammoniumhydrogenphosphat (DAHP)	$(NH_4)_2HPO_4$
Kaliumdihydrogenphosphat (KDHP)	KH_2PO_4
Dikaliumhydrogenphosphat (DKHP)	K_2HPO_4
Natriumdihydrogenphosphat (NDHP)	NaH_2PO_4
Dinatriumhydrogenphosphat (DNHP)	Na_2HPO_4
Calciumsulfathemihydrat	$CaSO_3 \cdot \frac{1}{2}H_2O$
Calciumsulfatdihydrat	$CaSO_3 \cdot 2H_2O$
Natriumpyrophosphat	$Na_4P_2O_7$
Diammoniumcitrat	$(NH_4)_2C_6H_6O_7$
Zitronensäure	$C_6H_8O_7$
Phosphorsäure	H_3PO_4
Phytinsäure	$C_6H_{18}O_{24}P_6$

Die meisten Magnesiumphosphate liegen bei niedriger Temperatur hydratisiert vor und können über eine Fällungsreaktion aus einer wässrigen Lösung synthetisiert werden^[117]. Ähnlich der CaP-Verbindungen können in Verbindungen im Mg-P-System Kationen wie NH_4^+ , Na^+ und K^+ Bestandteil sein, was zu neuen Materialien mit neuen physikalischen

Eigenschaften führen kann^[118-122]. Gerade Verbindungen, welche NH_4^+ enthalten, wie Dittmarit, Schertelit, Struvit und Hannayit sind einzigartig gegenüber dem Ca-P-System^[123, 124]. Phasen wie Struvit haben herausragende mechanische Eigenschaften, die im Ca-P-System nicht zu finden sind^[120]. Da Struvit das geringste Löslichkeitsprodukt innehat^[125], ist es bei MPCs das häufigste Reaktionsprodukt^[125, 126]. Magnesia und Farringtonit sind bei MPCs kristallin und stellen die häufigsten Ausgangsprodukte dar^[115]. Reaktionspartner wie DAHP, ADHP, NDHP, KDHP oder Phosphorsäure wurden bereits in Kompositionen von MPCs verwendet^[115]. Von Christel *et al.* (2015)^[59] wurde zudem Phytinsäure als unkonventioneller Komplexbilder vorgestellt. Mit Hilfe dieser ringförmigen organischen Säure kann im Zuge des in Gleichung (3) und (4) vorgeschlagenen Mechanismus aus TMP Newberyit gebildet werden^[59].



Generell können Zemente das Produkt eines Keramikpulvers sein, das mit einem Salz in wässriger Lösung reagiert. Alternativ können sowohl die Keramik als auch das Salz in Pulverform vorliegen, sodass die Reaktion bei Zugabe von Wasser startet^[127, 128]. Die Edukte reagieren im Zuge einer exothermen Säure-Base-Reaktion miteinander, wobei es über eine Aquosol- und Gelausbildung zur Sättigung, Kristallisation und letztendlich zu einem Kristallwachstum kommt^[129]. Der genaue Mechanismus ist nicht vollständig verstanden, wobei man eben von einer Dissolution und Fällungsreaktion ausgeht^[125]. Der Reaktionsschritt des Zerfalls scheint gerade bei MgO bzw. Farringtonit neben anderen Parametern eine wichtige Kenngröße hinsichtlich der Abbindekinetik zu sein^[116]. Ein weiterer wichtiger Faktor, der nicht nur die Abbindekinetik, sondern auch die Injizierbarkeit oder die Festigkeit des resultierenden Zementes beeinflusst, ist die Form und die Größe der Pulverpartikel^[130]. Die Bearbeitung in einer Kugelmühle reduziert die Partikelgröße und vergrößert damit die reaktionsfähige Oberfläche. Typisch verwendete Partikelgrößen für Magnesia oder TMP liegen bei Zementen zwischen 5 μm und 100 μm ^[116]. Gerade bei Magnesia hat bei der Herstellung die Calcinierung ebenfalls einen bedeutenden Einfluss auf die letztendliche Kinetik des MPC. „Light-burned“ Magnesia, welches bei 800 °C gebrannt wurde, scheint die besten Ergebnisse hinsichtlich Abbindezeit und mechanischer Eigenschaften binnen MgO-haltiger Zementssysteme zu

ergeben^[131]. MPCs können generell Druckfestigkeitswerte bis 85 MPa erreichen^[16], wobei die maximalen Festigkeitswerte im Gegensatz zu CPCs vergleichsweise zügig nach Beginn der Abbindereaktion erreicht werden^[115].

In Zellversuchen bewiesen MPCs beispielsweise bei der Osteoblasten-ähnlichen Zelllinie MC3T3-E1^[132, 133] der Maus oder der menschlichen Osteoblasten-Zelllinie MG-63^[132-134] Zytokompatibilität und proliferationsfördernde Effekte. Bei letzterer Zelllinie wurde bei Versuchen mit einem Scaffold aus amorphem Magnesiumphosphat und Polylactiden ein Anstieg von 80% an OCN beobachtet, wobei Zellen, welche sich in Kontakt mit dem Scaffold befanden, OCN mehr als dreimal häufiger exprimierten^[135].

Während einige CPC-Systeme Antibiotika wie Vancomycin inkorporiert haben^[136, 137], scheint es MPCs zu geben, die von sich aus antibakteriell wirksam sind. Mestres *et al.* (2011)^[127, 138] beobachteten in zwei Forschungsarbeiten mit MPCs antibakterielle Effekte gegen *S. sanguinis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* und *A. actinomycetem-comitans*^[127, 138]. *In vivo* Versuche wurden beispielsweise von Yu *et al.* (2010)^[16] durchgeführt. Defekte in Femurkondylen von Kaninchen wurden mit MPC augmentiert. Es zeigten sich gute Resorptionseigenschaften und ein mitunter deutlicheres Einwachsen von neuem Knochen im Gegensatz zu Augmentationen mit CPCs. Zudem war keine Toxizität nachzuweisen und Tests auf Mutagenität oder eine mögliche Karzinogenität waren negativ.^[16] Kanter *et al.* (2018)^[14] verwendeten Struvit-bildende Zemente aus TMPA + 3,0 M DAHP/ 0,5 M MAHP bei Femurkondylen ausgewachsener Merinoschafe. Diese Struvit-bildenden Zemente ermöglichten eine bessere Knochenreaktion als DCPD- oder HA- bildende Zemente. Struvit-bildende Zemente verwendeten auch Ewald *et al.* (2019)^[139] und implantierten diese in Femurkondylen von Kaninchen bei guter Biokompatibilität, bemerkenswerter Biodegradation und Knochenregeneration. Im Gegensatz zu anderen *in vivo* Versuchen wurden präfabrizierte Pasten eines Calcium-modifizierten MPC verwendet. Die Ausgangspulver wurden dabei mit einem Öl-Tensid zu einer Paste vermischt, welche generell gelagert werden kann und nach klinischer Anwendung in wässriger Umgebung zu Struvit aushärtet. Dies gewährleistet neben einer erhöhten Haltbarkeit ein wesentlich einfacheres klinisches Handling.^[139]

Unter den Magnesium-basierten Zementen hebt sich vor allem eine Verbindung aus MgO und Kaliumphosphat ab, aus welcher das Produkt „OsteoCrete“ der Firma „Bone Solutions, Inc.“ resultierte^[140]. Dies ist bisweilen die einzige Zementformulierung auf

Magnesiumbasis, die von der Food and Drug Administration genehmigt ist und kommerziell als Füllmaterial für Knochendefekte vertrieben wird^[116]. Obwohl Magnesiumphosphate und -oxide generell schon sehr lange bekannt sind, sind sie in der Medizin noch vergleichsweise unerforscht. Im Gegensatz zu CPCs bieten MPCs noch ein großes Maß an Möglichkeiten für Forschungsbemühungen.

2.3 Knochenzemente mit alternativen Abbinde Mechanismen

2.3.1 Calcium bindende und dual abbindende Zementsysteme

Zur Verbesserung der Eigenschaften von Zementsystemen gibt es Bestrebungen neben dem klassischen wasserbindenden Reaktionsmechanismus alternative Abbinde Mechanismen für mineralische Knochenzemente zu entwickeln. Alternative Methoden stellen beispielsweise die dual abbindenden Zemente (Zement-Composite) oder Calcium bindende Zementsysteme dar.

Letztere orientieren sich an den Prinzipien von Glasionomorzementen. Diese bestehen aus Polyacrylsäure bzw. Copolymerisaten wie Acrylsäure, Itakon- oder Maleinsäure sowie aus Calcium-Aluminium-Silikat-Glas. Ionen des Calciums oder Aluminiums werden bei der Abbinde Reaktion aus dem Silikatglas gelöst, wobei das schneller diffundierende Calciumion die Säure zuerst vernetzt, sodass primär Calcium-Polycarboxylatgel entsteht. Erst im späteren Verlauf diffundiert auch das Aluminiumion, sodass sich ein wasserunlösliches Calcium-Aluminium-Carboxylatgel mit verbesserten mechanischen Eigenschaften bildet.^[141] TenHuisen und Brown (1994)^[142] waren die Ersten, die eben in diesem Mechanismus statt des Calcium-Aluminium-Silikat-Glases CPC-Vorstufen wie TTCP und DCPA verwendeten^[142]. Dabei ist TTCP für die Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen zuständig, während DCPA die Zement-typische Fällungsreaktion und das Kristallwachstum verantwortet^[143]. Neben HA können auch Brushit und Monetit als Abbindeprodukt von Calcium bindenden Zementen entstehen^[144, 145]. Watson *et al.* (1999)^[146] versuchten per Prähydratation der TTCP-Vorstufen die schnelle Interaktion mit der Polyacrylsäure zu drosseln^[146]. Um das Abbindeverhalten zu verbessern schlugen Wilson *et al.* (1976)^[147] bereits den Einsatz sauer komplexierender Co-Monomere wie Wein- oder Zitronensäure zumindest bei Glasionomorzementen vor^[147]. Auch der Phytinsäure wurde in einigen wissenschaftlichen Arbeiten dahingehend eine Funktion als Abbindeverzögerer quitiert^[148-151]. Innerhalb der Familie der Zemente

mit alternativen Abbindemechanismen ist in diesem Zusammenhang nochmals die Arbeit von Brückner *et al.* (2017)^[93] zu nennen, die diese organische Säure für die Herstellung eines Knochenadhäsives verwendete. Dieses ist in Kapitel 2.1.2 näher beschrieben.

Der Begriff der dual abbindenden Zemente wurde erstmals durch Dos Santos *et al.* (1999)^[152] etabliert. Es handelt sich um ein paralleles Durchlaufen einer Zementfällungsreaktion auf der einen Seite und einer Quervernetzung wasserlöslicher Monomere auf der anderen Seite, wobei es nicht zu Wechselwirkung zwischen beiden Phasen kommt^[152]. Im Fall von Dos Santos *et al.* wurde monofunktionales Acrylamid als Hauptbestandteil des Hydrogels sowie bifunktionales N,N'-Methylenbisacrylamid verwendet. Letzteres vernetzt in der wässrigen Phase der α -TCP-Zementpaste quer. Als Radikalbildner fungierten Ammoniumpersulfat in der festen und N,N,N',N'-Tetramethylethylen in der wässrigen Phase, sodass letztendlich ein interpenetrierendes Netzwerk aus organischen und anorganischen Komponenten resultiert.^[152] Generell kann bei einem dual abbindenden Zement die Fällungsreaktion anorganischer und die Gelierung der zweiten Phase organischer^[152-157] sowie anorganischer^[158] Natur sein. Schamel *et al.* (2017)^[159] zeigten, dass neben Monomeren mit reaktiven Doppelbindungen *in situ* gebildete Hydrogele verwendet werden können. In wässriger Lösung vernetzt hierbei sechsamiges sternförmiges terminal per Isocyanat funktionalisiertes Polyethylenoxid im Zuge einer Hydrolyse parallel zur Hydrolyse des inkorporierten α -TCP-Füllers quer^[159]. Schamel *et al.* (2017)^[160] zeigten zudem, dass neben HA-bildenden dual abbindenden CPCs auch Brushit bildende duale Systeme, welche vergleichsweise sauer abbinden, hervorragende Eigenschaften aufweisen können. Es wurde beobachtet, dass die Umformung von Seidenfibroin in eine geordnete β -Faltblatt-Struktur im Dasein von Brushit und sauren Phosphaten gefördert wird. Als Resultat der zur Brushit-Fällungsreaktion parallel verlaufenden β -Faltblatt-Bildung des Seidenfibroins erhält man eine interpenetrierende anorganisch/organische Matrix mit außerordentlichen mechanischen Eigenschaften.^[160] Auch das Knochenadhäsiv von Wistlich *et al.* (2017)^[61] basiert auf einem mineral-organischen interpenetrierenden Netzwerk. Genauere Informationen dazu sind dem entsprechenden Kapitel 2.1.2 zu Knochenadhäsiven zu entnehmen. Innerhalb des Themengebietes der Composite-Zementsysteme existieren zahlreiche weitere Verfahren wie beispielsweise Systeme mit

Wachstumsfaktoren (GFs), inkorporierten Medikamenten, Mikropartikeln oder natürlichen Biopolymeren als Porogene und Systemverstärker^[161-164].

2.3.2 O-Phospho-L-Serin (OPLS) in adhäsiven Knochenzementen

Phosphoserin ist als Ester aus der Aminosäure Serin und Phosphorsäure Bestandteil vieler Proteine, welche posttranslational modifiziert wurden^[165]. Die Phosphorylierung der entsprechenden Alkoholgruppe des Serins wird im Körper durch diverse Kinasen bewerkstelligt^[166]. Dabei gehört Serin zu den am häufigsten im Körper phosphorylierten Aminosäuren^[167]. Phosphoserin hat mit seiner Carboxyl-, Amino- und Phosphatgruppe drei potentiell funktionelle Gruppen (vgl. Abbildung 4), wobei sich die Funktionen der einzelnen Gruppen im Körper nur komplex unter Einbeziehung phosphorylierter Liganden und Metallionen innerhalb des Organismus erklären lassen^[168].

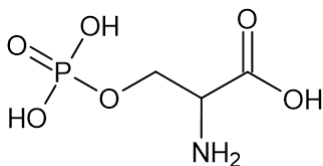


Abbildung 4: Strukturformel von O-Phospho-L-Serin.

Ein Protein des Knochenstoffwechsels mit hohem Anteil an Phosphoserin ist Osteopontin. Es wird in Präosteoblasten, Osteoblasten und Osteozyten, aber auch von Zellen außerhalb des kompakten Knochens wie Odontoblasten, Knochenmarkszellen, Chondrozyten und weiteren Zellen synthetisiert, in das Osteoid abgesondert und somit in den Knochen inkorporiert. Osteopontin soll dabei im Allgemeinen die Bindung und Ausbreitung von Fibro- und Osteoblasten fördern.^[169] Nicht-kollagenöse Proteine sind generell sehr wichtig in einer Knochenmatrix, da sie die Keimbildung und das Kristallwachstum bei der Biomineralisation sowie damit verbundene Zellaktivitäten kontrollieren^[170]. Osteopontin und sein Einfluss auf die Knochenregeneration ist jedoch der Grund für Salgado *et al.* (2019)^[171], den Einfluss von Phosphoserin auf Scaffolds aus Nanohydroxylapatit und Kollagen basierenden Composites zu untersuchen^[171]. Reinstorf *et al.* (2004)^[172] sprechen O-Phospho-L-serin (OPLS) bereits überzeugende Effekte zur Modifikation von Calciumphosphat-Zement-Composites mit Kollagen Typ I zu. Mit dem Auftreten dichter Mikrostrukturen in den Hydroxylapatitkristallen bei Zugabe von OPLS erhöhe sich auch die Festigkeit des Zementes. OPLS verhindere den

Zerfall von α -TCP- und DCPA-Partikeln. Zellbiologisch zeige OPLS-modifiziertes Material eine gute Osteoblastenviabilität, erhöhte Proliferationsraten und eine verbesserte Differenzierung.^[172] Ebenfalls liege bei den OPLS-modifizierten Scaffolds von Salgado *et al.* (2019)^[171] der Hauptvorteil in der Osteoinduktivität. Das Verhalten mesenchymaler Stammzellen könne sich zu Gunsten osteogener Differenzierung in späte Osteoblasten dahingehend verändern, dass vermehrt Extrazellulärmatrix mit Hilfe von Osteopontin und Calciumdepots gebildet würde^[171]. Auch im Tierversuch zeigen mit Phosphoserin modifizierte Calciumphosphatzemente verbesserte Resorptionseigenschaften und eine erhöhte Knochenregeneration^[173]. Mit Hilfe von Computersimulationen konnte bestätigt werden, dass Phosphoserin bei Kopräzipitation mit Calciumphosphat mit allen seinen funktionellen Gruppen interagiert und wohl in die amorphe Matrix des Calciumphosphates eingebaut wird^[174].

In den soweit aufgezeigten Studien spielt OPLS die Rolle eines Modifiers, dessen Anteil am jeweils untersuchten Material noch vergleichsweise gering ist. Dabei gibt es jedoch Hinweise darauf, dass gerade *in vivo* (im Dasein von Osteopontin und Calciumionen) ein höherer Gehalt an OPLS noch höheres Potential hinsichtlich der Differenzierung mesenchymaler Stammzellen, der Zellviabilität und der Produktion von Extrazellulärmatrix bergen würde^[171]. Im Sinne der Biomimetik (vgl. Kapitel 2.1.2) zeigt das Beispiel des *Phragmatopoma californica* Wurms („Sandcastle worm“), der ein proteinhaltiges klebendes Sekret erzeugt, dass Aminosäuren als Hauptkomponenten von Materialien zur Knochenregeneration fungieren können. Dieser „Sandcastle glue“ ist biokompatibel und funktioniert unter anderem als Knochenadhäsiv. Die sauren Rückstände dieses natürlichen Klebstoffes beinhalten als Hauptbestandteil Phosphoserin.^[78] Hiervon bioinspiriert entstand ein anorganisch/organisches Adhäsiv, wobei zusammen mit TTCP eben Phosphoserin eine Basiskomponente mit vergleichsweise hohem Anteil darstellt^[175]. Unter dem Namen Tetranite® wird dieses patentierte (US 8,232,327; US 8,273,803; U S 8,765,189)^[176] Produkt seit 2014 von LaunchPad Medical (seit August 2020: RevBio) entwickelt und vermarktet und war bereits 2010 Anlass für die Vergabe des „Innovator of the year Award“ der Firma Stryker Orthopedics, woraufhin weitere Auszeichnungen verbunden mit Sponsoringgeldern folgten. Beworbene Anwendungsgebiete von Tetranite® sind die Stabilisierung von dentalen Implantaten im Falle einer überdimensionierten Osteotomie, die Fixierung

frakturierten Knochens oder die Stabilisierung von Wirbelkörpern im Rahmen einer Sponylodese.^[177] Hinsichtlich der Stabilisierung dentaler Implantate konnten Conchran *et al.* (2020)^[178] im *in vivo* Versuch an Hundeunterkiefern zeigen, dass Tetranite® bereits nach 10 Tagen bei hervorragender Biokompatibilität histologisch innigen Kontakt sowohl zum Knochen als auch zum Implantat aufweist. Nach vier Monaten sei viel des mineral-organischen Adhäsives durch Knochen ersetzt worden. Diesen Erfolgen stünden die Ergebnisse aus den Kontrollgruppen bei adäquatem Vorgehen unter Benutzung von Knochentransplantat oder lediglich des entstandenen Blutgerinnsels deutlich nach.^[178] Der ergänzende Einsatz von mineralisch-organischen Adhäsiven wie Tetranite® scheint auch bei der Versorgung von Unterkieferfrakturen mit Splints sinnvoll zu sein^[179]. Foley *et al.* (2020)^[180] schreiben Tetranite® aus Erkenntnissen einer zweijährigen Nachuntersuchung einer Kraniotomie an Schafen deutliche Vorteile gegenüber konventionellen Fixationsmöglichkeiten wie Titanplatten und Schrauben zu. Mit Tetranite® fixierter Knochen zeige nicht nur biomechanische Überlegenheit, sondern auch schnellere und nahezu vollständige Osteointegration, wodurch es die Kranioplastik im Allgemeinen bereichere.^[180] In einem Tierversuch von Sugita *et al.* (2021)^[181] wurden 26 Hunden jeweils drei Zahnimplantate auf je einer Seite des Unterkiefers gesetzt und der Erfolg monatlich radiologisch über ein Jahr hinweg kontrolliert. Bei der Insertion wurde entweder das Adhäsiv aus TTCP und Phosphoserin, bovines Knochenmineral oder kein Biomaterial verwendet. Das crestale Knochenniveau konnte über das gesamte Follow-up bei Verwendung des Adhäsives, wie auch bei der Verwendung von bovinem Knochenmineral, konstant gehalten werden. Im Gegensatz dazu konnte bei einer Implantat-Insertion ohne Biomaterial das crestale Niveau nicht fortbestehen^[181]. Kesseli *et al.* (2020)^[182] identifizierten ein koordinatives Netzwerk aus Calcium und Phosphoserin als vorrangige kristalline Phase dieses abgebundenen Zementes^[182]. Dieses Adhäsivsystem aus TTCP und Phosphoserin konnte von Kirillova *et al.* (2020)^[183] über Modifikationen mit Polylactid-co-Glycolid (PLGA)-Fasern, PLGA-Naht oder Chitosanlactat hinsichtlich seiner Druckfestigkeit verstärkt werden^[183].

2019 erhielt Tetranite® die Genehmigung für klinische Studien von der U.S. Food and Drug Administration und beschleunigte die Aufnahme der klinischen „First-in-Man“-Studie. 2020 wurde die erste europäische klinische Studie initiiert. 2021 startete

Kennnisstand: Knochenzemente, Knochenklebungen und biokompatible Knochenersatzstoffe

Tetranite® bereits die präkommerzielle Vermarktung, die sich bislang noch auf die dentale Veterinärmedizin beschränkt. Indikation ist hierbei das Auffüllen von Extraktionsalveolen zur Verbesserung der Heilung und zur Socket Preservation bei Hunden. Zudem wurde RevBio die Möglichkeit gegeben, ihr Produkt einem *in vivo* Experiment im U.S. National Laboratory der Internationalen Raumstation zuzuführen, um so über die Arbeiten in einer Mikrogravitationsumgebung neue Erkenntnisse über die Versorgung oder Prävention osteoporotischer Patienten auf der Erde zu erlangen. ^[177]

Trotz der aufgezeigten Eigenschaften, welche OPLS in biokompatiblen Zementsystemen mit sich bringt, sowie der in Kapitel 2.2.2 beschriebenen Vorteile, welche Magnesiumphosphatzemente gegenüber Calciumphosphatzementen haben können, konnten im Rahmen der Literaturrecherche keine Forschungsarbeiten, die sich mit Formen der Kombination dieser Stoffe beschäftigten, ausgemacht werden.

3 Material und Methoden

3.1 Prüfkörperherstellung

3.1.1 Herstellung der Knochenprüfkörper

Die Herstellung der Prüfkörper erfolgte nach Vorschlägen aus der Dissertation „*In vitro Testverfahren zur Qualifizierung von Knochenklebstoffen*“ von 2018, welche durch den Autor selbst verfasst wurde^[53]:

Frischem bovines Femur (Metzgerei Dotzel, Würzburg, Deutschland und Metzgerei Hübschmann, Ebermannstadt, Deutschland) wurde mit der Knochenbandsäge MKB 754 Selekt 3 (Fa. Mado GmbH, Dornhan, Deutschland) die Epiphysen entfernt, woraufhin die Diaphyse in grobe Stücke zerteilt wurde. Dabei wurden Muskel- und Sehnenansätze sowie Periost und Knochenmark entfernt. Mit Hammer und Meißel wurde die verbliebene Kortikalis weiter zerkleinert und anschließend unter Wasserkühlung mit SiC-Nassschleifpapier Korn 80 (Fa. Schmitz Metallographie GmbH, Herzogenrath, Deutschland) an dem Tellerschleifer Metaserv® 3000 (Fa. Buehler, Esslingen am Neckar, Deutschland) bei 300 U/min modelliert. Es resultierten quaderförmige Prüfkörper (20 mm x 10 mm x 5 mm) und zylinderförmige Prüfkörper (3 mm² x π x 3 mm) (vgl. Abbildung 6, Kapitel 3.3), wobei letztere mit der Drehmaschine Robling 800 Stfl bei 2000 U/min gedreht wurden. Abschließend wurden die Prüfkörper oberflächlich händisch mit SiC-Nassschleifpapier Korn 80 bearbeitet.

Generell wurde der im Metzgereifachbetrieb abgeholte Knochen innerhalb von 24 h verklebt, wobei der Knochen, die Zwischenprodukte innerhalb des Verarbeitungsvorganges sowie die fertigen Prüfkörper stets in PBS-Lösung bei 5 °C gelagert wurden. Die Zusammensetzung der zehnfach konzentrierten Stammlösung der verwendeten PBS-Lösung ist Tabelle 3 zu entnehmen. Ein pH= ~7,4 wurde nach Verdünnung mit den pH-Metern inoLab Level 1 und inoLab Level 2 (Fa. WTW, Weilheim, Deutschland) eingestellt.

Material und Methoden

Tabelle 3: Zusammensetzung der zehnfach konzentrierten Stammlösung phosphatgepufferter Salzlösung (PBS).

NaCl	80 g	Lot: 712A16294; Scheller, Euerbach
KCl	2 g	Lot: K46167736515; Merck, Darmstadt
Na₂HPO₄	14,4 g	Lot: F1897486529; Merck, Darmstadt
KH₂PO₂	2,4 g	Lot: A585477734; Merck, Darmstadt
H₂O	1 l	

3.1.2 Herstellung der Hydroxylapatitprüfkörper

Zur Herstellung der HA-Prüfkörper wurden zunächst entsprechende Formen mit Hilfe vom additionsvernetzenden Vinyl-Polysiloxan Dublisisil® (Fa. Dreve Dentamid GmbH, Unna, Deutschland) hergestellt, wobei das Dublisisil® nach 1:1 Mischen von je 50 g in eine 20 cm x 10 cm x 3,5 cm große Form gegeben wurde, an deren Boden bereits zehn Prüfkörper der entsprechenden Größe aus Knochen (vgl. Kapitel 3.1.1) in gleichmäßigem Abstand mit Cyanoacrylat fixiert worden waren. Die Aushärtezeit bis zur Entformung betrug 45 min. Die entstandenen Dublisisil®-Moulagen fungierten im Folgenden formgebend für die Herstellung der quaderförmigen HA-Prüfkörper. Analog wurden entsprechende Moulagen für zylindrische HA-Prüfkörper mit den Abmessungen 3 mm² x π x 3 mm (vgl. Kapitel 3.1.1) als zweites Füge­teil für die spätere Prüfung der Abscherfestigkeit sowie Moulagen für zylindrische Prüfkörper aus den zu untersuchenden Zementen für die Druckfestigkeitsprüfung (vgl. Kapitel 3.4.1), hergestellt.

Für die Synthese von HA wurde zunächst α -TCP benötigt. Dieses wurde aus 0,716 mol CaHPO₄ (Lot: H1630; Fa. Honeywell, Vereinigte Staaten) und 0,33 mol CaCO₃ (Lot: A0915620609; Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) hergestellt. Diese beiden Ausgangspulver wurden eine Stunde in Achatbechern in der Plantetenmühle PM 400 (Fa. Retsch GmbH, Haan, Germany) vermischt und anschließend in Tiegel gefüllt, wobei ein Bullerring beigelegt wurde. Nach dem Sintern im Ofen bei 1400 °C wurde der Sinterkuchen auf <355 μ m zerkleinert. Das Pulver wurde dabei 4 h trocken gemahlen. Vom erhaltenen α -TCP wurden 3 g auf der Präzisionswaage E12145 (Fa. Ohaus, Greifensee, Schweiz) abgewogen, mit 1 ml 2,5 % Na₂HPO₄ homogen vermengt und die Moulagen umgehend mit der entstandenen Zementpaste befüllt. Die Moulagen wurden nachfolgend 2-4 h im Wasserbad TW20 (Fa. Julabo GmbH, Seelbach, Deutschland) bei

37 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 100 % gelagert, jedoch ohne dass die Prüfkörper in direktem Kontakt zum Wasser standen. Im Anschluss wurden die Prüfkörper entformt und für 7 d direkt im Wasserbad unter den genannten Bedingungen gelagert. Zuletzt wurden die entstandenen zylindrischen und quaderförmigen Prüfkörper im Trockenschrank Modell 100-800 (Fa. Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 37 °C für 2 d entwässert und abschließend mit SiC-Nassschleifpapier Korn P80 (Fa. Schmitz Metallographie GmbH, Herzogenrath, Deutschland) oberflächlich angeraut. Alle verwendeten und erhaltenen Substanzen wurden röntgenspektrometrisch analysiert.

3.2 Herstellung eines neuartigen Knochenzementes auf Basis von O-Phospho-L-serin und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden

3.2.1 Rohpulver und Rohpulversynthesen

Tabelle 4 gibt einen Überblick über die für die Zementsynthesen verwendeten Chemikalien. Einige Edukte der Reaktionen wurden dabei eigens hergestellt, wobei die Vorgänge im Folgenden beschrieben werden:

Für die Herstellung von Farringtonit-Rohpulver wurde Magnesiumhydrogenphosphat auf $\leq 125 \mu\text{m}$ gesiebt (Fa. Retsch Technology GmbH, Haan, Deutschland) und das erhaltene Pulver im Achatbecher 60 min bei 200 U/min in zwei Richtungen trocken gemahlen. Das gemahlene Pulver wurde mit Magnesiumphosphat im Verhältnis 2:1 für 60 min in der Planetenmühle bei 200 U/min in zwei Richtungen vermengt. Danach wurde das Produkt bei 1100 °C für fünf Stunden gesintert und im Anschluss gemörsert und auf $\leq 355 \mu\text{m}$ gesiebt. Abschließend wurde das Pulver nochmals für 60 min in zwei Richtungen trocken aufgemahlen.

Für die Herstellung eines amorphen Cattiit-Rohpulvers wurden 250 ml $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (0,4 M) und 250 ml MgCl_2 (0,6 M) in einem Becherglas vermengt und anschließend in einen Büchner-Trichter überführt. Dort wurde mit Hilfe einer Vakuumpumpe das ausgefallene Material über einen Filter von der Lösung getrennt. Es erfolgte eine Spülung mit 1 l Reinstwasser und 1 l Aceton und eine anschließende Trocknung bei 37 °C über Nacht. Abschließend wurde das Pulver im Hochtemperaturofen (Fa. Nabertherm GmbH, Lilienthal, Germany) wärmebehandelt. Dabei wurde der Ofen in 200 min auf 100 °C aufgeheizt. Nach einer Haltezeit von 30 min wurde die Temperatur in 200 min auf 400 °C

Material und Methoden

erhöht und diese Temperatur 6 h gehalten. Die Abkühlung auf Raumtemperatur erfolgte im Ofen. Dieses Temperaturregime wurde auch auf das $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ -Rohpulver angewendet.

Das TTCP-Rohpulver wurde aus 12,1 mol CaHPO_4 (Montetit) und 11,5 mol CaCO_3 synthetisiert. Hierfür wurden die beiden Ausgangspulver für 60 min im Pflugscharmischer vermischt. Anschließend wurde das Pulver in Alsint-Tiegel gefüllt und bei 1500 °C für 5 h gesintert, woraufhin eine Siebung auf 125 μm erfolgte.

Aus 0,716 mol CaHPO_4 und 0,33 mol CaCO_3 wurde das α -TCP-Rohpulver hergestellt. Die beiden Ausgangspulver wurden 60 min in Achatbechern in der Plantetenmühle PM 400 (Fa. Retsch GmbH, Haan, Germany) vermischt und anschließend in die Tiegel gefüllt, wobei ein Bullerring beigelegt wurde. Nach dem Sintern im Ofen bei 1400 °C wurde der Sinterkuchen auf <355 μm zerkleinert. Das Pulver wurde dabei 4 h trocken gemahlen.

Tabelle 4: Überblick über die verwendeten Rohpulver im Zuge der Zementsynthesen.

Rohpulver/ Chemikalie	Firma	Lot/ Batch-Nr.
O-Phospho-L-Serin (OPLS)	Sigma-Adrich GmbH, Steinheim, Deutschland	Lot: BCBP8155V, Lot: BCCC8927 Lot: BCBP8155V
Magnesiumoxid (291)	Magnesia GmbH, Lüneburg, Deutschland	Batch-Nr.: 14000853/0
Magnesiumoxid (27)	Magnesia GmbH, Lüneburg, Deutschland	Batch-Nr.: 17000587/0
Magnesiumoxid (2835)	Magnesia GmbH, Lüneburg, Deutschland	Batch-Nr.: 19000759/1
Magnesiumhydrogen- phosphat	Sigma-Aldrich/ Honeywell, Missouri, Vereinigte Staaten	Lot: E-1210
Magnesiumphosphat	VWR Prolabo, Pennsylvania, Vereinigte Staaten	Lot: 14K030040
Trimagnesiumphosphat- Hydrat	Acros Organics, New Jersey, Vereinigte Staaten	Lot: A0409007
Calziumhydrogenphosphat (Monetit)	Fluka Honeywell, New Jersey, Vereinigte Staaten	Lot: H1630 Lot: K32594

Rohpulver/ Chemikalie	Firma	Lot/ Batch-Nr.
	Avantor, Radnor, Pensilvania, Vereinigte Staaten	
Calciumcarbonat	Merck, Darmstadt, Deutschland	Lot: A0915620 Lot: A03720320
Phytinsäure- Natriumsalzhydrat	Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Deutschland	Lot: BCBV5077
D(-)-Mannitol	VWR Prolabo, Radnor, Pennsylvania, Vereinigte Staaten	Lot: 21A044111
Trinatriumphosphat- Dodecahydrat	Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Deutschland	Lot: MKCG1849 Lot: MKCJ3556
Magnesiumchlorid- Hexahydrat	Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Deutschland	Lot: 68996-095

3.2.2 Zementherstellung

Die Komponenten wurden vorab abgewogen, wobei die Komposition dahingehend moduliert wurde, dass einzelne Pulverbestandteile sowie das Pulver/ Flüssigkeits-Verhältnis (PLR) in Reihen probatorisch sukzessive verändert und jeweils die Auswirkungen erfasst wurden. Die Trockenmasse wurde dabei nach dem Abwiegen stets homogen vermengt und alle Komponenten anschließend auf der Glasplatte manuell mit einem Spatel zügig vermischt. Das homogene Gefüge wurde sofort in entsprechende Moulagen gefüllt, oder es wurden damit direkt die entsprechenden Prüfkörper verklebt (vgl Kapitel 3.3). In dieser Phase der experimentellen Findung geeigneter Zementkompositionen wurde zunächst methodisch eine definierte Menge an OPLS mit unterschiedlichen Mengen an MgO und/oder $Mg_3(PO_4)_2$ -Rohpulvern, welche wiederum in verschiedenen Verhältnissen zueinander probiert wurden, in systematischen Reihen vermengt. Die Trockenmassen wurden jeweils in unterschiedlicher PLR mit Wasser kombiniert. Dabei wurden die mutmaßlichen Auswirkungen einzelner Parameter auf die Zementeigenschaft erfasst. Als Qualitätsmerkmale dienten zunächst folgende Parameter: Eine unkomplizierte homogene Vermengung zur Zementpaste, eine Verarbeitungszeit von 30 s - 1 min, eine Formstabilität der Zementmasse nach 2-3 min und eine Abbindezeit

von höchstens 15 min (der Zement ist dann mit moderatem Druck von ~2 N oberflächlich nicht mehr einzukratzen). Zudem sollte die angemischte Paste ausreichend niedrigviskos sein, um sie in eine 1 ml Injektionsspritze zu überführen und so präzise auf die Prüfkörper für die Prüfung der Klebefestigkeit zu applizieren (vgl. Kapitel 3.3, Abbildung 6). Anfänglich war lediglich die empfundene Klebrigkeit an Glasplatte und Zementspatel entscheidend darüber, ob weitere Versuche mit der entsprechenden Zementkomposition durchgeführt wurden. Der Korpus an Kompositionen mit positiven Eigenschaften wurde mechanischen Tests (vgl. Kapitel 3.4) unterzogen. Bei der Prüfung der Abscherfestigkeit wurden zunächst HA-Prüfkörper verklebt und gegeneinander abgeschert, da die Präparation von frischem Knochen immens aufwändig ist und der größte Teil der Zementkompositionen in dieser Phase der experimentellen Findung geeigneter Zusammensetzungen untauglich ist. HA sollte als anorganische Komponente des Knochens diesem am nächsten kommen. Bei Klebefestigkeiten > ca. 3-5 MPa traten jedoch Brüche innerhalb der HA-Prüfkörper anstatt innerhalb der Klebefuge oder an der Adhäsivzone auf (vgl. Abbildung 5). In diesen Fällen wurde für die zu testende Komposition, wie in Kapitel 3.1.1 beschrieben, Knochen präpariert und an diesem die Scherfestigkeit eruiert. In Zusammenschau erreichten alle in dieser Arbeit vorgestellten Kompositionen die erforderlichen Festigkeitswerte für eine Testung am Knochen, weshalb den HA-Prüfkörpern lediglich in der Findungsphase geeigneter Zementkompositionen eine entscheidende Rolle zukam.

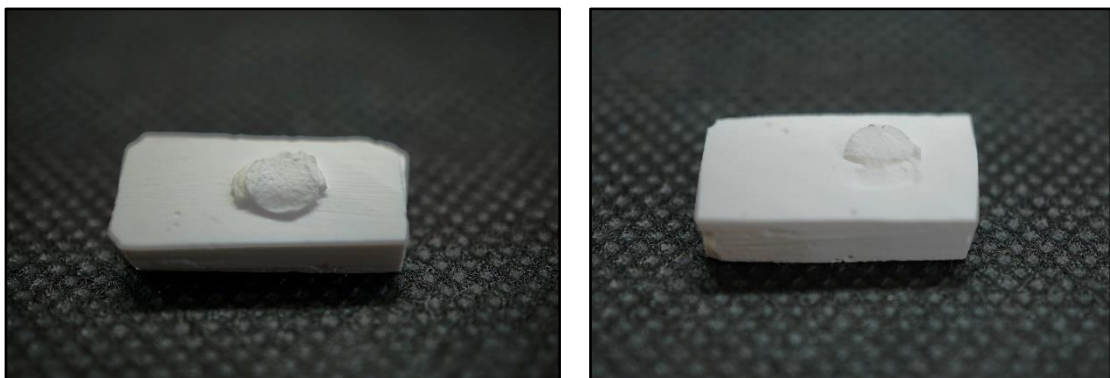


Abbildung 5: Beispiele für Brüche innerhalb der HA-Prüfkörper bei Testungen der Scherfestigkeit der Klebezemente.

Neben den beschriebenen Variationen der Verhältnisse der basalen Parameter zueinander innerhalb der Zementssysteme wurden zudem Magnesiumoxide mit abweichender Methodik in ihrer Calciniierung und somit mit unterschiedlicher Reaktivität verwendet. Die verwendeten Magnesiumoxide sind in Tabelle 5 aufgelistet.

Tabelle 5: Übersicht über die verwendeten Magnesiumoxide hinsichtlich Calciniierung, Partikelgröße und Reaktivität.

MgO	Calciniierung	Partikelgröße [µm]	Reaktivität
2835	Elektrisch geschmolzen (EFM)	12,7	wenig reaktiv
27	Kaustisch gebrannt (CCM)	7,6	mittel reaktiv
291	Kaustisch gebrannt (CCM)	9,8	mittel reaktiv

Nebst den beschriebenen Kombinationen von OPLS, Farringtonit, MgO und Wasser wurden auch Systeme ohne Farringtonit aus OPLS, MgO und Wasser untersucht. Zudem waren MgO-freie Systeme mit OPLS, TMP-Hydrat bzw. Cattiit und Wasser Teil der Untersuchung. Um eine ausreichende Reaktivität zu erzielen, wurden bei letzteren Zementssystemen die Magnesiumphosphat-Rohpulver nochmals wärmebehandelt und hierdurch amorphisiert (vgl. Kapitel 3.2.1).

Es kristallisierten sich sechs Zementkompositionen heraus (siehe Tabelle 6, *Komposition (1)-(5), Supplement (7)*), welche hinsichtlich ihrer besonderen mechanischen Eigenschaften Anklang fanden. Ein weiteres System auf Basis von OPLS ist Tetranite® (Fa. RevBio, Inc., Lowell, Vereinigte Staaten), welches für die Versorgung von frakturiertem Knochen und für die Stabilisierung von Metallkörpern im Knochen eine Revolutionierung der Standardbehandlungen verspricht^[9]. Einem Kongruent zu Tetranite® stellt die verwendete Referenz *Komposition (6)* dar. Diese entstammt „TABLE 1, Composition 1B“ aus dem Patent No. US 8,273,803 B2 und verspricht bei einer Aushärtezeit von 5 min eine Klebefestigkeit von 3300 kPa^[176]. Sie gilt als Referenz und beinhaltet TTCP als Reaktant zu OPLS. Die anderen Formulierungen beinhalten im Gegensatz dazu Magnesiumverbindungen als Reaktant. Die *Kompositionen (1)-(6)* wurden mechanischen Tests unterzogen (vgl. Kapitel 3.4) und Abbindeverhalten (vgl. Kapitel 3.5) sowie weiterführende Analysen (vgl. Kapitel 3.6) wurden angestellt. *Supplement-Komposition (7)* fußt auf zusätzlichen Experimenten mit vollständig

Material und Methoden

amorphem reinen Cattiit. Sie genügt den in diesem Kapitel beschriebenen Ansprüchen, wurde aber nicht systematischen mechanischen Tests und Analysen unterzogen. Sie gilt daher lediglich als nachträgliche Ergänzung.

Tabelle 6: Geeignete Kompositionen, welche mechanischen Testungen an Knochen, sowie Analysen des Abbindeverhaltens und weiterführenden Analysen unterzogen wurden.

Probenbezeichnung	Komposition	PLR	
(1)	OPLS Farringtonit MgO(291) H ₂ O	255mg 235mg 90mg 150µl	3,87
(2)	OPLS Farringtonit MgO(27) H ₂ O	255mg 205mg 130mg 150 µl	3,93
(3)	OPLS MgO(2835) H ₂ O	255mg 335mg 150 µl	3,93
(4)	OPLS MgO(2835) MgO(27) H ₂ O	255mg 235mg 100mg 165µl	3,58
(5)	OPLS TMP·H ₂ O (wärmebehandelt) H ₂ O	150mg 400mg 215µl	2,56
(6) ^[176] (Referenz)	OPLS TTCP H ₂ O	150mg 400mg 130µl	4,23
(7) (Supplement)	OPLS Cattiit (wärmebehandelt) H ₂ O	80mg 200mg 120µl	2,33

3.2.3 Zementmodifikationen

Auf Basis der *Kompositionen (2) und/oder (5)* aus Tabelle 6 (Kapitel 3.2.2) wurden diverse Zusatzversuche zur Modifikation angestellt, da sich diese beiden Kompositionen durch ihre gute Verarbeitbarkeit und/oder mechanischen Fähigkeiten profilierten. Die Modifikationen umfassten das Einbetten in eine Glycerin-Matrix, die Integration von dreiarmigem sternförmigen NCO-sP(EO-*stat*-PO) und die Inklusion von porogenem Mannit.

Der Versuch der Einbettung in eine Glycerin-Matrix erfolgte mit *Komposition (2)*. Hierbei kamen 7,5 g Trockenmasse (3,24 g OPLS; 2,61 g $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$; 1,65 g MgO(27)) auf 3,2 g Glycerin (Charge 280296312; Fa. Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Deutschland). Diese wurden im Planetenmischer Thinky ARV-310 (C3 Prozess- und Analysetechnik GmbH, Haar, Deutschland) ohne Vakuum 20 s mit 200 U/min und anschließend 3 min bei 2000 U/min vermengt. Die resultierende Paste wurde mit einer Spritze in die Moulagen für die Druckfestigkeitsprüfung überführt und anschließend bei 100 % Luftfeuchtigkeit für 24 h im Wasserbad (Fa. GFL, Burgwedel, Deutschland) ohne direkten Kontakt zum Wasser ausgehärtet. Die entstandenen Quader wurden einer Druckfestigkeitsprüfung unterzogen (vgl. Kapitel 3.4.1). Zudem wurde eine XRD-Analyse (vgl. Kapitel 3.6.1) und eine Elektronenmikroskopie (vgl. Kapitel 3.6.2) angestellt.

Für die Integration von dreiarmigem star-PEG wurden die Pulver der *Kompositionen (2) und (5)* abgewogen. Die Trockenmasse wurde mit unterschiedlichen Anteilen an dreiarmigem NCO-sP(EO-*stat*-PO) (Aquapol®; Fa. Hartmann, Heidenheim an der Brenz, Deutschland) versetzt. Dieselben Formulierungen wurden auch ohne Zugabe von Wasser probiert. Es resultierten stets Massen mit sehr klebrig-leimigem Charakter, jedoch ohne spontane Aushärtung. Bei einem SPEG-Anteil von 20 % erfolgte die Aushärtung nach 24 h. Mit diesen Zusammensetzungen wurden Knochenfügeteile verklebt und die Scherfestigkeiten eruiert (vgl. Kapitel 3.4.2).

Eine Inklusion von Mannit als Porogen erfolgte auf Basis der *Komposition (2)* (vgl. Tabelle 7).

Material und Methoden

Tabelle 7: Schema zur Modifikation von Komposition (2) mit Mannit-Porogen.

Trockenmasse	
OPLS	255 mg
$Mg_3(PO_4)_2$	205 mg
MgO(27)	130 mg
Mannit	x mg
Flüssigkeit (PLR=3,93)	
H_2O	x μl

Wie in Tabelle 8 gezeigt, wurde der Trockenmasse des Systems in aufsteigender Reihe Mannit (10-30 Gew.-%) zugesetzt und der Anteil an Wasser für die Reaktion entsprechend einer PLR von 3,93 g/ml erhöht. Hierbei wurden zum einen basale Parameter wie Verarbeitbarkeit, Aushärtezeit oder Druckfestigkeit (vgl. Kapitel 3.4.1) erfasst. Zum anderen wurden die Proben nach entsprechender Vorbereitung (vgl. Kapitel 3.6.2) der Elektronenmikroskopie zugeführt.

Tabelle 8: Relativer Mannit-Anteil in Gew.-% an der Trockenmasse von Komposition (2) [OPLS 255 mg, $Mg_3(PO_4)_2$ 205 mg, MgO(27) 130 mg, Mannit x mg] in aufsteigender Reihe. Entsprechend Anteil an H_2O gemäß einer PLR von 3,93 g/ml, sowie die Auswirkung auf die Aushärtezeit.

Relativer Mannit-Anteil [%]	Absoluter Mannit-Anteil [mg]	H_2O-Anteil [μl]	Aushärtezeit
10	59	165	10-15 min (unverändert)
15	88,5	172,5	10-15 min (unverändert)
20	118	180	20-30 min (verlängert)
25	147,5	187,5	20-30 min (verlängert)
30	177	195	20-40 min (verlängert)

3.3 Klebevorgang und Lagerung der Klebungen

Die Prüfkörper wurden kurz vor der Klebung der PBS-Lösung entnommen, und grobe Flüssigkeitsauflagerungen mit einem Filterpapier entfernt. Für die Verwendung im Test auf Scherfestigkeit wurden die zylindrischen auf den quaderförmigen Knochenproben mittig verklebt (vgl. Abbildung 6), wobei mit dem Ziel einer möglichst kleinen Klebefuge ein moderater Fingerdruck von etwa 1-2 N aufgewendet wurde. Überschüsse wurden vorsichtig mit einem Spatel entfernt. Die verklebten Knochenproben wurden nach dem Abbinden entweder umgehend (d.h. spätestens 15 min nach dem Verkleben) auf Scherfestigkeit getestet, oder im Trockenschrank Modell 100-800 (Fa. Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 37 °C gelagert und nach einer Klebstoffalterung von 1 h, 24 h oder 7 d der Scherfestigkeitsprüfung unterzogen. Insgesamt umfasste das Probenvolumen an Klebungen für jede dieser Zeiteinheiten für jede Klebezementkomposition jeweils 8 Proben (n=8).

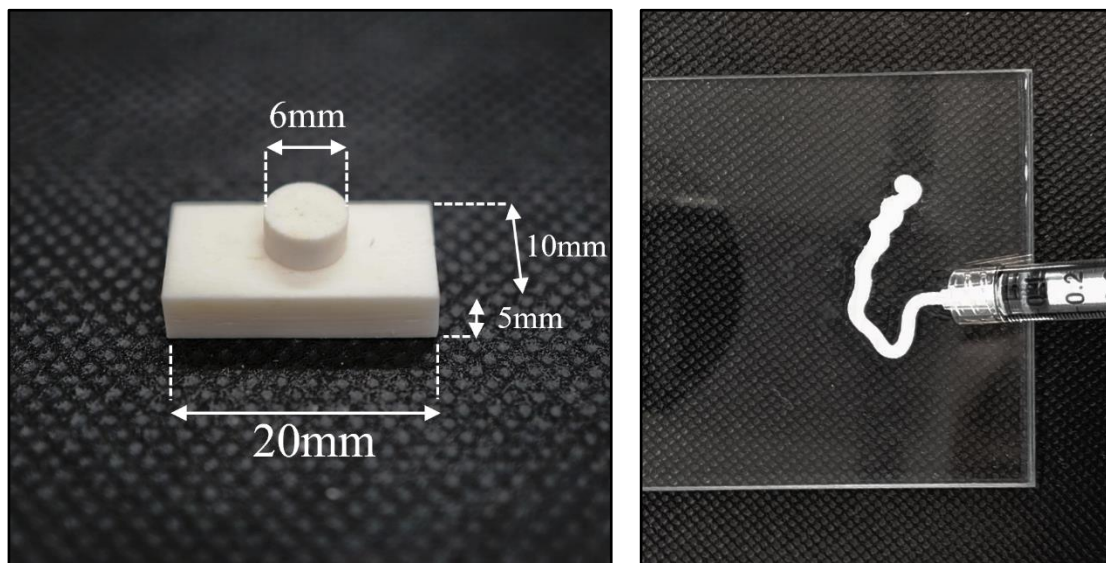


Abbildung 6: Verklebte Knochenprüfkörper für die Prüfung der Klebefestigkeit (links) und Darstellung der Injektionsfähigkeit der verwendeten Pasten (rechts).

3.4 Mechanische Testung

Die Festigkeitswerte wurden mit der Universalprüfmaschine Zwick/Roell Z010 (Fa. Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Deutschland) und der Prüfsoftware testXpert® II

ermittelt. Es wurde eine Prüfgeschwindigkeit von 1 mm/s gewählt. Ab einer Vorkraft von 1 N wurde gemessen und eine 10 kN-Messdose wurde verwendet.

3.4.1 Druckfestigkeit

Vielversprechende Klebezementproben, welche sich beim in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Vorgehen abzeichneten, wurden hinsichtlich ihrer Druckfestigkeit charakterisiert. Hierfür wurden die Zemente in Dublisisil®-Moulagungen eingebracht, sodass Zementquader mit einer Größe von 6 x 6 x 12 mm hervorgingen. Eventuelle Unebenheiten der Oberfläche wurden nach dem Aushärten mit SiC Sandpapier (Korn P80, Schmitz-Metallographie, Herzogenrath, Germany) egalisiert. Die Druckfestigkeit σ_c [Mpa] wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\sigma_c = \frac{F_{max}}{A} \quad \left[\frac{N}{mm^2} \right] \quad (5)$$

Hierbei ist F_{max} die während der Messung maximal aufgetretene Kraft und A die Fläche, auf welche diese Kraft orthogonal einwirkt. Die Messung wurde ab einer Prüfkörperverformung von 20 % bei ausbleibendem Kraftabfall automatisch abgebrochen.

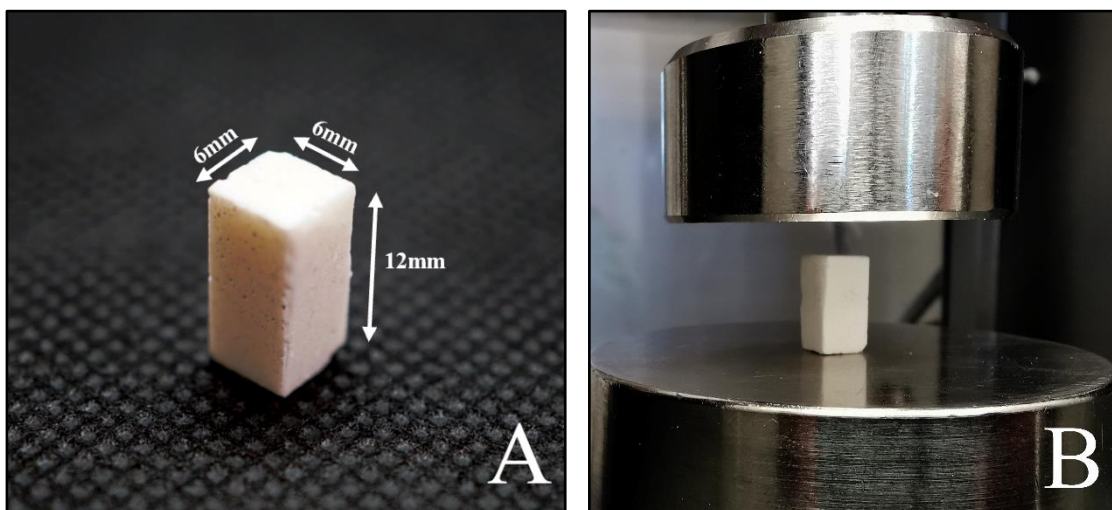


Abbildung 7: Zementquader (A) und Prüfaufbau zur Messung der Druckfestigkeit (B).

3.4.2 Abscherfestigkeit

Die Ermittlung der Abscherfestigkeit erfolgte nach den Beschreibungen aus der Dissertation „*In vitro Testverfahren zur Qualifizierung von Knochenklebstoffen*“ des Autors selbst von 2018^[53]. Die verwendete Prüfvorrichtung (siehe Abbildung 8) wurde in der hauseigenen Werkstatt des Instituts hergestellt. Die Knochen- bzw. Zementprüfkörper wurden in der entsprechenden Aussparung in der Prüfvorrichtung mit Hilfe der Fixierschraube arretiert, sodass lediglich das zylindrische Füge­teil in der Metallaussparung für den 66,23 g schweren Stempel zur Abscherung in Position kam. Nachdem der Stempel vorsichtig mit der spitzen Seite zur Klebefuge auf den zylindrischen Knochenkörper gelegt worden war, wurde zügig die Prüfmaschine gestartet. Durch diesen Prüfaufbau applizierte die Prüfmaschine axial Kraft auf den Stempel und übte eine entsprechende Schubspannung auf die Klebung aus bis ein Kraftabfall registriert wurde. Die Kraft F_0 des Stempels wurde zur maximal während der Prüfung aufgetretenen Kraft F_{max} addiert. Die Klebefestigkeit τ_B ergab sich dann mit Hilfe folgender Formel:

$$\text{Klebefestigkeit } \tau_B = \frac{F_{max} + F_0}{A} = \frac{F_{max}}{A} \left[\frac{N}{mm^2} \right] \hat{=} [MPa] \quad (6)$$

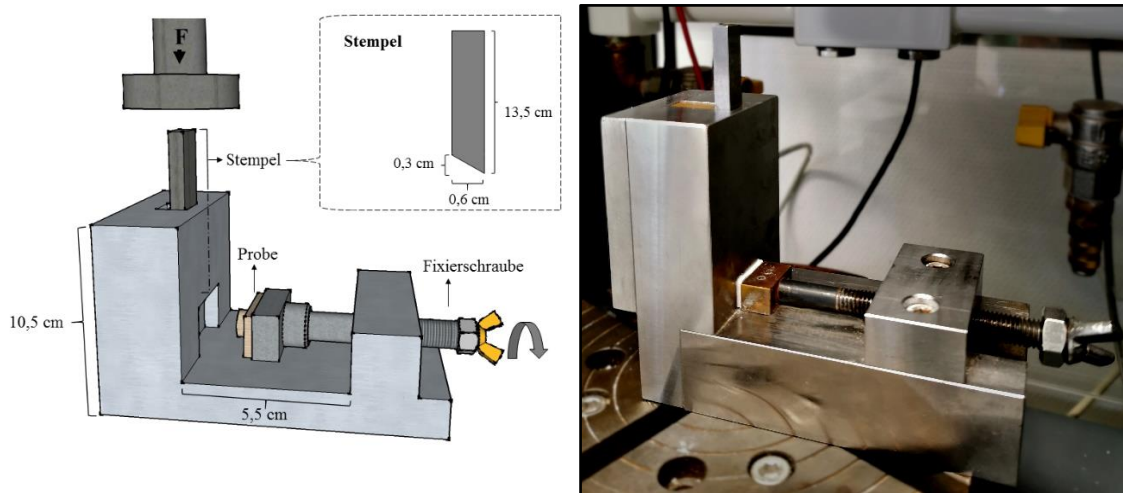


Abbildung 8: Aufbau der Prüfvorrichtung des Scherversuches.

3.5 Analyse des Abbindeverhaltens

3.5.1 Temperatur, pH-Wert und Gewichtsverlust in PBS-Lagerung

Die Abbinde­temperatur der Klebezemente wurde mit Hilfe des Thermometerstabes des Magnet­rührers MR Hei-Tec (Fa. Heidolph, Schwabach, Deutschland) und des Voltcraft K202 Datalogger Thermometers (Fa. Conrad Electronic SE, Hirschau, Deutschland) über 30 min erfasst.

Es erfolgte zudem eine pH-Metrie über 24 h dieser Klebezemente unter Verwendung des InoLab Level 2 (Fa. WTW, Weilheim, Deutschland).

Um das Verhalten der Zemente in wässrigem Milieu zu analysieren, wurden je Komposition zehn Prüfkörper hergestellt, wie sie auch für eine Druckfestigkeitsprüfung verwendet wurden (vgl. Abbildung 7). Die Prüfkörper verweilten jeweils 7 d bei 37 °C im Trockenschrank Modell 100-800 (Fa. Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) und wurden anschließend auf der Präzisionswaage E12145 (Fa. Ohaus, Greifensee, Schweiz) gewogen. Jeder Prüfkörper wurde in einen identischen Einweg-Probenbehälter überführt, welcher mit PBS-Lösung befüllt wurde. Nach jeweils 24 h (über insgesamt 10 d) wurde je ein Prüfkörper der Lösung entnommen, nochmal 7 d bei 37 °C gelagert und das Gewicht abschließend nochmals gemessen. Der Versuch wurde insgesamt dreimal durchgeführt, sodass je Tag abschließend drei Messergebnisse vorlagen.

3.5.2 Injizierbarkeit

Im Sinne einer leichten Anwendung via Injektion wurden geeignete Klebezemente und deren Modifikationen (vgl. Kapitel 3.2.3), nachdem sie auf einer Glasplatte homogen vermischt wurden, in eine 1 ml Luer-Lok™ Tip Spritze (Fa. BD, Franklin Lakes, Vereinigte Staaten) überführt und die Injizierbarkeit überprüft sowie dokumentiert.

3.5.3 Fourier-Transform-Infrarotspektrometer (FTIR)

Für die Analyse der Abbinde­reaktion, insbesondere des Verhaltens organischer Bestandteile, wurden die Ausgangspulver bzw. bereits ausgehärtete und anschließend per Mörser pulverisierte Zemente auf das ATR-Element des FTIR (Fa. Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusettes, Vereinigte Staaten) übertragen. Es wurde in einem Spektrum von 4000 bis 650 cm⁻¹ gemessen. Funktionelle Gruppen wurden anhand der

Absorptionsbanden, die durch Molekülschwingungen und -rotationen in Folge der infraroten elektromagnetischen Strahlung entstanden waren, identifiziert. Die entsprechenden Referenzspektren wurden aus „*Spektroskopische Methoden aus der organischen Chemie*“ von Manfred Hesse *et al.* entnommen^[184].

3.6 Weiterführende Analysen

3.6.1 Röntgendiffraktometrie (XRD)

Die Klebezemente wurden auf ihre mineralische Beschaffenheit hin mit Hilfe des Röntgendiffraktometer D8 Advance (Fa. Bruker, Billerica, Vereinigte Staaten) untersucht. Hierfür wurden alle verwendeten Rohpulver in den Messteller eingebracht und mit einer Glasplatte angepresst und glattgezogen. Die abgebundenen Zementkompositionen wurden zu Pulver kleingemörsert und mindestens 24 h im Trockenschrank Modell 100-800 (Fa. Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 37 °C gelagert. Mit ihnen wurde anschließend identisch zu den Rohpulvern verfahren.

Das Erstellen der Röntgendiffraktogramme sowie die Auswertung, Analyse und Quantifizierung der Beugungsmuster geschah mit den Softwareprodukten DIFFRAC.SUITE, DIFFRAC.COMMANDER, DIFFRAC.EVA und DIFFRAC.TOPAS (Fa. Bruker, Billerica, Vereinigte Staaten). Die Referenzmuster entstammen der Datenbank des International Centre of Diffraction Data (PDF-2, 1996).

Die verwendeten Referenzmuster sind Tabelle 9 zu entnehmen.

Tabelle 9: Verwendete Referenzmuster nach der ICDD-Datenbank PDF-2 (1996).

Name	PDF-Nummer
Farringtonit	PDF 33-0876
Magnesiumoxid	PDF 43-1022 PDF 04-0829
Tetracalciumphosphat	PDF 25-1137
α-Tricalciumphosphat	PDF 29-0359
Magnesiumphosphat	PDF 08-0038 PDF 32-0626

Es wurde eine monochromatische $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung auf die Proben angewendet. Die Beschleunigungsspannung umfasste 40 kV, der Emissionsstrom ergab 40 mA. Im Messdiagramm wurden die Intensitäten der Beugungsreflexe über einem Beugungswinkel von 2θ ($\theta \triangleq$ Einfallswinkel) aufgetragen. Der erfasste Winkelbereich betrug $10 - 70^\circ$. Es wurde mit einer Schrittgeschwindigkeit von 1,2 s/ Schritt und einer Schrittweite von $0,02^\circ$ gemessen.

3.6.2 Elektronenmikroskopie und Mikroskopie

Da Knochenproben auf Grund des hohen Gehalts an Restfeuchtigkeit Schäden am Elektronenmikroskop verursachen können, wurden abgescherte Klebefugen auf HA-Prüfkörpern betrachtet. Um ein ausreichendes Vakuum erreichen zu können, wurden die Proben zunächst in Form und Volumen reduziert (vgl. Abbildung 9), mindestens sieben Tage im Trockenschrank Modell 100-800 (Fa. Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 37°C gelagert und verweilten anschließend 48 Stunden im vakuumfesten Exsikkator, wobei Kieselgel mit Indikator (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) verwendet wurde. Die getrockneten Proben wurden zur Verbesserung der REM-Auflösung anschließend im Sputter-Coater EM ACE600 (Fa. Leica Camera, Wetzlar, Deutschland) bei 10^{-7} mbar mit 4,0 nm Platin beschichtet (siehe Abbildung 9). Bis zur Elektronenmikroskopie verweilten die Proben wiederum im Exsikkator.

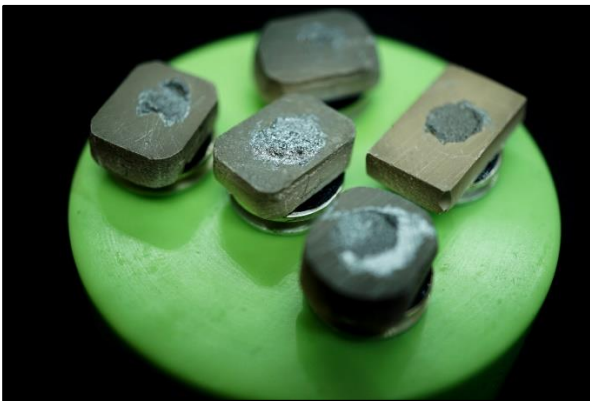


Abbildung 9: Platin-besputterte HA-Prüfkörper mit Klebefugenrückständen.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen erfolgten am Rasterelektronenmikroskop Zeiss Crossbeam 340 (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) bei 3,00 kV, einem Vakuum von $1,25 \times 10^{-6}$ mbar und einer Blende von $30,00 \mu\text{m}$. Es wurden

Material und Methoden

Sekundärelektronen verwendet. Die Bedienung erfolgte mit der Software Smart SEM®.

Von den Kleberesten am Knochen wurden zudem mikroskopische Aufnahmen am Stereomikroskop SteREO Discovery.V20 (Fa. Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) mit der 81 mm-Linse PlanApo 0,63x FWD angefertigt. Hierfür wurde die Software ZEN® (Fa. Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Eingehende Hinweise

Ziel der Arbeit war die Entwicklung neuartiger Formulierungen auf Basis von O-Phospho-L-Serin (OPLS) und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden, welche als Knochenkleber bzw. Knochenzement fungieren. Grundlage der Referenz bildet die Verbindung aus OPLS und TTCP, welche in diversen Publikationen bereits beschrieben ist^[175, 178, 180, 181, 183, 185, 186]. Insgesamt wurden sechs Formulierungen gefunden, welche in Tabelle 6 (Kapitel 3.2.2) ersichtlich sind. *Komposition (1)* besteht aus Farringtonit und MgO(291), welches Mg^{2+} schnell bereitstellt. *Komposition (2)* enthält statt MgO(291) ein anderes CCM (MgO(27)), welches eine andere Partikelgröße, spezifische Oberfläche sowie Reaktivität besitzt. Während in *Komposition (1) und (2)* Farringtonit zugesetzt ist, sind *Komposition (3) und (4)* frei von einem MgP. *Komposition (3)* repräsentiert zum einen den Versuch, mit vergleichsweise unreaktivem MgO(2835) höhere Druckfestigkeiten im System zu erzielen. Zum anderen wird MgO(2835) durch elektrische Schmelzung produziert und unterscheidet sich daher maßgeblich in seiner Herstellungsart von MgO(291) bzw. Mg(27). *Komposition (3)* erfüllt jedoch nicht die in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Anforderungen, da sie erst nach 24 h ausgehärtet und damit in der Funktion als Klebezement ungeeignet ist. *Komposition (4)* ist als Bestrebung zu verstehen, durch Verwendung von MgO(2835) und MgO(27) die in Kapitel 3.2.2 beschriebenen Anforderungen an einen Klebezement mit der Eigenschaft einer hohen Druckfestigkeit zu vereinen. Die *Kompositionen (5) und (7)* sind Formulierungen ohne MgO, in denen lediglich ein MgP die Reaktionsgrundlage bildet. Die *Komposition (6)* entspricht der Formulierung in „TABLE 1, Composition 1B“ im US-Patent (Patent No.: US 8,273,803 B2). Sie dient als Referenz und ist repräsentativ für eine Reaktion zwischen OPLS und einer Calciumverbindung, genauer TTCP. Der Kombination von OPLS mit Calciumverbindungen steht die Idee einer entsprechenden Kombination mit Magnesiumverbindungen gegenüber.

4.2 Mechanische Charakterisierung

4.2.1 Prüfung der Druckfestigkeit

Abbildung 10 zeigt die errechneten Mittelwerte aus der Prüfung der Druckfestigkeit (vgl. Kapitel 3.4.1). Dargestellt sind die *Kompositionen (1)-(6)* (vgl. Tabelle 6, Kapitel 3.2.2) aus dem jeweiligen Probenkorpus von $n=8$ je Zementkomposition je Zeiteinheit.

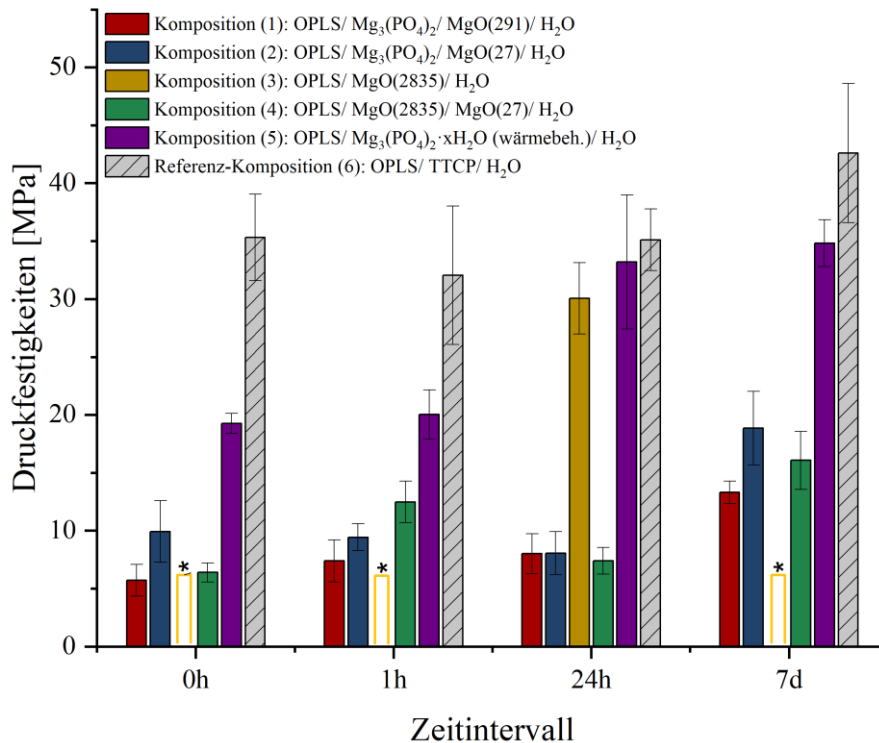


Abbildung 10: Druckfestigkeiten der Klebezementkompositionen (1)-(6):

- Rot: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / $MgO(291)$ / H_2O
- Blau: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / $MgO(27)$ / H_2O
- Gelb: OPLS/ $MgO(2835)$ / H_2O
- Grün: OPLS/ $MgO(2835)$ / $MgO(27)$ / H_2O
- Violett: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O
- Grau: OPLS/ TTCP/ H_2O (Referenz)

Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d. Mit „*“ markierte Messungen konnten nicht realisiert werden.

Die Ergebnisse der Druckfestigkeitsmessung der Zementkompositionen, welche im Folgenden beschrieben werden, sind nochmals im Einzelnen in den Abbildung 35 A-F (Kapitel 7IV, Anhang) dargestellt.

Komposition (1) (OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / $MgO(291)$ / H_2O) zeigte im zeitlichen Verlauf der Lagerung eine Progression der Druckfestigkeit von $5,72 \pm 1,38$ MPa bei initialer Messung auf $13,31 \pm 0,95$ MPa bei Messung nach 7 d. *Komposition (2)* (OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ /

Ergebnisse

MgO(27)/ H₂O) erreichte eine maximale Druckfestigkeit von 18,86±3,17 MPa ebenfalls nach 7 d, wobei innerhalb der ersten 24 h sogar eine leichte Regression der Festigkeitswerte von initial 9,92±2,67 MPa auf 8,06±1,86 MPa zum Zeitpunkt nach 24 h zu verzeichnen war. *Komposition (2)* wurde, wie in Kapitel 3.2.3 beschrieben, in eine Glycerin-Matrix eingebettet. Die Ergebnisse der Druckfestigkeitsprüfung sind in Gegenüberstellung zur Druckfestigkeit von *Komposition (2)* ohne Modifikation jeweils zum Zeitpunkt nach 24 h Abbildung 11 zu entnehmen.

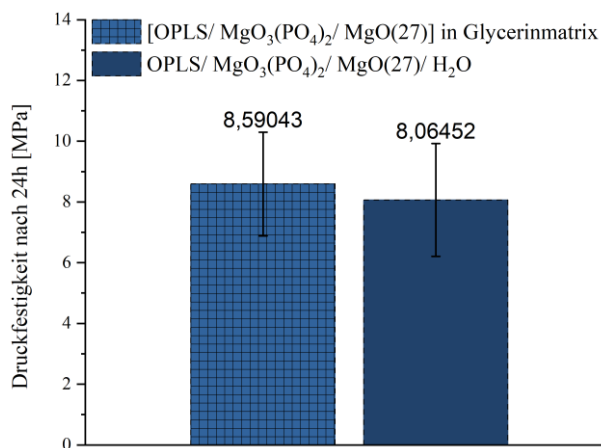


Abbildung 11: Vergleich der Druckfestigkeiten zwischen OPLS/Mg₃(PO₄)₂/MgO(27)/H₂O trocken gelagert bei 37 °C (nicht schraffiert) und OPLS/Mg₃(PO₄)₂/MgO(27) eingebettet in eine Glycerinmatrix und ausgehärtet unter Wasserdampf bei 37 °C (schraffiert). Die Messungen erfolgten nach 24

Komposition (3) (OPLS/ MgO(2835)/ H₂O) zeigte nach 24 h eine Druckfestigkeit von 30,05±3,08 MPa und damit die höchste Druckfestigkeit unter den MgO-basierenden Kompositionen. Frühere Messzeitpunkte konnten auf Grund der Aushärtezeit nicht realisiert werden. *Komposition (4)* (OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H₂O) erbrachte die höchste Druckfestigkeit nach 7 d mit 16,06±2,51 MPa bei initial 6,39±0,83 MPa. Auch *Komposition (5)* (OPLS/ Mg₃(PO₄)₂·xH₂O (wärmebeh.)/ H₂O) zeigte mit 34,82 ±2,03 MPa die höchsten Druckfestigkeitswerte am letzten Messzeitpunkt nach 7 d. *Komposition (6)* (OPLS/ TTCP/ H₂O) wurde Patent No.: US 8,273,803 B2^[176] entnommen und dient als Referenz. Es zeigte ebenfalls die höchsten Druckfestigkeitswerte nach 7 d (42,60±5,99 MPa) bei vergleichsweise hohen Druckfestigkeitswerten initial (35,32±3,73 MPa). Unter den Eigenkompositionen zeigte *Komposition (5)* mit Abstand die höchsten Druckfestigkeitswerte, welche bereits initial mit 19,25±0,88 MPa verhältnismäßig hoch waren.

4.2.2 Prüfung der Klebefestigkeit

In Abbildung 12 kommen die errechneten Mittelwerte der Prüfung der Klebe- bzw. Abscherfestigkeit zur Darstellung. Gezeigt sind wiederum die *Kompositionen (1)-(6)* (vgl. Tabelle 6, Kapitel 3.2.2) aus dem jeweiligen Probenkorpus von $n=8$ je Zementkomposition je Zeiteinheit. Alle Zemente erwiesen sich als injizierbar (vgl. Kapitel 3.5.2). Methodisch basieren diese Ergebnisse also auf der Applikation mittels Spritze. Außerdem sind bei den aufgeführten Ergebnissen durchweg Knochenprüfkörper verklebt worden. HA-Prüfkörper waren lediglich für die initiale experimentelle Phase verwendet worden (vgl. Kapitel 3.2.2). Ergebnisse von Festigkeitsprüfungen mit HA-Prüfkörpern sind in dieser Arbeit daher nicht aufgeführt.

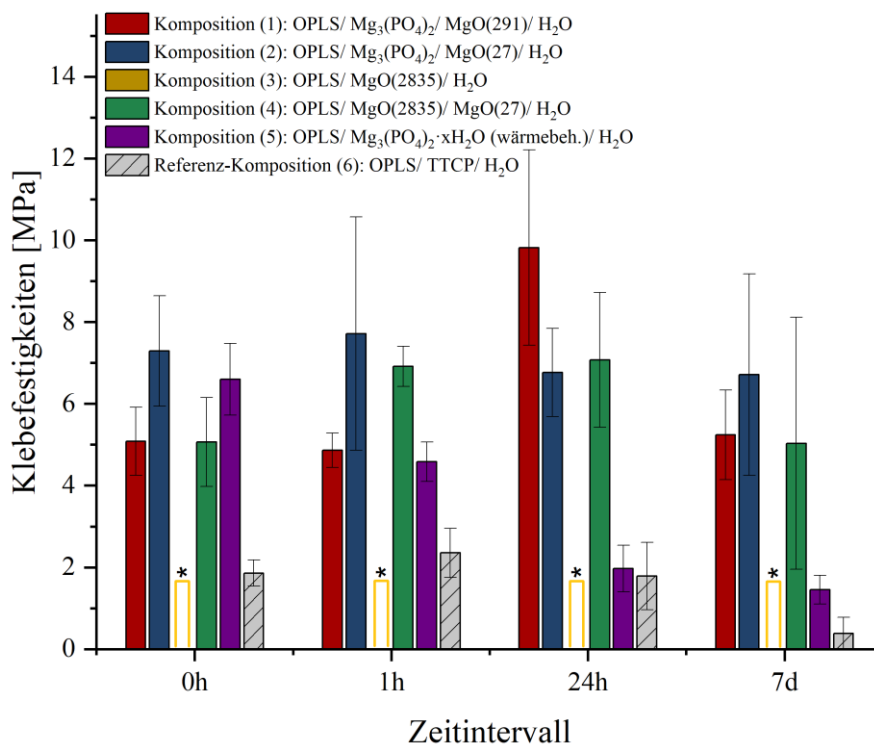


Abbildung 12: Klebefestigkeiten der Klebezementkompositionen (1)-(6):

- Rot: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(291)/ H_2O
- Blau: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O
- Gelb: OPLS/ MgO(2835)/ H_2O
- Grün: OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H_2O
- Violett: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O
- Grau: OPLS/ TTCP/ H_2O (Referenz)

Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d. Mit „*“ markierte Messungen konnten nicht realisiert werden.

Die Ergebnisse der Messungen, welche im Folgenden beschrieben werden, sind im Einzelnen nochmals in Abbildung 36 A-E (Kapitel IV,

Ergebnisse

Anhang) dargestellt.

Mit *Komposition (1)* (OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / $\text{MgO}(291)$ / H_2O) erhielt man zum Messzeitpunkt nach 24 h mit $9,81 \pm 2,39$ MPa die am höchsten gemessenen Klebefestigkeitswerte innerhalb des Systems sowie die höchst gemessenen Werte der Arbeit insgesamt. Zum Messzeitpunkt nach 7 d waren jedoch niedrigere Klebefestigkeitswerte von durchschnittlich $5,4 \pm 1,09$ MPa ermittelt worden. Initial erreichte das System eine Klebefestigkeit von $5,08 \pm 0,83$ MPa. Die höchst gemessenen Klebefestigkeitswerte zum initialen Messzeitpunkt wurden mit *Komposition (2)* (OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / $\text{MgO}(27)$ / H_2O) erreicht ($7,29 \pm 1,35$ MPa). Der maximale Wert wurde zum Zeitpunkt nach 24 h erreicht ($7,72 \pm 2,85$ MPa). Insgesamt waren die durchschnittlichen Messwerte bis hin zur Messung nach 7 d ($6,71 \pm 2,46$ MPa) aber auf einem ähnlich hohen Niveau. In *Komposition (2)* wurde, wie in Kapitel 3.2.3 beschrieben, 3-Arm star-PEG integriert. Die Ergebnisse der Prüfung der Klebefestigkeit nach 24 h dieser Modifikationen, nämlich OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / $\text{MgO}(27)$ / H_2O mit 20 % 3-Arm star-PEG, und dasselbe System ohne Wasser finden sich in **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** in Gegenüberstellung zu *Komposition (2)*.

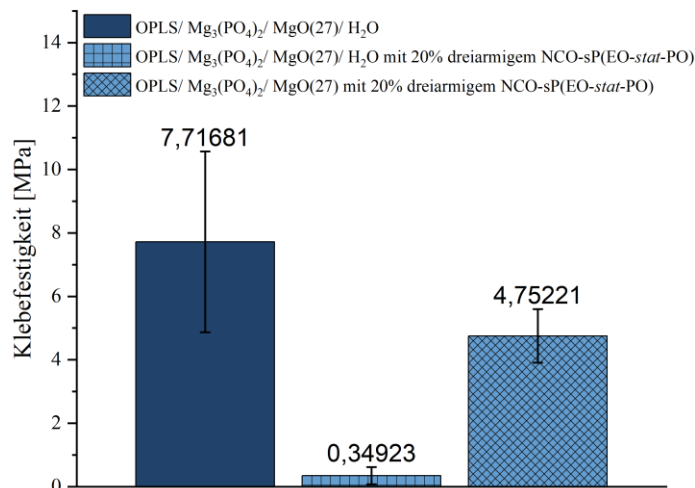


Abbildung 13: Vergleich der Klebefestigkeiten zwischen:

- OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / $\text{MgO}(27)$ / H_2O (nicht schraffiert; trocken ausgehärtet),
- OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / $\text{MgO}(27)$ / H_2O mit 20 % dreiarbigem NCO-sP(EO-stat-PO) (gerade schraffiert; trocken ausgehärtet),
- OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / $\text{MgO}(27)$ mit 20 % dreiarbigem NCO-sP(EO-stat-PO) (schräg schraffiert; unter 100 % Luftfeuchtigkeit ausgehärtet).

Die Messungen erfolgten nach 24

Die Ergebnisse der Druckfestigkeitsprüfung von *Komposition (4)* (OPLS/ $\text{MgO}(2835)$ / $\text{MgO}(27)$ / H_2O) wiesen initial Klebefestigkeiten von $5,07 \pm 1,08$ MPa auf. Die höchsten

Werte wurden zum Zeitpunkt nach 24 h erzielt $7,07 \pm 1,65$ MPa). *Komposition (5)* (OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.)/ H_2O) erreichte bereits initial ihre höchste Klebefestigkeit ($6,60 \pm 0,88$ MPa). Zeitlich war eine Regression der Werte festzustellen. Nach 7 d bewirkte das System eine Klebefestigkeit von $1,45 \pm 0,35$ MPa. Das Referenzsystem *Komposition (6)*^[176] (OPLS/ TTCP/ H_2O) erreichte initial Festigkeitswerte von $1,86 \pm 0,32$ MPa, während nach 1 h die höchst gemessenen Werte von im Mittel $2,35 \pm 0,60$ MPa erzielt wurden. Nach 7 d wurden lediglich Klebefestigkeitswerte von $0,38 \pm 0,38$ MPa erzielt, wobei nach dieser Zeit sich Fügebauteile untereinander schon während der Lagerung voneinander getrennt hatten (gewertet als Klebefestigkeit von 0 MPa). Mit den oben genannten Klebefestigkeitswerten blieb die Referenz somit deutlich hinter den Eigenkompositionen.

4.2.3 Klebesystemeigenschaften und Versagensmuster

Besondere Auffälligkeiten beim Klebevorgang und Unterschiede zwischen den Systemen werden im Folgenden beschrieben.

Bei Testung der *Kompositionen (1)* und *(2)* trat ein durchgehend kohäsives Versagensmuster mit Kleberückständen an stets beiden Fügebauteilen auf. Bei der Druckfestigkeitsprüfung zeigten die Proben dieser Kompositionen ein duktileres Versagensmuster. Gerade bei initialer Testung ließen sich Proben massiv (bei teils >50 % Verformung) komprimieren, bevor es zu einem relevanten Kraftabfall kam. Demgegenüber war bei der Referenz-*Komposition (6)* durchgehend ein Sprödebruch beobachtbar. Die beschriebenen Deformationseigenschaften und das Materialversagen spiegeln sich auch im Spannungs-Dehnungs-Diagramm wieder (siehe Abbildung 14). *Komposition (6)* zeigte, genauso wie die *Kompositionen (4)* und *(5)*, ein vorwiegend adhäsives Bruchmuster.

Ergebnisse

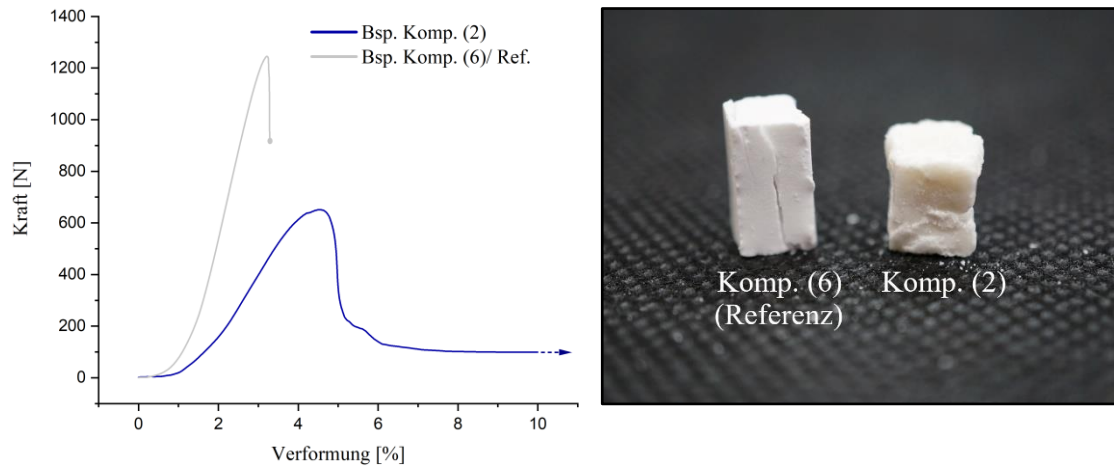


Abbildung 14: Beispiele charakteristischer Versagensmuster im Vergleich. Grau/Links: Spröder Bruch bei Referenz-Komposition (6) mit abruptem Materialversagen ohne plastische Deformation. Blau/Rechts: Duktiler Bruch bei Komposition (2) mit plastischer Deformation.

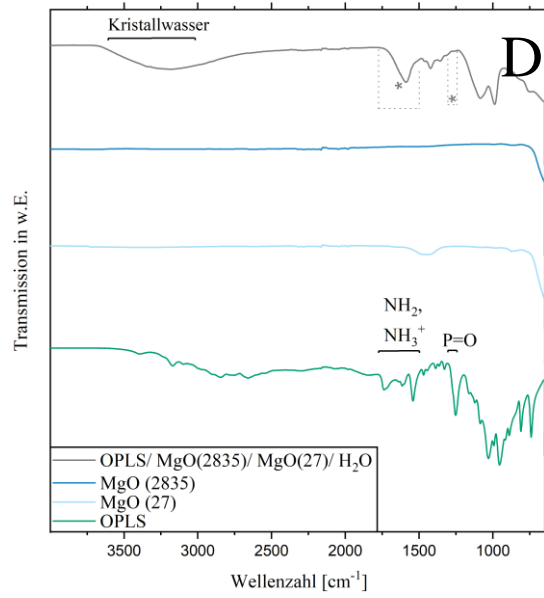
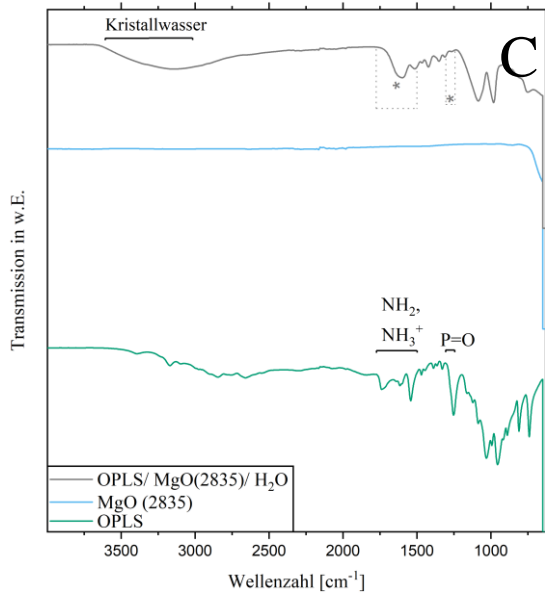
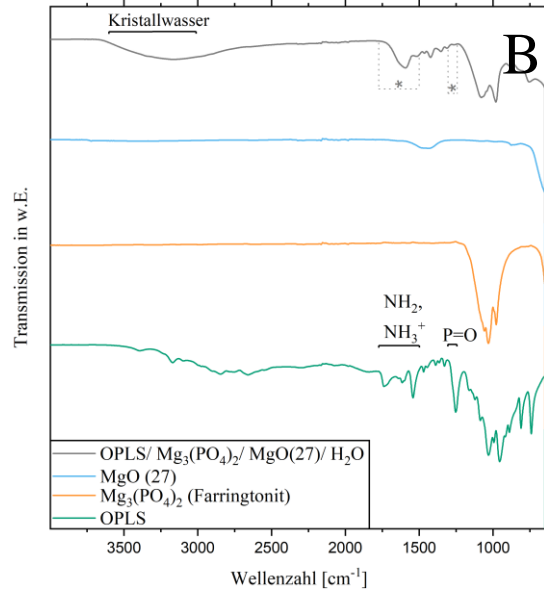
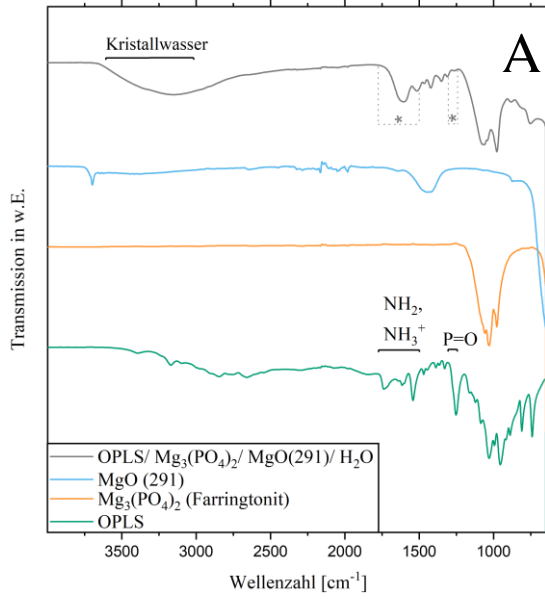
4.3 Systemcharakterisierung

4.3.1 Analyse mittels Fourier-Transform-Infrarotspektrometrie

Die Spektren der gemessenen *Kompositionen* (1)-(6) sind Abbildung 15 A-F zu entnehmen. Abbildung 16 zeigt zusätzlich das FTIR-Spektrum der mit Glycerol modifizierten *Komposition* (2) (vgl. 3.2.3).

Die Doppelbindungs-Valenzschwingung von $-\text{NH}_3^+$ hat charakteristischerweise starke Absorptionen im Bereich von 1500 cm^{-1} und zusätzlich im Bereich von 1600 cm^{-1} . Die entsprechenden Peaks sind im dargestellten Absorptionsspektrum von OPLS zu identifizieren. Bei allen gemessenen Zementen ist eine Auslöschung dieser Peaks zu beobachten, was eine Reaktion dieser funktionellen Gruppe nahelegt. Alle Festkörperspektren der abgebundenen Zemente zeigen eine breite wenig intensive Bande im Bereich von $3600\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, die Kristallwasser zugeordnet werden kann. Phosphorsäureester haben im Fingerprint-Bereich stark intensive charakteristische Absorptionen im Feld von $1250\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$. Ein kongruenter Peak ist im OPLS-Spektrum zu erkennen. Auch hier ist eine Peakauslöschung nach dem Abbinden zu verzeichnen, was eine Reaktion der Phosphorylgruppe suggeriert. Vorstellbar wäre generell, dass die funktionellen Gruppen beim Abbinden koordinative Bindungen mit Mg^{2+} -Ionen eingehen, sodass Chelatkomplexen resultieren.

Ergebnisse



Ergebnisse

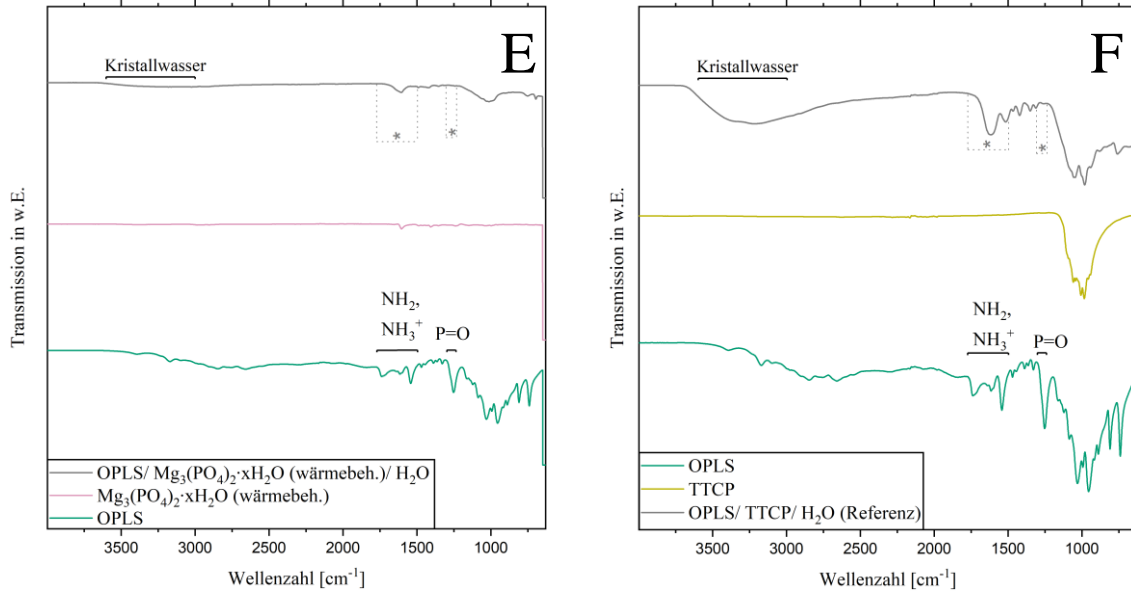


Abbildung 15: FTIR-Spektren (Transmissionsspektren) der jeweiligen Zementkompositionen (inkl. FTIR der Edukte) im Wellenbereich von 4000 bis 680 cm^{-1} .

Grau: Zementkomposition; Dunkelgrün: OPLS; Blau: MgO(291), MgO(27), MgO(2835); Olive: TTCP; Orange: Farringtonit; Rosa: $\text{Mg}_3\text{O}_8\text{P}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.); Cyan: Glycerol
 A: Spektrum von Komposition (1): OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / MgO(291)/ H_2O
 B: Spektrum von Komposition (2) OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O
 C: Spektrum von Komposition (3) OPLS/ MgO(2835)/ H_2O
 D: Spektrum von Komposition (4) OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H_2O
 E: Spektrum von Komposition (5) OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.)/ H_2O
 F: Spektrum von Komposition (6): OPLS/ TTCP/ H_2O .

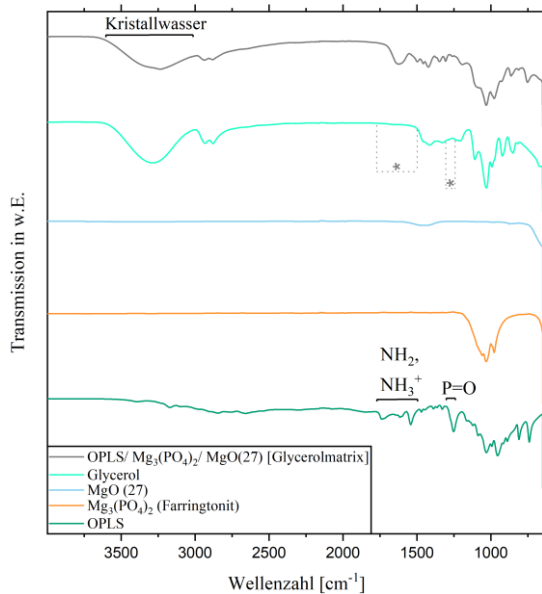


Abbildung 16: FTIR-Spektrum (Transmissionsspektrum) der modifizierten Zementkomposition (2) (OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / MgO(27)/ Glycerol; gehärtet unter 100% Luftfeuchtigkeit) (inkl. FTIR der Edukte) im Wellenbereich von 4000 bis 680 cm^{-1} .

4.3.2 Analyse mittels Röntgendiffraktometrie

In Abbildung 17- Abbildung 21 sind Röntgendiffraktogramme mit Intensitäten über einem Winkelbereich von 10 bis 70 ° der einzelnen Zementkompositionen sowie von Rohpulvern dargestellt.

Die MgO-Rohpulver von unterschiedlicher Reaktivität sind in Abbildung 17 A gezeigt. Sie weisen das gleiche Reflexmuster auf und sind nach PDF 43-1022 und PDF 04-0829 phasenrein. Dasselbe Reflexmuster findet sich bei *Komposition (3)* (OPLS/ MgO(2835)/ H₂O) und *(4)* (OPLS/ MgO(27)/ MgO(2835)/ H₂O) (siehe Abbildung 17 B).

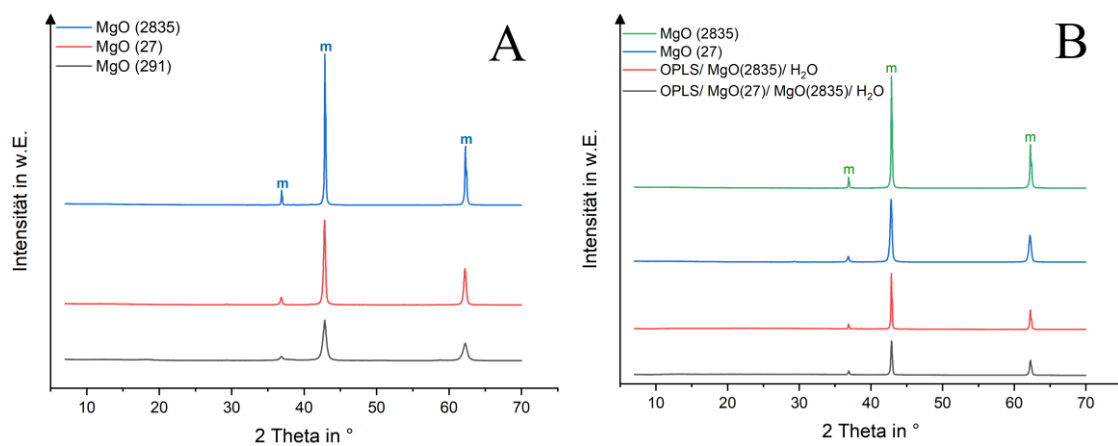


Abbildung 17: Difraktogramme von:

- A) MgO (2835) (blau), MgO (27) (rot) und MgO (291) (grau)
- B) OPLS/ MgO(2835)/ H₂O (Komp. (3)) (rot), OPLS/ MgO(27)/ MgO(2835)/ H₂O (Komp (4)) (grau) und den Komponenten MgO (2835) (grün) und MgO (27)(blau).

Die Difraktogramme der *Kompositionen (1)* (OPLS/ MgO(291)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) und *(2)* (OPLS/ MgO(27)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) kommen in Abbildung 18 zur Darstellung. Das ebenfalls gezeigte Mg₃(PO₄)₂-Rohpulver hat nach PDF 33-0876 phasenreine Farringtonit-Reflexe. Dies konnte auch in den *Kompositionen (1)* und *(2)* nachgewiesen werden, welche zusätzlich Magnesiumoxid-Peaks nach PDF 43-1022 und PDF 04-0829 enthalten und somit mehrphasig sind.

Ergebnisse

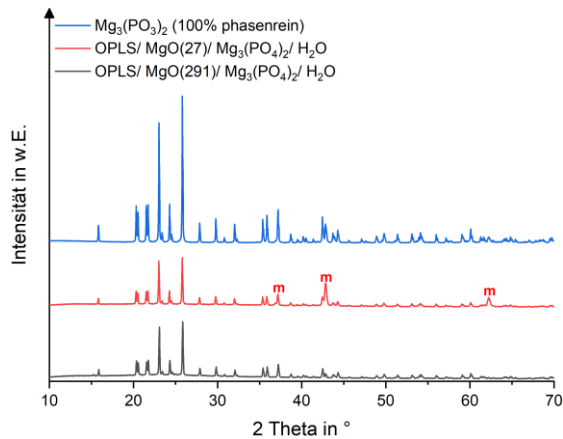


Abbildung 18: Diffraktogramme von OPLS/ MgO(291)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O (Komp. (1) (schwarz), OPLS/ MgO(27)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O (Komp. (2) (rot) und deren Komponente Mg₃(PO₄)₂ (blau) („m“: Magnesiumoxid).

Abbildung 19 bildet die Phasenzusammensetzung von *Komposition (5)* (OPLS/ TTCP/ H₂O) und des verwendeten TTCP-Rohpulvers im Winkelbereich von 20-40 ° ab. Die Beugungsmuster entsprechen α -TCP (Ca₃(PO₄)₂, PDF 29-0359) und TTCP (Ca₄(PO₄)₂O, PDF 25-1137). Dieselben Beugungsmuster ergeben XRD-Analysen der *Komposition (6)* (OPLS/ TTCP/ H₂O).

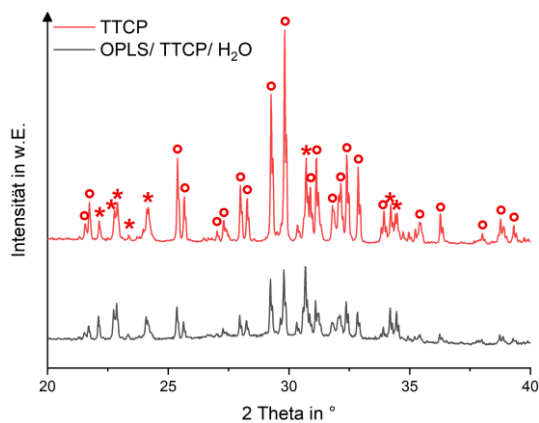


Abbildung 19: Diffraktogramm von OPLS/ TTCP/ H₂O (Komp. (6)) (grau) und dessen Komponente TTCP (rot) („*“: Ca₄(PO₄)₂O, (4CaO·P₂O₅); “o“: Ca₃(PO₄)₂).

Der Unterschied zwischen dem Beugungsmuster des in *Komposition (5)* enthaltenen Trimagnesiumphosphat-Hydrats (Mg₃(PO₄)₂·xH₂O) und dem Beugemuster desselben Rohpulvers nach der in Kapitel 3.2.1 beschriebenen Wärmebehandlung wird in

Ergebnisse

Abbildung 20 ersichtlich. Das TMP-Hydrat zeigt Peaks für das Octa- und Deca-Hydrat des Trimagnesiumphosphats. Zudem sind auch Peaks für Brucit ($\text{Mg}(\text{OH})_2$) und Newberyit ($\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) auszumachen. Wärmebehandeltes $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ präsentiert sich weitestgehend amorph bei vereinzelt Peaks, welche sich Magnesiumoxid und Pyrophosphat zuordnen lassen.

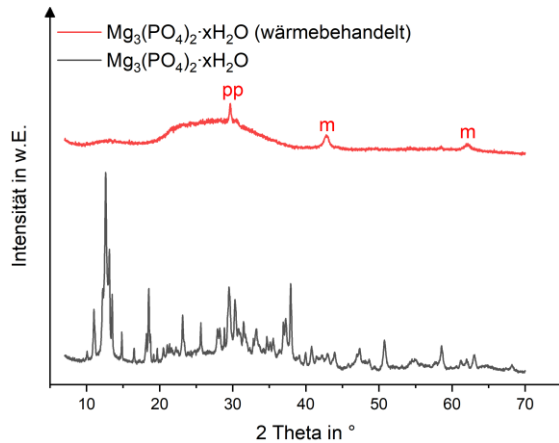


Abbildung 20: Diffraktogramm von $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ vor (grau) und nach Wärmebehandlung (rot) („pp“: Pyrophosphat; „m“: Magnesiumoxid).

Das Ergebnis der Wärmebehandlung (vgl. Kapitel 3.2.1) des Cattiit-Rohpulvers, das in der Supplement-Komposition (7) enthalten ist, ist in Gegenüberstellung zum Diffraktogramm des wärmebehandelten TMP-Hydrats in Abbildung 21 A dargestellt. Wärmebehandeltes Cattiit-Rohpulver weist dabei keine Peaks auf und präsentiert sich somit vollständig amorph. Die Magnesiumoxid zugeordneten Peaks im wärmebehandelten TMP-Hydrat lassen sich nach Reaktion mit OPLS und Wasser (gemäß Komposition (5)) nicht mehr röntgendiffraktometrisch reproduzieren (vgl. Abbildung 21 B).

Ergebnisse

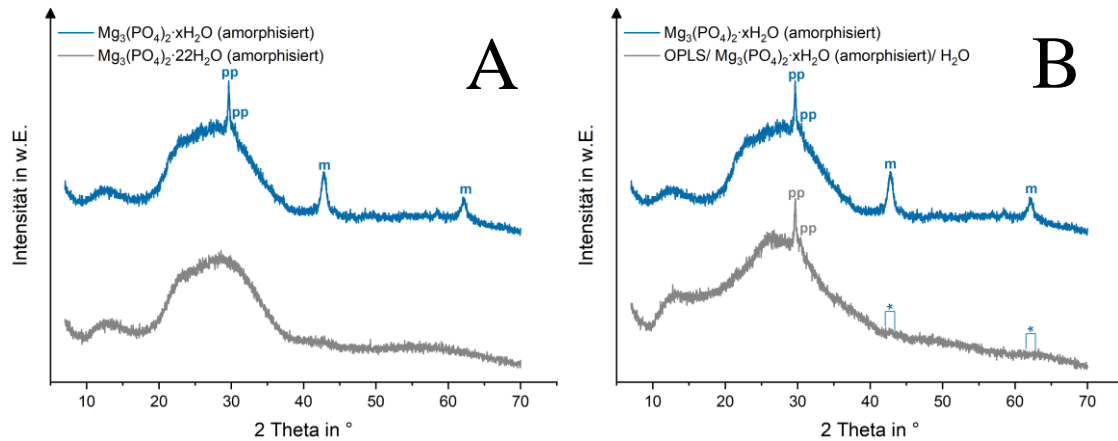


Abbildung 21: Diffraktogramme von:

- wärmebehandeltem $Mg_3O_8P_2 \cdot xH_2O$ (blau) im Vergleich zu wärmebehandeltem $Mg_3(PO_4)_2 \cdot 22H_2O$ (grau)
- OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O (Komp. (5)) (grau) im Vergleich zu seiner Komponente $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.) (blau) (B) („pp“: Pyrophosphat; „m“: Magnesiumoxid).

4.3.3 Analyse von Temperatur, pH-Wert und Gewichtsverlust bei PBS-Lagerung

Die maximal erreichte Temperatur während der Abbindereaktionen der potentiell als Knochenklebstoff tauglichen Zemente betrug bei *Komposition (1)* 31,4 °C, bei *Komposition (2)* 27,8 °C, bei *Komposition (4)* 29,7 °C, bei *Komposition (5)* 32,5 °C und bei *Komposition (6)* 30,0 °C.

Der zeitliche Verlauf des pH-Wertes während der einzelnen Abbindereaktionen ist in Abbildung 22 dargestellt.

Den sauersten pH-Verlauf zeigte *Komposition (3)*. Bei initialer Messung betrug der pH-Wert 3,00. Dieser stieg innerhalb von 15 min auf 3,69, nach 1 h auf 4,96 und nach 24 h auf 4,94. Demgegenüber zeigte *Komposition (4)* den insgesamt basischsten pH-Verlauf während des Abbindens. Der initial gemessene pH-Wert betrug 5,28. Nach 15 min stieg dieser auf 7,9, nach 1 h auf 8,01 und nach 24 h auf 8,87.

Ergebnisse

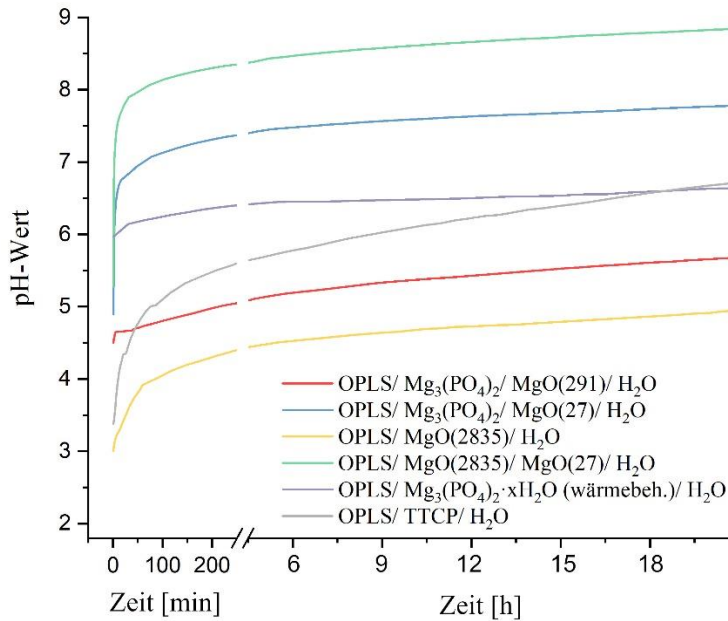


Abbildung 22: pH-Werte im zeitlichen Verlauf während der Abbindereaktion.

Tabelle 10 zeigt den Gewichtsverlust der Referenz-Komposition (6) bei Lagerung in PBS-Lösung, wohingegen Tabelle 11 entsprechend den Gewichtsverlust von Komposition (5) veranschaulicht. Abbildung 23 stellt diesen Gewichtsverlust im zeitlichen Verlauf in Gegenüberstellung graphisch dar.

Tabelle 10: Gewichtsverlust in % von Referenz-Komposition (6) (OPLS/ TTCP/ H₂O) durch Lagerung in PBS im zeitlichen Verlauf von 10 Tagen.

Zeit der Lagerung [d]	Gewichtsverlust [Gew. %] [Mittelwerte aus je n=3]	Standardabweichung [n=3]
1	5,1575	0,4522
2	4,5386	0,4964
3	6,7492	0,6326
4	6,1083	0,1897
5	6,0695	0,4006
6	6,7097	0,6795
7	4,7632	0,2150
8	6,5730	0,1474
9	5,0052	0,7828
10	5,9715	0,4394
Mittelwert:	5,76	

Ergebnisse

Tabelle 11: Gewichtsverlust in % von Komposition (5) (OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O) durch Lagerung in PBS im zeitlichen Verlauf von 10 Tagen.

Zeit der Lagerung [d]	Mittelwerte [n=3] des Gewichtsverlustes [Gew. %]	Standardabweichungen [n=3]
1	8,8966	0,7116
2	7,9135	0,2465
3	9,1173	0,4330
4	9,1247	0,0437
5	7,2916	0,5218
6	9,4324	0,1868
7	6,9619	1,0236
8	9,3181	0,4014
9	6,9572	0,7930
10	6,9241	1,0234

Mittelwert:	8,19
--------------------	-------------

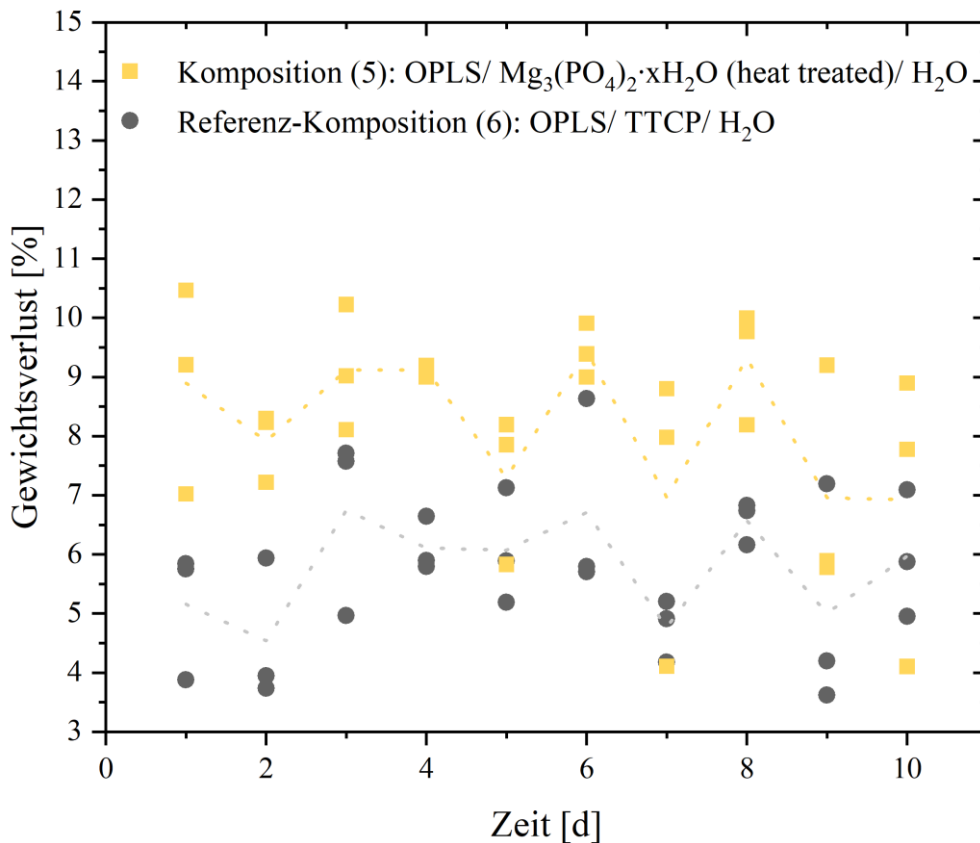


Abbildung 23: Gewichtsverlust [Gew.%] von Komposition (5) (OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O) und Komposition (6) (OPLS/ TTCP/ H_2O) durch Lagerung in PBS im zeitlichen Verlauf von 10 Tagen.

4.3.4 Elektronenmikroskopische Analyse

Im Folgenden sind die angefertigten rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen dargestellt und beschrieben. Dabei gibt Abbildung 24 einen generellen Überblick über die einzelnen ersichtlichen Bestandteile der Aufnahmen.

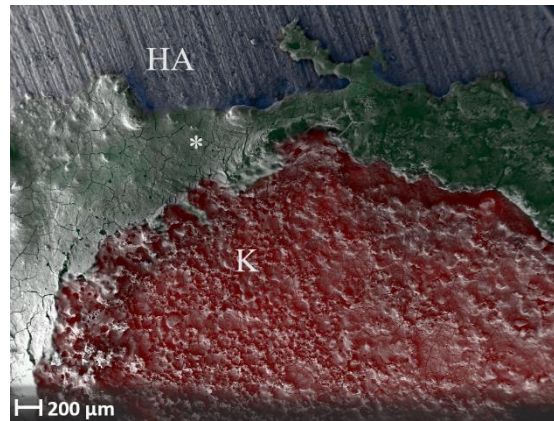


Abbildung 24: Beispiel einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme (computergrafisch angefärbt) einer abgesicherten Klebefuge auf einem Hydroxylapatit-Prüfkörper nach Testung der Klebefestigkeit.

Rot: Abgesicherte Klebefuge (K); Grün: Überstand der Klebefuge ohne mechanische Testung (*); Blau: Hydroxylapatit-Prüfkörper bearbeitet mit Korn P 80 (HA) in 25-facher Vergrößerung.

Abbildung 25 zeigt REM-Aufnahmen von Klebefugen auf HA der *Kompositionen* (1) und (2) nach Versagen im Scherversuch. In 25-facher und 50-facher Vergrößerung (A,B,D,E) suggeriert das mikroskopische Aussehen einen Wabenbruch. Diese kohäsiv gebrochenen Klebefugen lassen einen zähen duktilen Bruch vermuten. In höheren Vergrößerungen (C, F) werden entsprechende Rissformationen der gebrochenen Klebefugen sichtbar, die Ausdruck des Versagens während der Prüfung oder einer Versprödung während der nötigen Trocknung der Proben vor Einsatz im REM sein könnten.

Ergebnisse

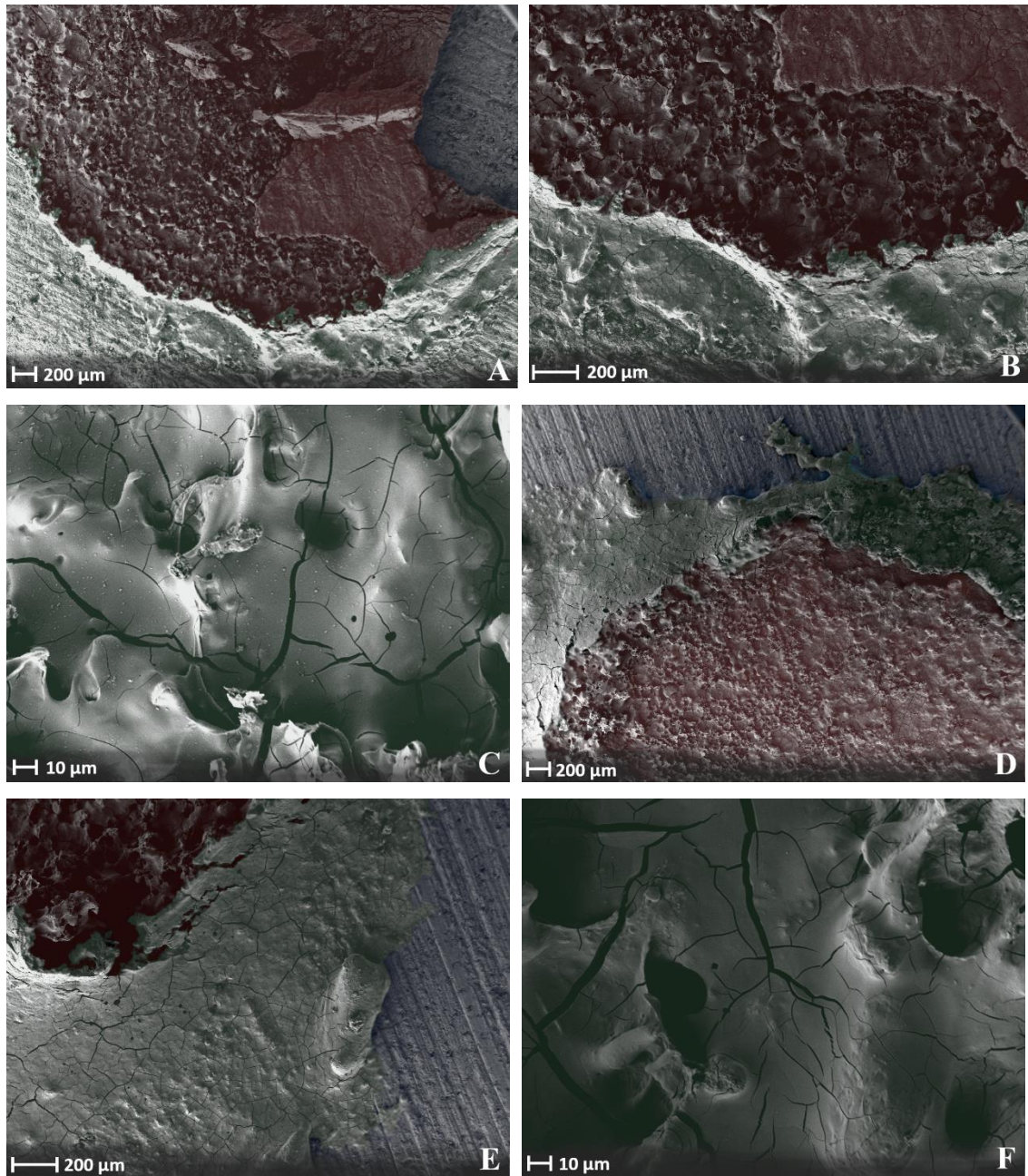


Abbildung 25: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus:

- (A)-(C): Komposition (1) (OPLS/ MgO(291)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) in 25-facher (A), 50-facher (B) und 500-facher (C) Vergrößerung.
- (D)-(F): Komposition (2) (OPLS/ MgO(27)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) in 25-facher (D), 50-facher (E) und 500-facher (F) Vergrößerung.

Die Klebungen befinden sich auf einem HA-Prüfkörper nach Versagen im Abscherversuch. Die Verwendung von Knochen im REM war wegen möglicher Schäden durch Restfeuchtigkeit nicht zulässig. Die Rohbilder wurden zur besseren Orientierung computergrafisch eingefärbt.

- Rot: Abgescherter Klebeverband.
- Grün: Überstand der Klebeverband ohne mechanische Prüfung.
- Blau: Hydroxylapatit-Prüfkörper, bearbeitet mit Körnung P 80.

Ergebnisse

Die Aufnahmen eines Prüfkörpers aus *Komposition (3)* sieht man in Abbildung 26 (A-D). Auffällig sind hier Poren, welche auch makroskopisch erkenntlich sind und Durchmesser von etwa 0,1-0,3 mm veranschlagen. In hoher Vergrößerung (C, D) sind ebenso krustenförmige Rissstrukturen ersichtlich.

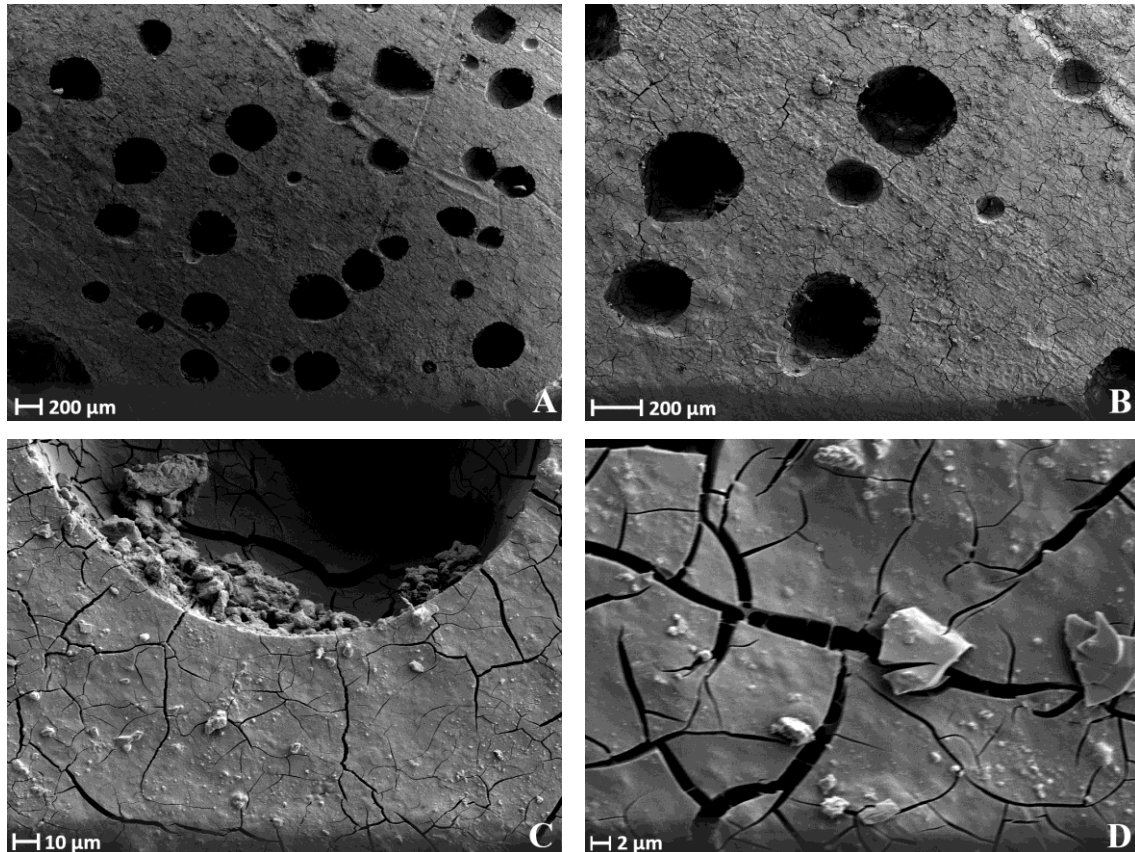


Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus *Komposition (3)* (OPLS/ $MgO(2835)/H_2O$) in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

REM-Aufnahmen von Klebefugen auf HA der *Komposition (4)* nach Versagen im Scherversuch (Abbildung 37 (A-C)) befinden sich im Anhang (Kapitel IV). Waben, wie bei *Komposition (1)* und (2) sind im abgescherten Areal allenfalls angedeutet sichtbar. Abbildung 27 (A-F) zeigt Aufnahmen von *Komposition (5)* (A-C) und *Komposition (6)* (D-F), die sich in ihrer mikroskopischen Morphologie ähneln. Die Struktur dieser vornehmlich adhäsiv gebrochenen Kleboberflächen wäre mit einem eher spröden Bruchmuster vereinbar (vgl. Kapitel 0).

Ergebnisse

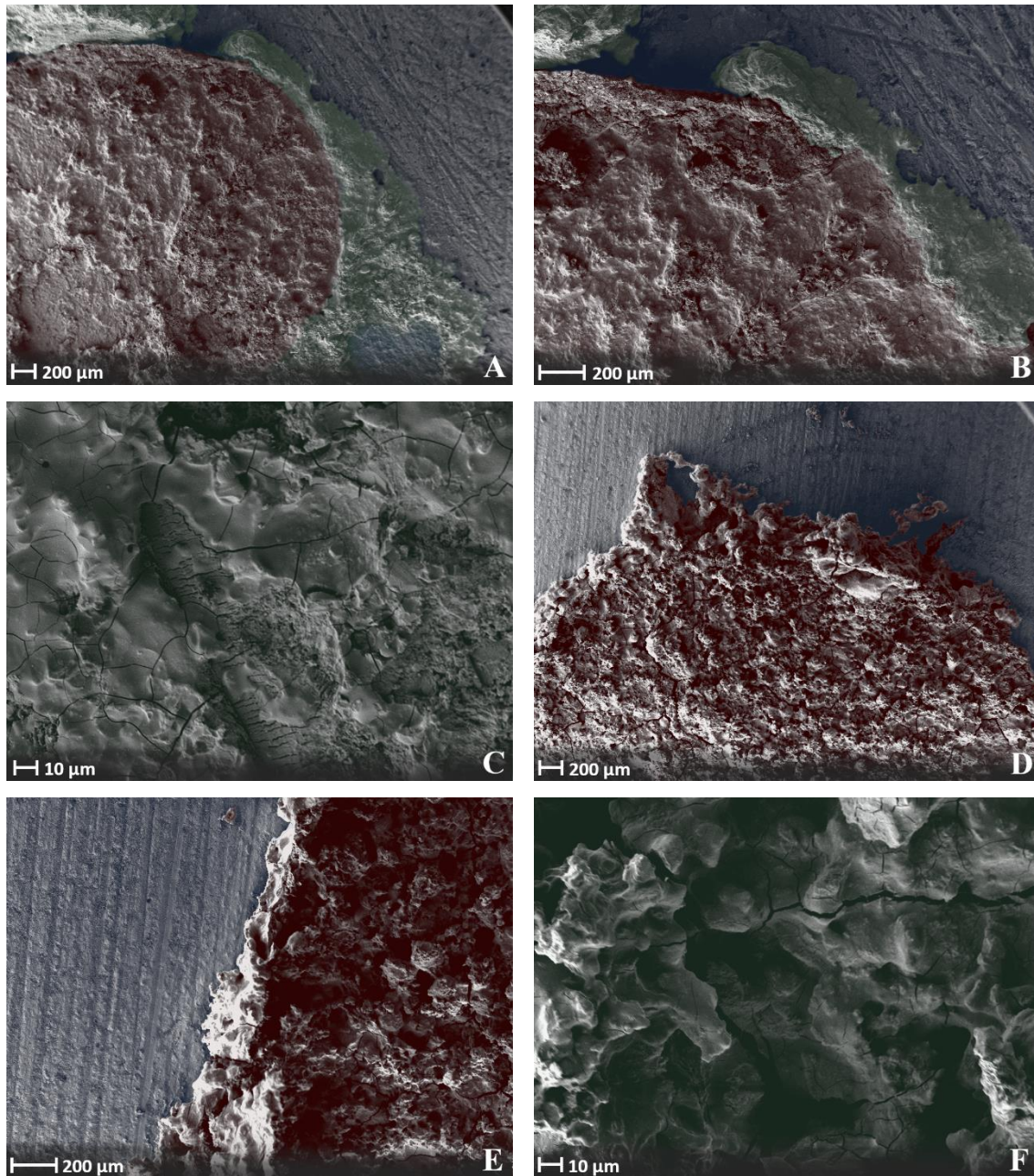


Abbildung 27: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus:

- (A)-(C): aus Komposition (5) (OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O) in 25-facher (A), 50-facher (B) und 500-facher (C) Vergrößerung.
- (D)-(F): Komposition (6) (OPLS/ TTCP H_2O) in 25-facher (D), 50-facher (E) und 500-facher (F) Vergrößerung.

Die Klebungen befinden sich auf einem HA-Prüfkörper nach Versagen im Abscherversuch. Die Verwendung von Knochen im REM war wegen möglicher Schäden durch Restfeuchtigkeit nicht zulässig. Die Rohbilder wurden zur besseren Orientierung computergrafisch eingefärbt.

- Rot: Abgeschnittene Klebeverbindung.
- Grün: Überstand der Klebeverbindung ohne mechanische Prüfung.
- Blau: Hydroxylapatit-Prüfkörper, bearbeitet mit Körnung P 80.

Abbildung 28 (A-D) gibt die Elektronenmikroskopie der Glycerin-modifizierten Komposition (2) (vgl. Kapitel 3.2.3) wieder. Die Architektur des Prüfkörpers wirkt

Ergebnisse

mikroskopisch unstrukturierter und weniger homogen. Gerade in hohen Vergrößerungsstufen (C, D) zeigen sich hinsichtlich der Oberflächenstruktur Parallelen zur *Komposition (2)* (vgl. Abbildung 25, D-F) im Hinblick auf die krustenförmigen Risse.

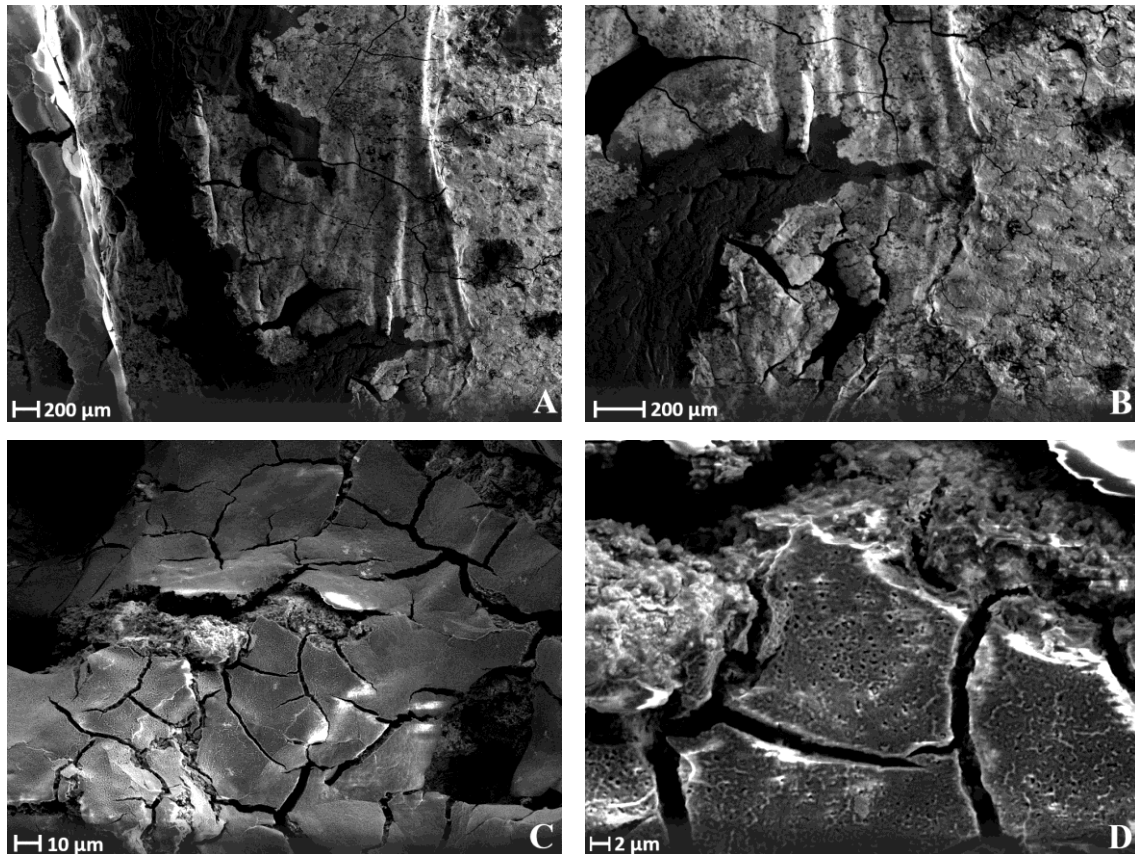


Abbildung 28: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus der Glycerin-modifizierten *Komposition (2)* (OPLS/ MgO(2835)/ Glycerin) in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

Kapitel 3.2.3 beschreibt die Methodik beim Zusatz von Mannit-Porogen. Dabei verlängert sich die Aushärtezeit ab einer Zugabe von 20 % Mannit am Trockenanteil. Wie Abbildung 29 zeigt, finden sich schon bei einem Mannit-Anteil von 10 % Poren mit Durchmessern von etwa 50-200 µm. Analoges bringen REM-Aufnahmen bei einem höheren Mannit-Anteil von 15 % oder 20 % zur Darstellung (vgl. Abbildung 38 und Abbildung 39, Anhang Kapitel IV). Ab einem Anteil von 25 % zeigen sich zwar weiterhin Poren, es präsentieren sich jedoch vermehrt prismenförmige Kristalle (vgl. Abbildung 30 C, D), welche ungelöstem Mannit entsprechen könnten. Gleichartiges bieten Aufnahmen mit 30 % Mannit (vgl. Abbildung 40, Anhang Kapitel IV).

Ergebnisse

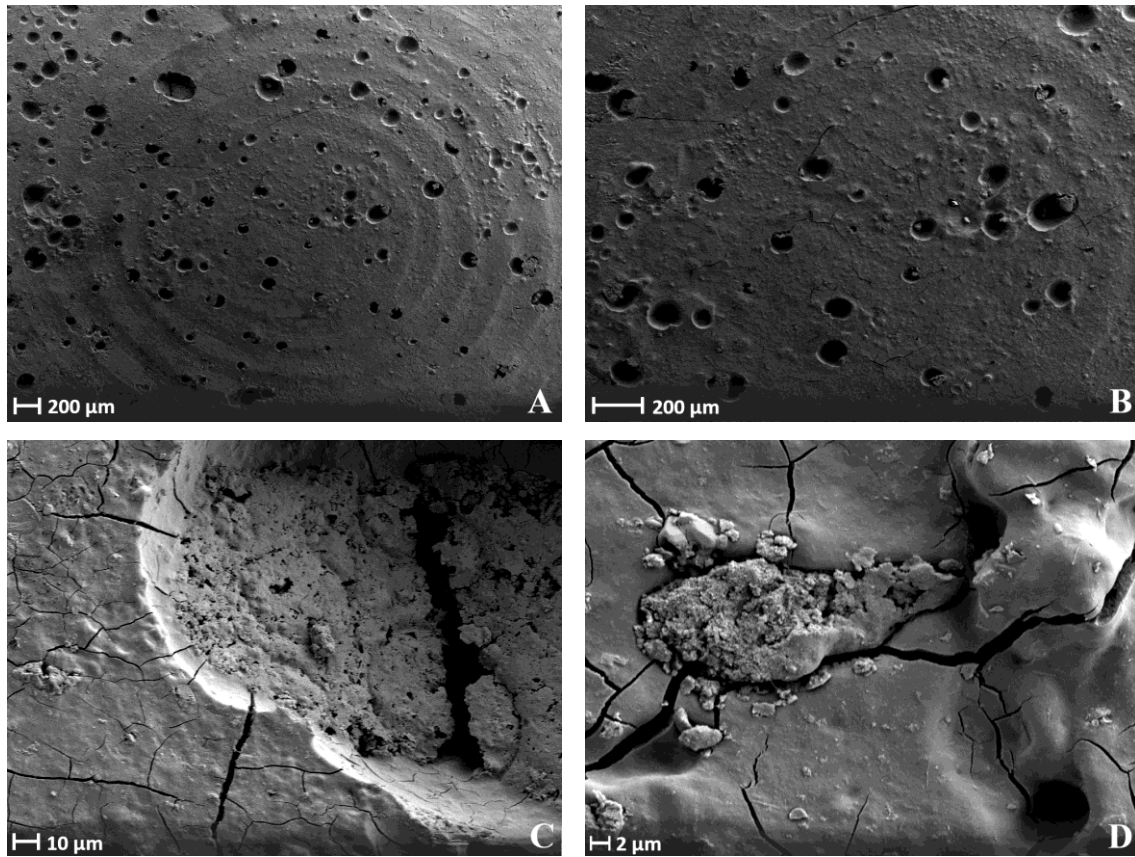


Abbildung 29: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ $MgO(27)/Mg_3(PO_4)_2/H_2O$) mit 10% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

Ergebnisse

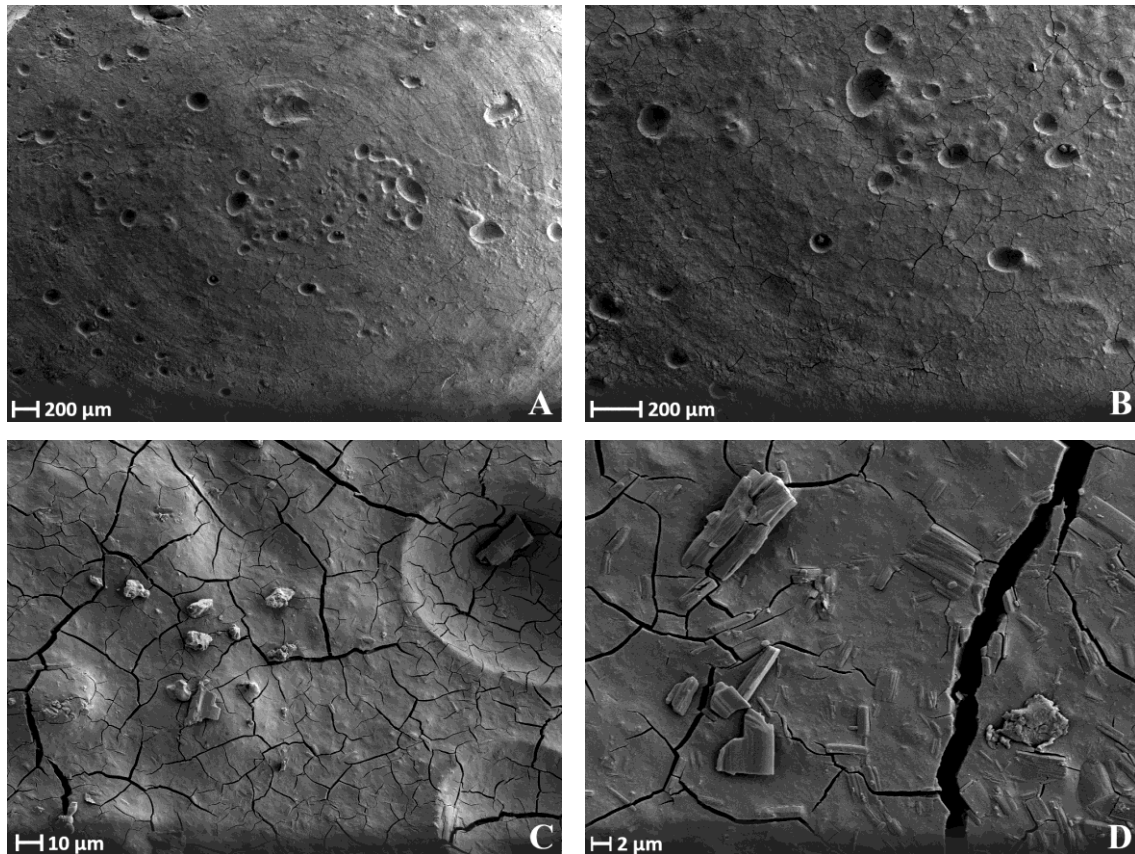


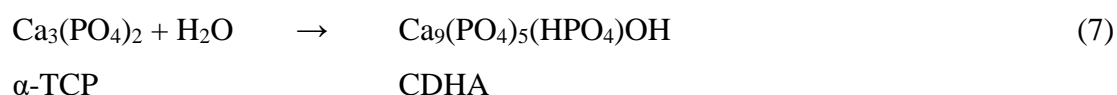
Abbildung 30: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ $MgO(27)/Mg_3(PO_4)_2/H_2O$) mit 25% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

5 Diskussion

5.1 Verwendete Methoden

Während für konventionelles Kleben normierte Prüfverfahren existieren^[187], besteht für das Kleben von Knochen im medizinischen Kontext derzeit keine Prüfnorm. Aus diesem Grund werden jeweils laborspezifische Prüf- und Aufarbeitungsmethoden verwendet, die mitunter stark voneinander abweichen^[50]. Vor diesem Hintergrund erscheint es sinnvoll, die verwendeten Methoden zu vergleichen und zu diskutieren. Eine detaillierte Abhandlung des Für und Wider der einzelnen Aspekte von Prüfverfahren findet sich in der Arbeit „In vitro Testverfahren zur Qualifizierung von Knochenklebstoffen“^[53], an deren beschriebenen Prüfverfahren man sich orientiert hat. Problematisch bei der Entwicklung eines Knochenklebstoffes ist jedoch, dass in der primären Entwicklungsphase vornehmlich im Grunde untaugliche Klebstoffkompositionen entstehen und getestet werden. Die Präparation von Knochenprüfkörpern ist dabei aber ausgesprochen zeitaufwändig und Knochen steht zudem als materielle Ressource nicht unbegrenzt zur Verfügung, um im großen Rahmen Testreihen durchzuführen. Außerdem bestehen bei einem inhomogenen Gewebe wie Knochen, der händisch auf ein konstantes Maß und eine konstante Oberfläche hin bearbeitet werden muss, zahlreiche Faktoren, welche eine initiale experimentelle Phase verkomplizieren. Hier sind interindividuelle alters- oder morbiditätsabhängige Unterschiede in Knochendichte oder Gewebezusammensetzung hervorzuheben. Außerdem spielen der Wassergehalt im Zuge einer Knochenlagerung oder Einflüsse der mechanischen Bearbeitung nebst zahlreichen weiteren Unwägbarkeiten eine entscheidende Rolle.

Aus diesen Gründen wurden für die primäre experimentelle Phase Hydroxylapatit-Prüfkörper hergestellt, um die anorganische Phase des Knochens^[188] zu imitieren. Hierfür wurde ein Einkomponentensystem gewählt, in welchem α -TCP mit Hilfe von Na_2HPO_4 als Abbindebeschleuniger^[189] zu HA hydrolysiert wird:



α -TCP erfährt dabei im Zuge eines Lösungs-/Präzipitations-Prozesses eine Phasenumwandlung zu calciumarmen HA (CDHA)^[190]. Jedoch überstieg bei Klebefestigkeiten über ca. 3 MPa die Adhäsivkraft die innere Festigkeit der HA-Prüfkörper, was zur Ausmuschelung von HA-Scherben führte (vgl. Abbildung 5, Kapitel 3.2.2). Daher eignen sich HA-Prüfkörper als Ersatz zum Knochen bislang nur für die initiale experimentelle Phase. Es wäre aber überlegenswert, das verwendete HA zu modifizieren und dadurch zu verstärken oder alternativ von Grund auf einen anderen Herstellungsprozess zu versuchen. Es gibt neben dem verwendeten Einkomponentensystem bekanntlich diverse weitere Möglichkeiten HA herzustellen. Beispielsweise kann aus der Verbindung eines basischen CaP wie TTCP^[87, 191, 192] oder CaO^[193, 194] mit einem sauren CaP wie DCPA, DCPD oder OCP^[195] im Sinne eines Mehrkomponentensystems HA resultieren. Eine andere Methode der HA-Gewinnung wäre die Kristallisation eines amorphen Calciumphosphates, das sich in einem metastabilen Zustand befindet^[196]. Es gibt darüber hinaus verschiedenste Möglichkeiten, die innere Festigkeit von HA-Prüfkörpern zu erhöhen. Gerade im Hinblick auf die verwendeten OPLS-haltigen Klebezemente ist eine Arbeit von Gbureck *et al.* (2006)^[197] zu erwähnen, in welcher die Druckfestigkeit von TTCP-DCPA-Zement durch Zugabe von Aminosäuren wie Argininin, Glycin, Alanin oder Threonin mitunter deutlich erhöht werden konnte. Der Mechanismus dahinter beruht mutmaßlich auf einer Reduktion der Porosität sowie auf Bindungen zwischen den anorganischen Partikeln durch die organischen Anteile im Sinne eines anorganisch-organischen Composites. Diese können durch die vorhandenen Carboxylat- und Aminogruppen der Aminosäuren zustande kommen.^[197] Weitere Möglichkeiten der Verstärkung sind beispielsweise Metallionen^[198], Chitosan^[199, 200], Nahtmaterial-Filamente^[200], Seidenfibroin^[199] oder Carbonfasern^[201]. In Bezug auf die Zementverarbeitung kann allein durch eine Kompression der CaP-Zementpaste die Porosität sowie die Defekthäufigkeit reduziert werden und dadurch die Festigkeit des Zementes zusätzlich erhöht werden^[202].

5.2 Verbundmechanismen

Schwerpunkt der Arbeit war die Entwicklung von adhäsiven organo-keramischen Zementen auf Basis von OPLS und Magnesiumphosphaten bzw. oxiden, weswegen eingangs mögliche zugrundeliegende Reaktionsmechanismen hinter solchen

Verbindungen diskutiert werden sollen. Die Ergebnisse der Analyse mittels Fourier-Transform-Spektrometrie (vgl. Kapitel 4.3.1) suggerieren eine Reaktion der funktionellen Carboxyl-, Amino-, sowie Phosphorylgruppe des Phosphoserins (vgl. Abbildung 15 und Abbildung 16). Denkbar wären dabei koordinative Bindungen im Sinne von Chelatkomplexen. Phosphoserin könnte als Ligand an Mg^{2+} als Zentralatom knüpfen und der Zement so aushärten. Das FTIR-ermittelte Kristallwasser ist Ausdruck der Hydratation. Nicht kovalente Bindungen zwischen Phosphoserin und Mg^{2+} sind biochemisch beispielsweise vom katalytischen Zentrum der Phosphoserin-Phosphatase bekannt^[203]. Denkbare Konfigurationen für solch koordinative Bindungen von Phosphoserin sind in Abbildung 31 dargestellt. Kongruent zur Bindung an Mg^{2+} wären koordinative Bindungen zum Ca^{2+} des anorganischen Knochens vorstellbar, was der entscheidende Faktor für die adhäsiven Eigenschaften des Systems sein könnte.

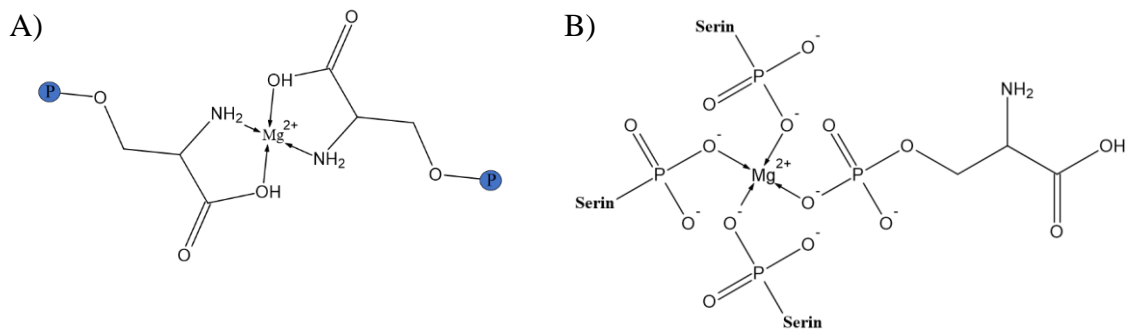


Abbildung 31: Denkbare Konfigurationen für koordinative Bindungen von Phosphoserin mit Mg^{2+} :
 A) Koordinative Bindungen zwischen Mg^{2+} und Amino- bzw. Carboxylgruppen.
 B) Koordinative Bindungen zwischen Mg^{2+} und Phosphorylgruppen.

Kesseli *et al.* (2020)^[182] machten bei einer Reaktion zwischen TTCP, α -TCP und Phosphoserin ebenfalls koordinative Bindungen und Calcium-Phosphoserin-Monohydrat als überwiegend resultierende kristalline Phase ausfindig. Bei den Analysen mittels Röntgendiffraktometrie (vgl. Kapitel 4.3.2) konnten keine neu entstandenen Kristallphasen im Sinne einer konventionellen Zementreaktion detektiert werden (vgl. Abbildung 17 B und Abbildung 18), was den vermuteten Abbindemechanismus stützt. Analog dazu finden sich beim Produkt einer Reaktion von Phosphoserin mit TTCP, wie etwa beim Adhäsiv Tetranite® des Unternehmens RevBio (vgl. Kapitel 2.3.2), die Beugemuster unverändert vor (vgl. Abbildung 19). Die untersuchten Zemente auf Basis von Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden und die beschriebene Verbindung auf Basis des Calciumphosphates TTCP (entsprechend *Komposition (6)*) präsentieren sich auf

elektronenmikroskopischer Ebene zudem strukturell sehr ähnlich.

Im Hinblick auf Biokomplexe fällt auf, dass auch nicht-kovalente Bindungen innerhalb koordinativer Systeme sehr wichtig sind^[204]. Durch das Säure-Base-Gleichgewicht geben Phosphatgruppen als Liganden Protonen ab und nicht-kovalente Komplexe können sich ausbilden^[205]. Positives Zentrum einer solchen Interaktion könnte die Aminogruppe des Phosphoserins selbst sein^[206]. Jastrzab *et al.* (2021)^[205] beobachteten die stärksten nicht-kovalenten Bindungen in einem System aus Phosphoserin und biogenen Aminen pH-abhängig bei einem Wert nahe 7,0. Bei diesem seien die Phosphatgruppe sowie die Carboxylgruppe deprotoniert, wohingegen die Aminogruppe noch protoniert vorläge. Gerade *Komposition (2)* und *Komposition (5)* binden neutral nahe einem pH-Wert von 7 ab (vgl. Kapitel 4.3.3, Abbildung 22). Solche elektrostatische Wechselwirkungen kämen ebenfalls als Mechanismus bei der adhäsiven Bindung zwischen den untersuchten Klebezementen und der organischen Knochenphase in Betracht, gerade da nicht-kovalente Bindungen auch im Kollagenstoffwechsel eine große Rolle spielen^[207]. —NH_3^+ aus Aminosäuren wie (Hydroxy-)prolin oder (Hydroxy-)lysin, welche in den Resten von Kollagen Typ I des Knochens enthalten sind^[208], könnte dabei als positiv geladenes Zentrum fungieren, das mit negativ geladenen Phosphatgruppen interagiert.

Die Vermutung, dass das Phosphoserin durch koordinative Bindungen sowie elektrostatische Wechselwirkung mit sowohl der anorganischen als auch der organischen Knochenmatrix die Adhäsivkraft des Klebezementes bedingt, wird durch die Beobachtung gestützt, dass Kompositionen mit hohem Phosphoserin-Anteil einen klebrigeren Charakter aufweisen. Jedoch sind solche Kompositionen in wässrigem Medium nicht stabil (vgl. *Kompositionen (1), (2) und (4)*). Bei der Hydrolyse von Phosphoserin kann zum einen durch Abspaltung von anorganischem Phosphat Serin entstehen, zum anderen kann im Zuge einer β -Elimination Ammoniak, Phosphat und Pyruvat resultieren^[209-211]. Es gilt also, den Phosphoserin-Anteil ausreichend hoch zu wählen, um eine befriedigende Klebefestigkeit zu erhalten und es gleichzeitig hinreichend gering zu dosieren, damit das System in wässrigem Milieu stabil ist.

Es ist vorstellbar, dass die beschriebenen Reaktionsmechanismen auch mit anderen dem Phosphoserin ähnlichen Molekülen funktionieren. In Betracht kämen Aminosäuren mit einer Hydroxylgruppe im Rest, welche phosphoryliert ist, wie etwa Phosphothreonin (siehe Abbildung 32 A) oder Phosphotyrosin (siehe Abbildung 32 B).

Diskussion

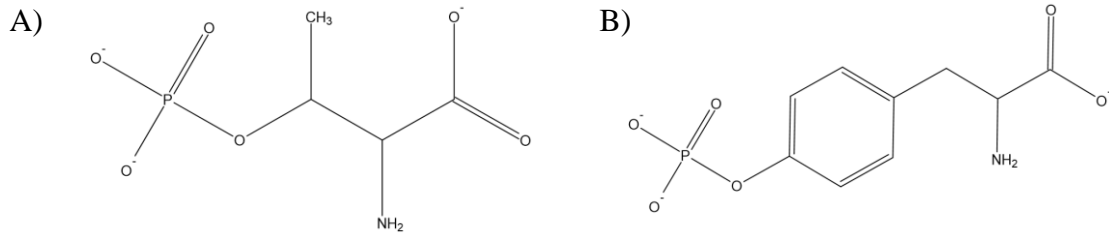


Abbildung 32: Chemische Strukturformeln alternativer Moleküle für koordinative Bindungen zu Mg^{2+} .
 A) Phosphothreonin.
 B) Phosphotyrosin.

Komplexe zwischen Phosphothreonin und Cu^{2+} sind in der Literatur beschrieben^[212]. Es ist zu betonen, dass Phosphothreonin als natürlich bestehende Aminosäure zwar nicht in Dentin oder Zahnschmelz, jedoch aber generell in der Knochenmatrix vorkommt^[213]. Es wird sogar angenommen, dass Phosphoproteine, welche neben Phosphoserin auch Phosphothreonin enthalten, im Knochen vermutlich von den Osteoblasten synthetisiert werden. Phosphorsäureester solcher Proteine fungieren wohl als entscheidende Bindung zwischen der organischen und anorganischen Knochenmatrix^[214]. Eine schematische Darstellung eines derartigen Verbundes ist in Abbildung 33 aufgezeigt.

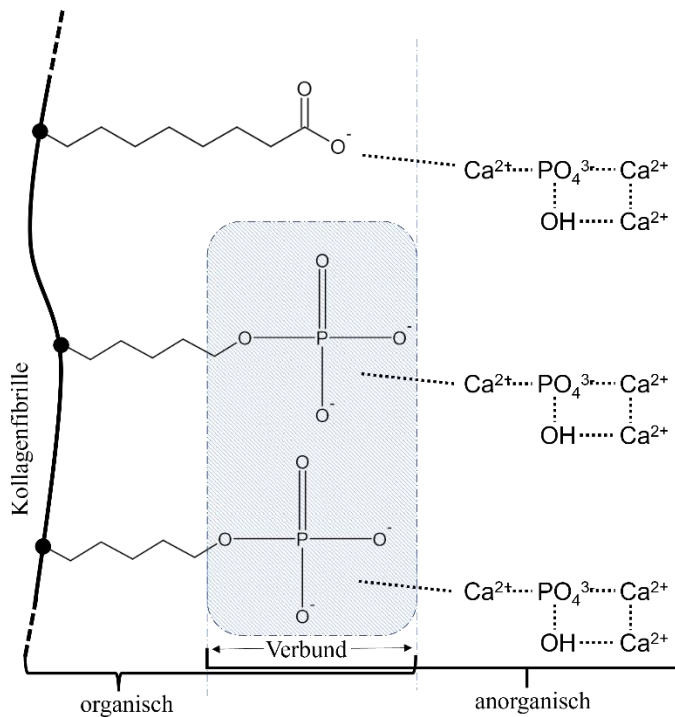


Abbildung 33: Schematische Darstellung (inhaltlich nach Glimcher^[214]) wie Phosphorsäureester die organische Knochenmatrix und die anorganischen mineralischen Kristalle im Knochen verbinden.

Auch Phosphotyrosin ist im Hinblick auf den Knochenstoffwechsel interessant, da die Enzyme Phosphotyrosinphosphatase und Tyrosinkinase als integraler Bestandteil vieler Signaltransduktionskaskaden wohl eine Rolle bei der Proliferation von Knochen spielen^[215-218]. Spicer *et al.* (2020)^[219] zeigten bereits, dass CPCs durch die Verwendung heterobifunktioneller Organophosphate, wie unter anderem Phosphotyrosin, adhäsive Eigenschaften erlangen^[219]. Ein ebenfalls den Organophosphaten zugehöriges Molekül, das vernetzend agieren kann, ist die Phytinsäure. Die Verwendung von Phytinsäure in einem adhäsiven System mit Farringtonit wurde bereits beschrieben^[59]. Ein gut untersuchter Reaktionsmechanismus bei der Verwendung von Farringtonit ist die Umwandlung in Struvit mit Hilfe einer $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ -Lösung^[220]. In Kombination mit saureren primären Phosphaten kann das Ammonium-freie Newberyit entstehen^[133]. Christel *et al.* (2015)^[59] verwendeten anstelle primärer oder sekundärer Phosphate Phytinsäure^[59]. Ähnlich der postulierten koordinativen Bindungen, welche Phosphoserin ausbildet, ist diese natürliche Säure mit antioxidativen Eigenschaften ein potenter Komplexbildner in Bezug auf polyvalente Kationen^[221], wie es Mg^{2+} ist. Die Integration eines solch starken Chelators in die hier vorgestellten Zementsysteme wäre für zukünftige Untersuchungen sicherlich interessant, gerade da durch Phytinsäure aus Farringtonit im Sinne einer simultan ablaufenden konventionellen Zementreaktion Newberyit entstehen könnte^[59]. Aktuell scheint im Setting von *Komposition (1)* und *(2)* Farringtonit vorwiegend als Füller zu fungieren und MgO maßgeblich die Reaktionsgeschwindigkeit zu bedingen.

5.3 Resultate und Interpretation

Im Rahmen der Forschung an geeigneten Pulverkombinationen für eine Reaktion mit Wasser fiel auf, dass die alleinige Verbindung aus OPLS und kristallinem Farringtonit nicht hinreichend reaktionsfähig ist. Auch ein längeres Auf- oder Nassmahlen der Pulver verursachte keine ausreichende Reaktivität. Das daher zugegebene MgO (siehe *Komposition (1)* und *(2)*) ist eine hoch reaktive Mg^{2+} -Quelle und wird auch in anderen MPC-Systemen, welche auf koordinativen Bindungen über Phosphatgruppen basieren, als Abbindebeschleuniger verwendet^[222]. Es wurde zudem gezeigt, dass auch vollständig Magnesiumphosphat-freie Systeme, in welchen lediglich MgO mit OPLS reagiert, möglich sind (siehe *Komposition (3)* und *(4)*). Es ist zu betonen, dass der

Herstellungsprozess des MgO dabei entscheidend ist. Röntgendiffraktometrisch bestand kein Unterschied zwischen den unterschiedlichen verwendeten Magnesiumoxiden (vgl. Abbildung 17). Generell gilt jedoch das bei niedrigeren Temperaturen gebrannte CCM (verwendet in *Komposition (1), (2) und (4)*) als reaktiv und das bei höheren Temperaturen calcinierte EFM (verwendet in *Komposition (3)*) als weniger reaktiv^[223], was sich auch bei der Reaktion mit OPLS feststellen ließ. Ausschließlich EFM-haltige Zemente (*Komposition (3)*) waren erst nach 24 Stunden abgebunden und damit unbrauchbar als Klebezement, konnten aber eine vergleichsweise sehr viel höhere Druckfestigkeit erreichen. Ein kombinierter CCM/EFM-Zement war zwar technisch möglich (siehe *Komposition (4)*), konnte jedoch keine höheren Druckfestigkeiten aufweisen (vgl. Abbildung 10). Die eruierten MgO-haltigen Verbindungen benötigten zum Erreichen der gewünschten Eigenschaften verhältnismäßig viel OPLS. Der Verdacht liegt jedoch nahe, dass zu hohe Mengen an OPLS das Zementssystem hydrolytisch anfällig machen und dieses mitunter dann in wässrigem Medium nicht mehr ausreichend stabil ist. Bei geringeren OPLS-Mengen (vgl. *Komposition (5)*) war der Zement in wässrigem Medium stabil. Es ließ sich ein nur geringer Gewichtsverlust bei diesen Zementen ausmachen, wobei zu vermuten ist, dass nach Einstellen eines chemischen Gleichgewichtes im wässrigen Medium zu Beginn der Lagerung der Zement im weiteren Verlauf stabil und die Gewichtsabnahme nicht progredient ist (vgl. Tabelle 10, Tabelle 11 und Abbildung 23). Gleiches gilt für die als Referenz geltende Verbindung aus OPLS und TTCP (vgl. *Komposition (6)*), die einen ähnlich niedrigen OPLS-Anteil benötigt.

Obwohl sich kristallines Farringtonit initial als träger Reaktionspartner präsentierte, wurde gezeigt, dass dennoch Verbindungen zwischen OPLS und Magnesiumphosphaten möglich sind, die zügig aushärten (siehe *Komposition (5)* und *Komposition (7)*). Dies gelang durch eine Temperaturbehandlung. Bei *Komposition (5)* wurde das TMP-Hydrat (XRD-Intensitäten: $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (Bobierrit), $\text{Mg}(\text{OH})_2$ (Brucit), $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Newberyit)) wärmebehandelt, das hierdurch in ein vornehmlich amorphes Pulver konvertierte. Durch das verwendete Temperaturregime verblieben Restpeaks, welche Magnesiumpyrophosphat und Magnesiumoxid zuzuordnen sind (vgl. Abbildung 21). Nach dem kalkulierten Phasendiagramm des MgO-P₂O₅-Systems nach Ding *et al.* (2015)^[224] sollte bei einem Verhältnis (MgO/ P₂O₅) von 3:1, wie es eben vorliegt, beim verwendeten Temperaturregime das Pulver einphasig ohne weitere

Nebenphasen vorliegen. Dieses kalkulierte Phasendiagramm fußt jedoch auf einem idealisierten Setting. Konkret kann in einer Probe jedoch lokal MgO oder P₂O₅ übersättigt in Relation zur idealen TMP-Zusammensetzung vorliegen. Gemäß des Phasendiagrammes erscheint bei lokaler MgO-Übersättigung bei Wärmebehandlung entsprechend MgO und bei lokaler MgO-Untersättigung Mg₂P₂O₇^[224]. Dieser Sachverhalt geht konform mit den eruierten Peaks im XRD nach der Wärmebehandlung (vgl. Abbildung 21). Die MgO-Peaks verschwanden nach der Reaktion mit OPLS, was die beschriebene Affinität von OPLS zu MgO untermauert. Ostrowski *et al.* (2015)^[225] zeigten ebenfalls, dass amorphe TMPs reaktiver sind, wenngleich unter Einbußen in Bezug auf die Druckfestigkeit. In den eigenen Festigkeitsmessungen konnten dennoch wesentlich höhere Druckfestigkeitswerte als bei Verbindungen mit kristallinem Farringtonit und MgO verzeichnet werden (vgl. Abbildung 10). Auch vollständig amorphes TMP ohne Restpeaks im XRD nach der Temperaturbehandlung, konkret Cattiit (Mg₃(PO₄)₂·22H₂O), bindet zügig mit OPLS ab (siehe *Komposition (7)*). Bei Untersuchungen von Tamini *et al.* (2011)^[226] zeigte sich, dass gerade Cattiit und Newberyit im Zellversuch biokompatibel im Bezug auf Osteoblastenkulturen sind und die Adhäsion und Differenzierung von Osteoblasten im Sinne einer osteogenen Aktivität fördern. Dies geschieht bei ähnlichen biologischen Eigenschaften wie von derzeit in Knochenersatzmaterialien verwendeten Calciumphosphaten. Diese Mineralien verstärkten in gleichem Maße die Genexpression der osteogenen Marker OCN und CollA1 in murinen Knochenmarkszellen^[226]. Eine weitere Forschungsarbeit von Ostrowski *et al.* (2015)^[227] demonstrierte im Zellversuch eine höhere Osteoblastenviabilität und Differenzierungsrate bei amorphem TMP gegenüber kristallinem TMP^[227]. In Zusammenschau präsentieren sich also amorphe Magnesiumphosphate als vielversprechend für weitere Forschungsbemühungen im Bereich der Knochenersatzstoffe und -adhäsive gerade im Kontext von Zementsystemen mit OPLS oder gleichartigen Substanzen als prädominierende Reaktanten.

Insgesamt erscheint der OPLS-Anteil neben dem zuvor beschriebenen Verhalten in wässrigem Medium auch maßgeblich für mechanische Parameter wie die innere Druckfestigkeit, die Adhäsivkraft, die Werkstoffeigenschaften unter Belastung oder das Versagensmuster. Mit Blick auf die ermittelten Klebefestigkeiten (siehe Abbildung 12) scheint es, dass gerade bei hohen OPLS-Anteilen hohe Adhäsivkräfte hervorgehen.

Suga *et al.* (1996)^[228] beschrieben bereits die Kristallstruktur $\text{Ca}[\text{O-Phospho-L-Serin}]\cdot\text{H}_2\text{O}$ und sehen die Chelatbindung von OPLS mit Ca^{2+} als hilfreiches Modell für das Verständnis von der Bindung von Phosphoproteinen zu Calciumionen generell, welche im Knochenstoffwechsel eine wichtige Rolle spielt. Ca^{2+} binde in diesem Kristall in Struktur eines verzerrten Oktaeders sechs Sauerstoffatome aus Phosphatgruppen von OPLS-Molekülen^[228]. Die Gewinnung eines analogen Salzes mit Mg^{2+} , welches dann als Zementpulver verwendet werden könnte, wäre sicherlich künftig interessant und würde zusätzliche Möglichkeiten eröffnen. Methew *et al.* (2021)^[229] intensivierten in der jüngsten Vergangenheit die strukturellen Untersuchungen zum Calcium-Salz des Phosphoserins^[229]. All dies zeigt die generell starke Bindung und Affinität von OPLS zu Ca^{2+} und lässt vermuten, dass bei -wie verwendet- größeren Mengen an OPLS neben der Chelatbindungen zu Mg^{2+} innerhalb des Zementsystems entsprechend Phosphatgruppen überbleiben. Diese könnten Bindungen zum Ca^{2+} des anorganischen Knochens eingehen und so zur Adhäsivkraft des Klebezementes beitragen. Methew *et al.* (2020)^[230] untersuchten zudem jüngst die adhäsiven Eigenschaften Phosphoserin-tragender CPCs und erbrachten die größten Klebefestigkeiten bei ebenfalls sehr hohen Phosphoserin-Anteilen von 23-72 mol% (entsprechend 15-46 Gew.%). Vergleichend ist zu erwähnen, dass ebenfalls amorphe Pulver verwendet wurden^[230]. In diesem definierten OPLS-Bereich befinden sich auch die Anteile bei den eigens untersuchten Zementverbindungen. Dabei haben solche Kompositionen mit dem höchsten Phosphoserin-Anteil (siehe *Komposition (1)* und *(2)*) ein durchgehend kohäsives Bruchversagen vorzuweisen, bei gleichzeitig vergleichsweise geringer Druckfestigkeit. Voraussichtlich übersteigt die Klebefestigkeit dieser Zemente ihre innere Festigkeit während des Prüfvorganges, wodurch ein kohäsives Bruchmuster resultiert. Bei diesen Zementen ist außerdem der duktile Charakter zu nennen (vgl. Abbildung 14). Wabenformationen in elektronenmikroskopischen Aufnahmen (vgl. Abbildung 25) untermauern die charakteristischen Spannung-Dehnungs-Diagramme. Monolagen können also aneinander vorbeigleiten und Kristallstrukturen verformen sich, sodass der Werkstoff nicht sofort bricht. Gerade für den Einsatz in einem biomechanischen System, in welchem repetitiv Kräfte wirken, erscheint ein duktiler Zementcharakter als vorteilhaft. Die beschriebenen Werkstoffeigenschaften unterscheiden sich maßgeblich von denen der Referenz-*Komposition (6)*, die eine Ca^{2+} /Phosphoserin-Verbindung ist. Sie ist deutlich spröde (vgl.

Abbildung 14) und das Bruchverhalten adhäsiv. Bezüglich der rheologischen Eigenschaften gelingt es mit den anderen Kompositionen besser, die Oberfläche der Füge­teile zu benetzen, was sich auch in den adhäsiven Festigkeitswerten widerspiegelt (s.u.). *Komposition (5)* besitzt ein gemischt kohäsiv-adhäsives Versagensmuster, die plastische Verformung im Spannung-Dehnungs-Diagramm ist bei generell duktilem Kurvenverlauf jedoch weniger ausgeprägt. Diese beiden Kompositionen beinhalten vergleichsweise wenig OPLS. Somit scheint nicht ausschließlich das Zentralatom im Chelatkomplex bestimmend für Bruch-, Belastungs- und rheologische Eigenschaften zu sein, sondern darüber hinaus auch OPLS.

Die Erkenntnisse aus den dagegen quantifizierbaren mechanischen Messgrößen (vgl. Abbildung 10 und Abbildung 12) werden im Folgenden diskutiert. Hinsichtlich der Druckfestigkeit scheint ein Zusammenhang mit der Dauer der Lagerung zu existieren. Testungen nach 24 Stunden ergeben eine höhere Druckfestigkeit als initial. Diese lässt sich in den meisten Fällen nochmals steigern, wenn man die Ergebnisse einer Testung nach sieben Tagen betrachtet. Diese Entwicklung lässt sich nicht bei der Referenz-*Komposition (6)* ausmachen, welche bereits initial sehr hohe Festigkeitswerte von $35,32 \pm 3,73$ MPa erreicht und auch im zeitlichen Verlauf im Vergleich deutlich höhere Druckfestigkeiten aufweist. Im Bezug auf die Klebefestigkeit ist bei *Komposition (5)* und der Referenz-*Komposition (6)* ein zeitlicher Zusammenhang zwischen Klebefestigkeit und zeitlicher Lagerung erkennbar. Der Rückgang der Klebefestigkeiten könnte Ergebnis einer Trocknungsschrumpfung sein, wie sie beispielsweise bei Portlandzementen untersucht ist^[231]. Durch diese Schrumpfung könnten Kräfte auf den Klebeverbund wirken, wodurch dieser geschwächt und im ungünstigsten Fall gelöst wird. Bei *Komposition (1)* und *(2)* ist mit dem aufgewendeten Probenkorpus kein eindeutiger Zusammenhang zwischen Klebefestigkeit und Lagerungszeit feststellbar. Dies mag am Anmisch-procedure der Zemente liegen, das grundlegend für die resultierenden adhäsiven Eigenschaften von Knochenklebstoffen ist^[53]. Gerade bei diesen Zementen ist das verwendete MgO hochreaktiv und bestimmt Abbindezeit und Rheologie. Der Zement muss in kürzester Zeit mechanisch mit einem Spatel angemischt und zügig verklebt werden, was eine konstant bleibende Beschaffenheit bei Klebezementen generell verunmöglicht. Nur geringe Unterschiede in Homogenität oder Anmischzeit können das Benetzungsverhalten und die Adhäsivkraft relevant verändern. Mit dem Einfluss der

Anmischmethodik auf die Mikrostruktur und das rheologische Verhalten beschäftigten sich Yang und Jennings (1995)^[232]: Intensive Mischmethoden reduzieren den Anteil an Agglomeraten aus Zementpartikeln oder Tröpfchen, welche von der Oberflächenspannung gebunden sind. Gerade Zemente benötigen einen suffizienten Mischvorgang, damit die Agglomerate rupturieren können. Es existiert ein Standard für die Mischprozedur nach ASTM C305 für hydraulische Zemente und Mörtel, nach welchem ein Paddelrührer verwendet wird. Im Labor wird oftmals eine Hochleistungs-Planetenrührmaschine verwendet, um einem Paddelrührer gleichzukommen. Es konnte im Bezug auf Typ I Portlandzement gezeigt werden, dass händisch angemischte Zemente hinsichtlich des rheologischen Verhaltens im Gegensatz zu Mixturen vom Hochleistungs-Standmixer höhere und sich schneller entwickelnde Spannungsspitzen aufweisen, was auf verbleibende Partikelagglomerate zurückzuführen ist. Die Zementpartikel innerhalb der Agglomerate verbleiben unhydratisiert und sind wohl für mikrostrukturelle Defekte verantwortlich.^[232] Eine maschinelle Methodik zum Anmischen der Zemente wäre also künftig vorteilhaft, um konstante adhäsive Eigenschaften zu garantieren. Zudem stellen präfabrizierte Zementpasten, welche sich bei CPCs bereits etabliert haben^[233-239], eine Option dar. Sie werden in Kapitel 5.4 diskutiert. Nach dem Anmischvorgang erreichten die untersuchten Zemente Abbinde Temperaturen von 27,8-32,5 °C (vgl. Kapitel 4.3.3) beim Aushärten unter Raumtemperatur. Hitzenekrosen und bleibende Schädigungen treten in etwa ab einer Temperatur von 47 °C- 60 °C auf^[240-242]. Li *et al.* (1999)^[243] beobachteten bereits bei 42 °C eine Spaltung der Aktinfilamente in Osteoblasten bei Anwendung eines zehnminütigen Hitzeschockes. Ab 45 °C stieg das Hitzeschockprotein Hsp 70 stark an. Bis 45 °C konnten sich die Osteoblasten innerhalb von zwölf Stunden reversibel erholen, ein Hitzeschocken bei 48 °C verursachte jedoch eine anhaltende Translokation von p53 in den Nukleolus und eine anhaltende Aktivierung der c-Jun-N-terminalen Kinase im Sinne einer Hitzeschock-induzierten Apoptose^[243]. Beim Aushärten der verwendeten Zemente unter Körpertemperatur sind solche Apoptose auslösenden Temperaturen wohl nicht zu erwarten, was eine zentrale Voraussetzung für eine Osseointegration der Zemente ist.

Neben der Temperatur ist auch der pH-Wert entscheidend. Ein saurer pH verursacht in Osteoblasten Autophagie und erhöht das Auftreten von Zelltod sowie das Ausschütten proinflammatorischer Zytokine^[244, 245]. Zudem verhindert eine Azidose die

osteoblastische Mineralisation^[246], wodurch eine Osteoneogenese erschwert würde. *Komposition (2)* bindet bei einem neutralen pH von 7-7,5 ab. *Komposition (5)* und die Referenz-*Komposition (6)* binden vorwiegend im lediglich leicht sauren Bereich von 6-6,5 ab, wobei *Komposition (6)* in den ersten 12 Stunden über lange Zeit deutlich saurer bei einem pH von 5-6 ist. Genannte Zelluntergänge oder Defizite bei der Osteoblasten-Aktivität wären hinsichtlich des pH-Wertes bei *Komposition (2)* und *Komposition (5)* nicht zu erwarten. Wie in Kapitel 5.2 behandelt, lägen gerade bei pH-Werten nahe der 7 die Phosphat- und Carboxylgruppen deprotoniert vor, wodurch sie koordinative Bindungen eingehen und womöglich einen maßgeblichen Einfluss auf die Klebefestigkeit zu mineralischen Knochen haben könnten. Die Scherfestigkeit liegt bei den im Fokus stehenden Formulierungen *Komposition (1)*, *(2)*, *(4)* und *(5)* initial zwischen $5,07 \pm 1,08$ MPa und $7,29 \pm 1,35$ MPa, nach 24 Stunden zwischen $1,97 \pm 0,57$ MPa und $9,82 \pm 2,39$ MPa und nach 7 Tagen zwischen $1,45 \pm 0,34$ MPa und $6,71 \pm 2,46$ MPa. Der Vergleich dieser erfassten Werte mit ermittelten Werten aus anderen Arbeiten ist mitunter sehr schwierig, da es keine etablierte oder normierte Teststrategie in Bezug auf Knochenadhäsive gibt^[50, 53]. Unter zahlreichen Variablen fällt zum Beispiel die Wahl des Knochensubstrats und dessen Oberflächenbearbeitung auf. Knochen wird meist bovin^[7, 34, 78, 222, 247-249], porcine^[250, 251], ovin^[252], murin^[253] oder human^[254, 255] entnommen, wobei in den meisten Fällen Femur, aber auch anderer Knochen wie Humerus oder Hüfte, verwendet wird. Die meisten der zitierten Autoren verwenden Kortikalis, jedoch wird auch Spongiosa benutzt. Für die Oberflächenbearbeitung gibt es die verschiedensten Möglichkeiten, die von einer Bearbeitung mit Sandpapier von unterschiedlicher Körnung über eine Oberflächenätzung hin zum Sandstrahlen der Proben reichen. Außerdem ist die Lagerung der geklebten Prüfkörper eine wesentliche Variable. Von einer trockenen hin zur nassen Lagerungen in zudem diversen Flüssigkeiten existieren noch zahlreiche Abstufungen. Eine detailliertere Abhandlung über die verschiedenen Stellgrößen innerhalb einer Teststrategie bei Knochenklebstoffen findet sich in der Arbeit „*In vitro Testverfahren zur Qualifizierung von Knochenklebern*“ des Autors^[53]. Dennoch erscheinen, auch unter Beachtung der genannten Unwägbarkeiten, die Klebefestigkeiten der eigenen Zementkompositionen gegenüber der ermittelten Festigkeitswerte bei anderen Klassen an Knochenadhäsiven beachtlich hoch. Bei PMMA-Knochenzementen wurden beispielsweise Adhäsivkräfte von $0,35-1,9$ MPa^[7, 247, 254] und bei 4-

META/MMA-TBB-Zementen Kräfte sogar von 7-14 MPa^[254, 255] gemessen. In der Substanzklasse der Cyanoacrylate werden bei Ethyl-Cyanoacrylat Klebefestigkeiten von 0,16-6,6 MPa^[7, 248], bei Isobutyl- Cyanoacrylat von 4,7-6,6 MPa^[248] und bei n-butyl Cyanoacrylat von 1-12,1 MPa^[7, 248-251] gemessen. Jedoch sind diese Substanzklassen vom Körper biologisch nicht abbaubar und können daher Barrieren in Bezug auf knöcherne Umbauprozesse darstellen. Acrylate wie zum Beispiel auch PMMA können über eine Monomerfreisetzung und Hitzeentwicklung zu Knochennekrosen führen^[256]. Cyanoacrylate führen im Speziellen zu cytotoxischen und anderen nachteiligen biologischen Prozessen^[257-259]. Bekannte biokompatible Knochenklebstoffe verfügen über deutlich niedrigere Klebefestigkeiten und stehen den in dieser Arbeit untersuchten Formulierungen ersichtlich nach. Aluminiumfreie Glasionomerezemente erreichen zum Beispiel Adhäsivkräfte um die 0,8 MPa^[252]. Beim Fibrinkleber wurden lediglich 0.005–0.017 MPa^[7, 251] und bei GRF-Klebstoff nur 0,2 MPa^[251] beim Einsatz am Knochen gemessen. Panagiotopoulou *et al.* (2021)^[5] veröffentlichten jüngst einen Artikel zum aktuellen Stand in Bezug auf Knochenklebstoffe, in welchem sich bioinspirierte Klebstoffe aufgrund ihrer Zyto- und Biokompatibilität exponieren^[5]. So beispielsweise ein 2-Komponenten-Klebstoff, der auf Chitosan und oxidiertem Dextran basiert. Diese Polysaccharide vernetzen bei Zugabe von Wasser unter Bildung einer Schiff'schen Base quer und es resultieren Adhäsivkräfte von höchstens 0,41 MPa auf Knochen^[260]. Von der adhäsiven Seide der Köcherfliege resultierte ein Knochenklebstoff aus Poly(pSer-co-Val), welcher mit Ca²⁺ quervernetzt und so bei Anwendung am Knochen Scherkräfte von 0,44 MPa fordert^[34]. Interessant ist hierbei das enthaltene Phosphoserin, das von Panagiotopoulou *et al.* ^[5] öfter als Füller in modernen Knochenadhäsiven ausgemacht wurde^[34, 175, 253]. Ein Versuch den Klebstoff des Sandburgen-Wurms nachzuahmen, ergab mit einer Klebefestigkeit von etwa 0,1 MPa an Kortikalis nur etwa ein Drittel des Wertes seines natürlichen Klebstoffes, der schätzungsweise bei 0,35 MPa liegt. Mg²⁺ und Ca²⁺ spielen bei diesem Adhäsiv, das im Zuge einer komplexen Koazervation aushärtet, eine wichtige Rolle^[78, 261, 262]. Der natürliche Klebstoff beinhaltet verschiedene hochsaure und hochbasische Proteine sowie viel Mg²⁺ und Ca²⁺. Hierbei werden die sauren Reste wiederum vornehmlich von Phosphoserin gestellt. Dabei lassen sich über 50 mol-% der Aminosäurereste von Serin oder Glycin ableiten und davon sind mindestens 95 % des Serins phosphoryliert^[33]. Jedoch wurde sich bei der Klebstoffnachahmung zunächst auf

die Imitation Lysin-reicher Klebeproteine konzentriert^[78], wobei Lysin zusammen mit Histidin und Arginin die basischen Reste im natürlichen Klebstoff stellt^[263]. Das Imitat vernetzt über Catechol-Seitenketten quer und kann unter Wasser injiziert und zum Aushärten gebracht werden. Interessanterweise wurde bei der Verwendung von Mg^{2+} eine Klebefestigkeit von 0,77 MPa eruiert, die etwa 40 % über der Klebefestigkeit bei indes der Verwendung von Ca^{2+} liegt. Relativierend ist zu erwähnen, dass aufgrund des Aufwands einer Herstellung von Knochenprüfkörpern Fügeiteile aus Aluminium verklebt wurden^[262]. Von Winslow *et al.* (2010)^[264] wurde gezeigt, dass diese komplexe Koazervation beim Einsatz als Knochenadhäsiv nicht zytotoxisch ist. Sie wird innerhalb des Knochenstoffwechsels abgebaut und ist osteokonduktiv^[264]. Da sich in den letzten Jahren Phosphoserin als bedeutende Komponente bei adhäsiven Zementen abzeichnete, wird bisweilen der Begriff des PMC („phosphoserine modified cement“) verwendet, wie in etwa von Liu *et al.* (2019)^[265]. Ein solcher PMC ist Tetranite®, ein ebenfalls vom Sandburgen-Wurm bioinspiriert entstandenes anorganisch/organisches Adhäsiv aus vornehmlich TTCP und Phosphoserin^[175], das patentiert^[176] ist und im Bereich der veterinären Zahnmedizin von RevBio präkommerziell vermarktet wird. Hinsichtlich der Klebefestigkeit von Tetranite® maßen Kirillova *et al.* (2018)^[175] in etwa knapp unter 2 MPa an kortikalem Knochen, etwa 1,25 MPa an Spongiosa und etwa 3,75 MPa an porösem Titan. Die selbst gemessenen Werte an Kortikalis von Referenz-Komposition (6), die Tetranite® im Bezug auf die Inhaltsstoffe gleich kommt, sind mit $1,86 \pm 0,32$ MPa bei initialer und $2,35 \pm 0,60$ MPa bei Testung nach einer Stunde mit den ermittelten Werten von Kirillova *et al.* vergleichbar. Die Klebefestigkeit sank jedoch nach sieben Tagen deutlich auf $0,38 \pm 0,40$ MPa ab (vgl. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Die Fügeiteile wurden bei Kirillova *et al.* nach dem Verkleben und einer Aushärtezeit von etwa zehn Minuten flüchtig in PBS bei 37 °C gelegt, um dort für kurze Zeit weiter auszuhärten. Es wurde zudem gezeigt, dass Tetranite® im Zuge einer Osseointegration und eines Einwachsens von Knochen biologisch abgebaut wird^[175]. Bei einer Verbindung aus Phosphoserin und α -TCP wurden Klebefestigigkeiten von 2,5-4 MPa bei Aushärten in wässriger Umgebung verzeichnet^[266]. OsStic™ wird eben aus Phosphoserin und α -TCP hergestellt und wurde bislang in einem *ex vivo*^[267] Modell getestet. In einem murinen Modell zeigten die Komponenten keinerlei schädliche Reaktionen im umliegenden Weichgewebe^[253]. Es wurde Calciummetasilikat

(Wollastonit), das die Reaktionsstärke sowie Osseointegration und Knochenheilung erhöht^[268], hinzugefügt und OsStic™ wurde einem *in vivo* Versuch^[269] zugeführt, der diesem Adhäsiv Bioaktivität, Osseointegration, Osteokonduktion und eine biologische Abbaubarkeit attestierte^[269]. Für die Weiterentwicklung und Kommerzialisierung von OsStic™ als Knochenklebstoff existiert derzeit „Biomimetic Innovations“, eine Kollaboration aus GP Bio Ltd und PBC Biomed^[10]. Brückner *et al.* (2019)^[222], die im Gegensatz zu den zuvor genannten Adhäsivsystemen einen Magnesiumphosphatzement, welcher $Mg_3(PO_4)_2$, MgO und Phytinsäure beinhaltet, verwendeten, eruierten bei anteilig 25 % Phytinsäure eine Klebefestigkeit von $1,22 \pm 0,41$ MPa, die auch nach einwöchiger Lagerung in PBS noch $0,81 \pm 0,12$ MPa betrug^[222].

In Zusammenschau lassen sich, trotz der beschriebenen Unsicherheitsfaktoren hinsichtlich der sich durchaus unterscheidenden Testverfahren, die vergleichsweise herausragenden adhäsiven Eigenschaften der entdeckten biokeramischen adhäsiven Zementkompositionen betonen. Gerade im Vergleich zu den sich derzeit in der präkommerziellen Phase befindlichen Produkten Tetranite® oder OsStic™ zeigt sich zwar eine geringere Druckfestigkeit bei Zementprüfkörpern, jedoch eine um ein Vielfaches höhere Klebefestigkeit. *Komposition (2)* beispielsweise hat, als Repräsentant aus den MgO-haltigen untersuchten Klebezementen, eine 3,9-fach höhere Klebefestigkeit als die Referenz-*Komposition (6)*. Diese aus dem entsprechenden Patent entnommene Formulierung (vgl. Kapitel 3.2.2) besteht aus TTCP und Phosphoserin und ist damit, auch hinsichtlich der selbst eruierten Festigkeitswerte, wohl mit Tetranite® vergleichbar. Der Unterschied wird bei Messungen an sieben Tage alten Klebungen noch deutlicher, bei welchen *Komposition (2)* eine 17,7-fach höhere Klebefestigkeit aufweist. *Komposition (5)*, als Repräsentant eines MgO-freien Klebezementes auf Basis von amorphem TMP, ist auch in wässrigem Milieu stabil. Sie hat initial eine 3,6-fach und nach einer Woche eine 3,8-fach höhere Klebefestigkeit. Die untersuchten neuen biomineralischen Klebezemente weisen also deutlich bessere adhäsive Eigenschaften auf als derzeitig prädominierende Knochenklebstoffe. Die Klebefestigkeiten liegen zudem deutlich über den von Weber und Chapman geforderten $0,2$ MPa^[7], die als Mindestklebefestigkeit eines Knochenklebstoffes in der Literatur oft zitiert werden. Grund für die verbesserten Klebeeigenschaften könnte der pH-Wert sein. In biologischen Systemen komplexieren phosphorylierte Aminosäuren bei niedrigem pH-Wert Metallionen nur mit ihrer

Phosphatgruppe. Bei neutralem pH-Wert wechselt die Koordinationsstelle und die Amino- und Carboxylgruppen komplexieren Metallionen^[168, 212, 270-272]. Auch bei hohen pH-Werten formt die Phosphatgruppe dann keine Komplexe. Allerdings vermag Mg^{2+} , das koordinative Bindungen zu Sauerstoff bevorzugt, mit diesen negativ geladenen Phosphatgruppen zu komplexieren^[168, 212, 273]. Übertragen auf die Chelatbildung bei den untersuchten biomineralischen Klebezementen fällt auf, dass die untersuchten Zemente mit Mg^{2+} als Metallion (wie *Komposition (2) und (5)*) im Zuge eines eher neutralen pH-Wertes aushärten. Dieser liegt etwas höher als bei Vergleichsformulierungen mit TTCP (vgl. Abbildung 22). Denkbar wäre es, dass analog zur biologischen Situation bei diesem höheren pH-Wert Carboxyl- und Aminogruppen vorrangig komplexieren. Auf Grund der hohen Sauerstoff-Affinität wäre es vorstellbar, dass Mg^{2+} -Ionen trotzdem mit den Phosphat-Gruppen komplexieren, wodurch im System insgesamt mehr funktionelle Gruppen als bei Chelatkomplexen mit Ca^{2+} (vgl. *Referenz-Komposition (6)*) zur Verfügung ständen, was die adhäsiven Eigenschaften begünstigen würde. Bei den untersuchten Komplexen stehen *in vitro* Versuche hinsichtlich Zytotoxizität, Biokompatibilität, biologischer Abbaubarkeit, Osseointegration oder Fähigkeiten wie Osteokonduktivität und Osteoinduktivität aktuell noch aus. Wie oben beschrieben sind dahingehend Chelatverbindungen zwischen Phosphoserin und TTCP bzw. α -TCP performant. MPCs und kombinatorische Systeme bewiesen in der Vergangenheit ebenfalls Biokompatibilität^[16, 18, 274, 275], Osteokonduktivität^[15, 16, 18, 276] und sogar überlegene biologische Eigenschaften den CPCs gegenüber^[17, 18, 277, 278]. MPCs zeigten eine überlegene biologische Abbaubarkeit^[116], wobei sogar eine aktive Resorption durch Osteoklasten für möglich gehalten wird^[15, 278]. Hinsichtlich der beschriebenen Eigenschaften erscheinen die untersuchten Zementverbindungen aus Phosphoserin und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden also zumindest vielversprechend.

5.4 Systemmodifikationen

Es wurden im Rahmen der Arbeit Überlegungen und Versuche angestellt, die neuen biomineralischen adhäsiven Systeme zu modifizieren. Dazu wurde stellvertretend *Komposition (2)* verwendet. Das manuelle Durchmischen einzelner Komponenten durch den Chirurgen kann im operativen Setting problembehaftet sein. So ist das ordentliche Vermengen mit einem Spatel oft nicht trivial und interindividuelle Unterschiede sind zu

erwarten. Zum Problem des Handlings für den Chirurgen und zum zeitlichen Aspekt kommt die Schwierigkeit der Sterilisation. Alle Materialien und Utensilien wie Spatel und Anrührplatte müssen vorab sterilisiert werden und das Anmischprocedere muss unter sterilen Kautelen erfolgen. Daher wurden Untersuchungen zu präfabrizierten Pasten angestellt, wobei Glycerol als nicht-wässrige Flüssigkeit verwendet wurde. Takagi *et al.* (2003)^[279] entwickelten präfabrizierte wasserfreie Glycerol-haltige CPC-Pasten (PCPC). Sobald diese in einen Defekt eingebracht werden, ersetzt die Gewebsflüssigkeit das Glycerol und der Zement härtet aus. Allerdings sind in diesen PCPCs Abbindezeiten von über einer Stunde und eine geringe Festigkeit zu erwarten^[279]. Es konnte an *Komposition (2)* stellvertretend gezeigt werden, dass eine stabil lagerbare Paste über eine entsprechende Einbettung in eine Glycerol-Matrix auch mit den untersuchten neuen Klebezementen möglich ist (vgl. Kapitel 3.2.3). Allerdings zeigen diese Pasten noch keine hohe Auswaschbeständigkeit bei Zugabe physiologischer Flüssigkeit und können daher lediglich unter Wasserdampf innerhalb eines Tages aushärten. Jedoch erreichen sie eine ähnlich hohe Druckfestigkeit wie entsprechende Pulver, die mit Wasser angemischt werden (vgl. Abbildung 11). Hinsichtlich der Peak-Auslöschungen zeigt sich in der FTIR-Analyse kein Unterschied zu den regulären Kompositionen mit Wasser (vgl. Abbildung 15 und Abbildung 16) und elektronenmikroskopisch präsentieren sie sich ähnlich (vgl. Abbildung 25 und Abbildung 28), weswegen man von einem kongruenten Abbinde Mechanismus ausgehen kann. Im Gegensatz zu Takagi *et al.* (2003)^[279] wurden noch keine Additive wie Hydroxypropylmethylcellulose oder Na_2HPO_2 verwendet, mit Hilfe derer man künftig die Eigenschaften der Pasten gegebenenfalls noch verbessern könnte. Na_2HPO_2 beeinflusst im System von präfabrizierten CPC-Pasten die Festigkeit und die Aushärtegeschwindigkeit^[279]. Carey *et al.* (2005)^[234] verwendeten Monocalciumphosphat-Monohydrat, Chitosan oder Weinsäure als Additive und erzielten einen positiven Einfluss auf Abbindezeit und Festigkeit. Von Xu *et al.* (2007) wurden Säuren wie Citronen-, Malon-, Glycol-, Äpfel- oder Weinsäure auf diesen Zweck hin untersucht, wobei keine Veränderungen hinsichtlich der Biokompatibilität beobachtet wurden^[239]. Gerade mit Weinsäure konnte ein PCPC mit schneller Abbindezeit und hoher Festigkeit entwickelt werden^[239]. Ewald *et al.* (2019)^[139] verwendeten erstmals präfabrizierte MgP-Zementpasten. Diese mit Calcium vergüteten Pasten basieren auf einer Öl-Tensid-

Mischung und gewährleisten neben der erhöhten Haltbarkeit eine hohe mechanische Festigkeit und eine gute Resorption im Tierversuch^[139]. In den bislang genannten präfabrizierten Pasten entsteht im Zuge konventioneller Zementreaktionen ein neues Reaktionsprodukt wie etwa Hydroxylapatit, Struvit oder Newberyit. Abbindebeschleuniger, die in solchen Systemen funktionieren, sind nicht zwangsläufig auf die untersuchten Chelatkomplexe zwischen Mg^{2+} und Phosphoserin anwendbar. Allerdings wurde anderweitig MgO bereits als hochreaktive Mg^{2+} -Quelle und damit als Abbindebeschleuniger in Zementsystemen mit Phytinsäure als Komplexbildner beschrieben^[222]. Denkbar wäre also ein höherer Anteil an MgO oder die Verwendung von reaktiverem Magnesia, um die Abbindezeit einer präfabrizierten Paste zu verkürzen. Bezüglich der noch unzureichenden Auswaschbeständigkeit ist zu betonen, dass bislang noch keine Geliermittel wie etwa Hydroxypropylmethylcellulose, Carboxymethylcellulose, Alginat oder Chitosan verwendet wurden. Solche Geliermittel sind aber zumeist Bestandteil in den oben beschriebenen präfabrizierten Pasten und verschiedene Studien zeigen, dass diese eine gute Auswaschbeständigkeit hervorrufen^[280-282]. Sollten Versuche zur Verbesserung der Abbindezeit und der Auswaschbeständigkeit frustriert verlaufen, wären noch alternative Ansätze zur Entwicklung präfabrizierter Pasten jenseits der Verwendung nicht-wässriger Flüssigkeiten denkbar. So wurden zum Beispiel bereits Dual-Phasen-Systeme beschrieben^[283-286]. Die Reaktanten werden dabei vorab separat mit einer wässrigen oder einer wassermischbaren Lösung vermischt, wodurch jeweils haltbare Pasten generiert werden. Diese können während des Vorgangs der Injektion vermischt werden, wodurch der Zement aushärtet^[283, 285]. Nach diesem Prinzip wäre die Verwendung von Zwei-Kammer-Spritzen mit statischen Mischern in den Injektionskammern möglich^[287], wodurch eine einfache Injektion des Materials während einer Operation bewerkstelligt werden könnte. Eine weitere Methode zur Generierung präfabrizierter Pasten besteht in der Verwendung thermoresponsiver Polymere wie Poloxamere in Zement-Pasten, die gefroren lang lagerbar sind^[288]. Poloxamere, die als amphiphile Blockcopolymere aus zwei Blöcken Ethylenoxid und einem zentralen Block Propylenoxid bestehen^[289], wechseln bei Erhöhung der Temperatur vom Sol in den Gel-Zustand. Gerade Poloxamer 407 geliert bei Werten nahe der Körpertemperatur bei vergleichsweise niedriger Konzentration (18-30 Gew.%) innerhalb des Systems und ist damit ideal für den Einsatz in solchen präfabrizierten Zementpasten. Die Methodik

besteht darin, nach Vermischen der flüssigen und festen Phase die erhaltene Paste direkt in eine Spritze zu überführen, in flüssigem Stickstoff tiefzufrieren und anschließend zu lagern. Vor Anwendung kann die Spritze in einem Thermobad kurz aufgetaut werden. [288]

Eine weitere Thematik in Bezug auf Zementmodifikationen war die Inkorporation eines Porogens. Hierfür wurde Mannit verwendet, das bei einem Anteil von 10-15 % an der Trockenmasse elektronenmikroskopisch sichtbare Poren mit einem Durchmesser von 50-200 μm herbeiführt und dabei die Abbindezeit nicht wesentlich beeinflusst. Poren sind wichtig, um das Einwachsen von Knochen-formenden Zellen in den Zement zu gewährleisten und somit die Abbaubarkeit zu beschleunigen. Porosität kann dabei in Mikro- (10 μm - 30 \AA), Meso- (100 μm - 10 μm) und Makroporosität (330 μm - 100 μm) unterteilt werden [290]. Schon länger ist bekannt, dass größere Poren mit einem vermehrten Einwachsen von Knochen zusammenhängen können [291]. Daher gab es in den letzten Jahren viele Forschungsbemühungen, um Makroporosität in CPCs zu generieren, wobei darauf geachtet werden muss, dass eine Erhöhung der Makroporosität die mechanischen Eigenschaften des Zementes verschlechtern kann [292]. Es existieren mehrere Ansätze, um Makroporosität in der Zementmatrix zu erzeugen. Wasserlösliche Kristalle wie Zucker oder Mannitol sind abseits der Verwendung in dieser Forschungsarbeit auch anderweitig für diesen Zweck beschrieben [293, 294]. Alternative Porogene sind Schaummittel wie Wasserstoffperoxid oder Kohlendioxid [295-297]. Allerdings kann unter Verwendung wasserlöslicher Kristalle die Interkonnektivität der Poren über Gehalt, Größe und Größenverteilung des Porenbildners reguliert werden [298]. Eine als noch effektiver beschriebene Methode zur Erhöhung der Makroporosität ist die Verwendung von Polymermikropartikeln wie etwa PLGA. Dieses wird hydrolytisch zu Milch- oder Glykolsäure abgebaut, die wiederum in ihrer Umgebung die Zementmatrix auflösen und somit Poren entstehen lassen kann [299].

Ein abschließender Versuch, die untersuchten Zemente zu modifizieren, war die Inklusion eines Isocyanat-terminierten Präpolymers („star-PEG“). Dabei wurde ein dreiarmliges Copolymer aus Ethylenoxid- und Propylenoxid-Einheiten (molares Verhältnis von 3:1 bis 4:1) verwendet, wobei Glycerol das Zentrum des Präpolymers

bildet (vgl. Abbildung 34). Endständig befindet sich an den drei Armen jeweils ein Molekül Isophorondiisocyanat.

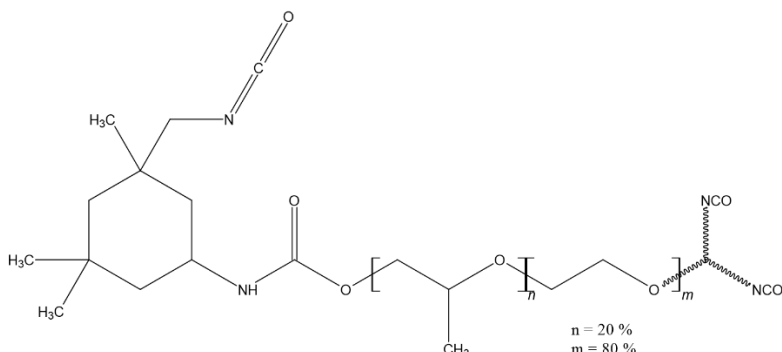


Abbildung 34: Abbildung von dreiarbigem NCO-sP(EO-stat-PO)^[300].

Solche Präpolymere mit NCO-Gruppen vernetzen in wässriger Umgebung quer^[301, 302]. Wistlich (2019)^[303] verwendete dieses sternförmige Isocyanat-modifizierte Präpolymer um α -TCP zu modifizieren, wobei dreiarbiges NCO-sP(EO-stat-PO) schneller reagierte als sechsarbiges^[303]. Im Gegensatz zu hydrophoben Isocyanaten gelten sternförmige NCO-sP(EO-stat-PO)-Moleküle als biokompatibel und nicht-toxisch^[304]. Die Entstehung eines interpenetrierenden Netzwerkes aus einem Polyurethan-Hydrogel und HA wurde postuliert und die Verwendung solcher Materialien auf dem Gebiet der Adhäsive vorgeschlagen^[303]. Wistlich *et al.* (2017)^[61] verwendeten dieses hydrophile Isocyanat in Form von sechsarbigem NCO-sP(EO-stat-PO), um einen Knochenklebstoff herzustellen, der explizit auch in wässriger Umgebung funktioniert. Die Vorstellung war, durch dieses Isocyanat-modifizierte Präpolymer die adhäsiven Eigenschaften gerade in Bezug auf die Performanz in wässriger Umgebung zu verbessern. Wenngleich NCO-sP(EO-stat-PO)-modifizierte Proben eine sehr hohe Klebrigkeit besitzen, härteten sie unter Zugabe von Wasser bzw. Wasserdampf nur sehr langsam aus und haben eine vergleichsweise geringere Klebefestigkeit (vgl. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Die Reaktion in Wasser besteht aus einer Hydrolyse und einer anschließenden Decarboxylierung der Isocyanatgruppen zu Aminogruppen. Diese reagieren entweder nicht weiter oder bilden wiederum Harnstoffbrücken mit Isocyanatgruppen anderer star-PEG Moleküle, die noch nicht hydrolysiert wurden^[300]. Nach Heyes *et al.* (2007)^[300] benötigt dieses System in der Verwendung als Oberflächen-Coating mindestens zwölf Stunden bis die Quervernetzung abgeschlossen ist^[300].

Ähnliche Abbindezeiten konnten bei den verwendeten Proben auch beobachtet werden. Wistlich (2019)^[303] lagerte Proben aus dreiarmigem NCO-sP(EO-*stat*-PO) und α -TCP mindestens eine Stunde in einem Wasserbad bevor sie mechanischen Tests unterzogen wurden, wobei wesentlich höhere Festigkeitswerte ab einer Lagerung von 24 Stunden erreicht wurden^[303]. Es ist also zu erwarten, dass Proben aus star-PEG, Phosphoserin und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden ähnlich lange in einem Wasserbad gelagert werden müssen, um vollständig abzubinden. Nur geringe Mengen an Wasser, wie sie beim Anmischen von Zementpasten verwendet werden, führen zu einem unvollständigen Aushärten der Proben. Dabei scheint es, dass sich nicht reagiertes star-PEG wie eine Isolierschicht zwischen die Füge­teile legt und die Klebefestigkeit dadurch deutlich herabsetzt (vgl. **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Ohne eine Strategie, die Quervernetzung des star-PEGs zu beschleunigen, scheint der Einsatz solcher Modifikationen als Adhäsive zumindest vorerst hin­fällig. Generell bleibt NCO-sP(EO-*stat*-PO) jedoch hochinteressant, gerade im Hinblick auf die hohe Klebrigkeit, die Performanz in wässrigem Milieu und die reagierenden funktionellen Gruppen. Dabei sind als Beispiel die Aminogruppen zu nennen. Diese tragen wie beschrieben zur Quervernetzung der star-PEG Moleküle bei, spielen parallel vermutlich aber auch bei der Abbinde­reaktion der untersuchten Klebezemente eine entscheidende Rolle (vgl. Kapitel 5.2). Eine Kombination und Interaktion der beiden Systeme bleibt daher generell vorstellbar.

5.5 Résumé und Ausblick

Die Kernpunkte der Diskussion sollen abschließend nochmals herausgestellt werden. In biokeramische Adhäsiven auf Basis von Phosphoserin und TMP bzw. MgO scheint Phosphoserin maßgeblich für die adhäsiven Eigenschaften zu sein. Dabei ist ein vergleichsweise hoher Anteil nötig, der über den gebräuchlichen Anteil eines Additives hinausgeht. Zu hohe Phosphoserin-Anteile können den Klebezement jedoch hydrolytisch anfällig machen. Die Reaktionsgeschwindigkeit kann maßgeblich durch den Herstellungsprozess und den Grad der Calcinierung gesteuert werden. Das Überführen in eine amorphe Phase kann TMPs zudem ausreichend reaktiv machen. Der vermutete Abbinde­mechanismus fußt auf der Ausbildung von Chelatkomplexen zwischen Phosphoserin und Mg^{2+} . Entsprechende Bindungen zum Ca^{2+} des anorganischen

Knochens können die adhäsiven Eigenschaften mitbedingen. Die neuen biokeramischen Zemente haben im Vergleich zu derzeit prädominierende Knochenadhäsiven sehr hohe Klebefestigkeiten. Besonders qualifizierten sich *Komposition (2)* und *Komposition (5)*. Sie zeichnen sich durch ein zumeist kohäsives Versagensmuster und einen duktilen Charakter aus. Die Temperatur sowie der pH-Wert im Rahmen der Abbindereaktion lassen keine unerwünschten Gewebereaktionen erwarten. Der pH-Wert scheint dabei entscheidend für die koordinative Bindungsstelle an der phosphorylierten Aminosäure zu sein, wobei bei den vorliegenden pH-Werten Amino- und Carboxylgruppen koordinative Bindungen eingehen sollten. Der Umstand, dass Mg^{2+} Bindungen zum Sauerstoff der Phosphatgruppe favorisiert, könnte ein maßgeblicher Faktor für die guten adhäsiven Eigenschaften sein. Hinsichtlich wichtiger Faktoren wie Biokompatibilität oder biologische Abbaubarkeit erscheinen die neuen Zemente immerhin vielversprechend, da sowohl Phosphoserin als auch MPCs in der Vergangenheit dahingehend für qualifiziert befunden wurden.

Ausblickend erscheinen diverse Modifikationen des in dieser Arbeit vorgestellten Systems als sinnvoll. Denkbar wäre beispielsweise die Verwendung anderer phosphorylierter Aminosäuren, wie Phosphothreonin oder Phosphotyrosin. Zudem wären Versuche mit organischer Phytinsäure oder dem Calcium-Salz des Phosphoserins im System interessant. Es wurde gezeigt, dass die Herstellung einer abbindefähigen präfabrizierten Glycerol-basierten Paste möglich ist. Die Auswaschbeständigkeit könnte jedoch mit einem Geliermittel erhöht werden und es sollte versucht werden, die Abbindezeit über Additive zu verkürzen. Alternativ zur Verwendung präfabrizierter Pasten ist sicherlich ein Dual-Phasen-System mit Anwendung einer Zwei-Kammer-Spritze mit statischen Mischern sinnvoll. Mit Mannit konnten zwar suffizient Poren generiert werden, jedoch wären zusätzlich die Auswirkungen einer Inkorporation von PLGA-Mikropartikeln speziell als Makro-Porogen aufschlussreich. Für eine Integration von NCO-sP(EO-*stat*-PO) im System sollten sich Strategien zur Verkürzung der Abbindezeiten überlegt werden.

Zum Erzeugen einer konstanten Qualität der Klebezemente wäre künftig ein maschinelles Anmischprocedere günstig. Da die Herstellung von Knochenprüfkörpern immens aufwändig ist, erscheint für eine ökonomische, effiziente Forschung generell die Verwendung von Füge-teil-Prüfkörpern wichtig, die dem Knochen strukturell zwar

Diskussion

möglichst nahe kommen, sich aber gleichzeitig schnell, kostengünstig und in Masse produzieren lassen. Idealer Werkstoff hierfür ist Hydroxylapatit. Bedeutend wäre jedoch in Zukunft eine weitere Verbesserung der inneren Festigkeit, um Ausmuschelungen beim Scherversuch zu vermeiden, sowie die Berücksichtigung des organischen Knochenanteils durch entsprechende Zusätze im Hydroxylapatit.

6 Zusammenfassung

Gegenstand dieser Arbeit war die Entwicklung neuer adhäsiver biomineralischer Zemente auf Basis von Phosphoserin und Magnesiumphosphaten bzw. -oxiden, die als Knochenklebstoffe zum Einsatz kommen können. Auf dem Gebiet der Knochenersatzmaterialien und -adhäsive ist es nach Wissen des Autors das erste Mal, dass Magnesiumverbindungen mit Phosphoserin kombiniert wurden. Es wurden Magnesiumoxide mit unterschiedlicher Calcinierung und Reaktivität verwendet. Außerdem wurde mit verschiedenen TMPs gearbeitet. Dies waren kristallines Farringtonit, amorphes TMP-Hydrat sowie amorphes Cattiit. Es resultierten insgesamt sechs Kompositionen, welche auf einer Reaktion dieser Magnesiumverbindungen mit Phosphoserin unter Zugabe von Wasser beruhen. Dabei bestimmten reaktive kaustisch gebrannte Magnesiumoxide maßgeblich die Reaktionsgeschwindigkeit und waren additiv bei der Verwendung von Farringtonit nötig. Jedoch gelang es durch eine Temperaturbehandlung die Reaktivität von TMPs so zu potenzieren, dass Magnesiumoxid entbehrlich war. Auch Systeme mit lediglich Magnesiumoxid waren möglich. Als Referenz diente eine Verbindung aus Phosphoserin und TTCP, die von einem sich in der präkommerziellen Phase befindlichen Knochenklebstoff, Tetranite®, bekannt ist.

Die neuen Klebezementkompositionen wurden mechanischen Tests unterzogen, um die Druckfestigkeit und die initiale Klebefestigkeit sowie die Klebefestigkeit im zeitlichen Verlauf auf Knochen zu ermitteln. Dabei wurde ein neues Testverfahren verwendet, das die Verklebung boviner Kompakta beinhaltet. Zusätzlich wurden die Formulierungen mittels Röntgendiffraktometrie, Fourier-Infrarot-Spektroskopie und Elektronenmikroskopie analysiert. Abschließend wurde versucht, dieses neue System mit unterschiedlichen Additiven zu modifizieren. Dabei wurde Mannit erfolgreich als Porogen verwendet. Dreiarmiges sternförmiges NCO-sP(EO-*stat*-PO) sollte die adhäsiven Eigenschaften und das Leistungspotenzial unter Wasser verbessern. Zuletzt wurden mit Glycerol präfabrizierte Pasten hergestellt, welche gelagert werden können und bei Kontakt mit Wasser aushärten.

Die neuen biomineralischen Klebezemente imponieren durch eine hervorragende Klebefestigkeit. Es konnte mit einer Verbindung aus Phosphoserin, Magnesiumoxid und Farringtonit beispielsweise eine initiale Klebefestigkeit von 7.29 ± 1.35 MPa auf Knochen

Zusammenfassung

erzielt werden. Ein wasserbeständiger Klebezement auf Basis von Phosphoserin und wärmebehandeltem TMP-Hydrat erreichte initial $6,60 \pm 0,88$ MPa auf Knochen. In diesem Kontext sind die neuen Klebezemente bislang prädominierenden Knochenadhäsiven überlegen. Die initiale Klebefestigkeit der Referenz betrug $1,86 \pm 0,32$ MPa. FTIR- und XRD- Analysen ließen als Abbinde Mechanismus die Ausbildung von Chelatkomplexen zwischen den funktionellen Gruppen des Phosphoserins und Mg^{2+} vermuten. Koordinative Bindungen zu Ca^{2+} sowie elektrostatische Wechselwirkungen bedingen mutmaßlich auch die hohe Klebefestigkeit. Scheinbar spielt dabei der pH-Wert eine entscheidende Rolle, da er generell maßgeblich für die Koordinationsstellen phosphorylierter Aminosäuren verantwortlich ist.

Ergebnisse von Zell- sowie *in vivo*- Versuchen stehen aktuell noch aus, sind allerdings Gegenstand derzeitiger Forschungsarbeiten. Verbindungen mit Phosphoserin^[175, 253, 269], wie auch Magnesiumphosphatzemente^[16, 18, 116, 226, 274, 275] bewiesen in der Vergangenheit separat Biokompatibilität sowie biologische Abbaubarkeit. Dahingehend erscheint also eine Kombination beider immerhin vielversprechend.

Aufgrund ihrer einzigartigen mechanischen Fertigkeiten, der guten rheologischen Eigenschaften und Handhabung sowie hervorragender Abbinde- und Aushärtezeiten können die vorgestellten biomineralischen Klebezemente neue Perspektiven in klinischen Behandlungen schaffen. Künftige Forschungsbemühungen zu Knochenadhäsiven auf Basis von Phosphoserin und Mg^{2+} erscheinen in jedem Fall lohnenswert. Gerade der Einsatz bei Trümmerfrakturen oder die Benutzung in nicht-lasttragenden Defekten sind Anwendungsbereiche solcher Knochenklebstoffe.

7 Literaturverzeichnis

1. Heiss C. und R. Schnettler: *Bioresorbierbare Knochenklebstoffe*; Der Unfallchirurg, 108 (5), S. 348-355, 2005
2. Donkerwolcke M., F. Burny und D. Muster: *Tissues and bone adhesives—historical aspects*; Biomaterials, 19 (16), S. 1461-1466, 1998
3. Giebel G. und M. Rimpler: *Klebungen am Skelettsystem: Klebstoffe, 50 Jahre Hilfsstoffe für den Chirurgen (Teil 1)-Skeletal System Gluing Adhesives, 50 Years of Surgical Aids. Part 1*; S. 35-40, 1981
4. Heiss C. und R. Schnettler: *Bioresorbable adhesives in trauma and orthopaedic surgery*; Biomaterialien, 4 (4), S. 298-304, 2003
5. Panagiotopoulou V.C.: *Adhesives for treatment of bone fractures: A review of the state-of-the art*; Injury, 53 S. 20-25, 2021
6. Pelc H.: *Der stärkste Klebstoff der Welt*, Internetadresse; Verfügbar auf: <https://www.springerprofessional.de/verbindungstechnik/der-staerkste-klebstoff-der-welt/16968562>, 2019 [zitiert 2022]
7. Weber S.C. und M.W. Chapman: *Adhesives in orthopaedic surgery. A review of the literature and in vitro bonding strengths of bone-bonding agents*; Clinical orthopaedics and related research, (191), S. 249-261, 1984
8. Suárez-Villota E.Y., E. Trovatti, F.A. Contreras und J.J. Nuñez: *Characterisation of a skin secretion with adhesive properties in the ground frog Eupsophus vertebralis (Alsodidae)*; Herpetozoa, 34 S. 169, 2021
9. Hess B.J., D.G. Allen, G.W. Kay und K.T. Foley. *RevBio Tetranite® Technology*, Internetadresse; Verfügbar auf: <https://revbio.com/>, 2020
10. Procter P.: *PBC BioMed - Biomimetic Innovations*, Internetadresse; Verfügbar auf: <https://pbcbiomed.ie/affiliates/biomimeticinnovations/>, 2016 [zitiert 2022]
11. Brown W.: *A new calcium phosphate setting cement*; J. Dent. Res., 62 S. 672, 1983
12. LeGeros R.Z.: *Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates*; Clinical Orthopaedics and Related Research®, 395 S. 81-98, 2002
13. Schröter L., F. Kaiser, S. Stein, U. Gbureck und A. Ignatius: *Biological and mechanical performance and degradation characteristics of calcium phosphate cements in large animals and humans*; Acta Biomaterialia, 117 S. 1-20, 2020
14. Kanter B., A. Vikman, T. Brückner, M. Schamel, U. Gbureck und A. Ignatius: *Bone regeneration capacity of magnesium phosphate cements in a large animal model*; Acta Biomaterialia, 69 S. 352-361, 2018
15. Kim J.-A., J. Lim, R. Naren, H.-s. Yun und E.K. Park: *Effect of the biodegradation rate controlled by pore structures in magnesium phosphate ceramic scaffolds on bone tissue regeneration in vivo*; Acta biomaterialia, 44 S. 155-167, 2016
16. Yu Y., J. Wang, C. Liu, B. Zhang, H. Chen, H. Guo, G. Zhong, W. Qu, S. Jiang und H. Huang: *Evaluation of inherent toxicology and biocompatibility of magnesium phosphate bone cement*; Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 76 (2), S. 496-504, 2010
17. Schendel S.A. und J. Peauroi: *Magnesium-based bone cement and bone void filler: preliminary experimental studies*; Journal of Craniofacial Surgery, 20 (2), S. 461-464, 2009

18. Wu F., J. Wei, H. Guo, F. Chen, H. Hong und C. Liu: *Self-setting bioactive calcium–magnesium phosphate cement with high strength and degradability for bone regeneration*; *Acta Biomaterialia*, 4 (6), S. 1873-1884, 2008
19. Laurenti M., A. Al Subaie, M.-N. Abdallah, A.R.G. Cortes, J.L. Ackerman, H. Vali, K. Basu, Y.L. Zhang, M. Murshed, S. Strandman, J. Zhu, N. Makhoul, J.E. Barralet und F. Tamimi: *Two-Dimensional Magnesium Phosphate Nanosheets Form Highly Thixotropic Gels That Up-Regulate Bone Formation*; *Nano Letters*, 16 (8), S. 4779-4787, 2016
20. Hunter G.K., C.L. Kyle und H.A. Goldberg: *Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: structural specificity of the osteopontin-mediated inhibition of hydroxyapatite formation*; *Biochemical Journal*, 300 (3), S. 723-728, 1994
21. Hunter G.K. und H.A. Goldberg: *Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: role of glutamic acid-rich sequences in the nucleation of hydroxyapatite by bone sialoprotein*; *Biochemical Journal*, 302 (1), S. 175-179, 1994
22. Hunter G.K., P.V. Hauschka, R.A. Poole, L.C. Rosenberg und H.A. Goldberg: *Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins*; *Biochemical Journal*, 317 (1), S. 59-64, 1996
23. Sodek J., B. Ganss und M.D. McKee: *Osteopontin*; *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 11 (3), S. 279-303, 2000
24. Ganss B., R.H. Kim und J. Sodek: *Bone sialoprotein*; *Crit Rev Oral Biol Med*, 10 (1), S. 79-98, 1999
25. Reinstorf A., U. Hempel, F. Olgemöller, H. Domaschke, W. Schneiders, R. Mai, B. Stadlinger, A. Rösen-Wolff, S. Rammelt und M. Gelinsky: *O-phospho-L-serine modified calcium phosphate cements–material properties, in vitro and in vivo investigations*; *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik: Entwicklung, Fertigung, Prüfung, Eigenschaften und Anwendungen technischer Werkstoffe*, 37 (6), S. 491-503, 2006
26. Lu Q., E. Danner, J.H. Waite, J.N. Israelachvili, H. Zeng und D.S. Hwang: *Adhesion of mussel foot proteins to different substrate surfaces*; *Journal of The Royal Society Interface*, 10 (79), S. 2012.0759, 2013
27. Waite J.H. und X. Qin: *Polyphosphoprotein from the adhesive pads of *Mytilus edulis**; *Biochemistry*, 40 (9), S. 2887-2893, 2001
28. Cha H.J., D.S. Hwang und S. Lim: *Development of bioadhesives from marine mussels*; *Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology*, 3 (5), S. 631-638, 2008
29. Stewart R.J., C.S. Wang, I.T. Song und J.P. Jones: *The role of coacervation and phase transitions in the sandcastle worm adhesive system*; *Advances in colloid and interface science*, 239 S. 88-96, 2017
30. Wang C.S., K.K. Svendsen und R.J. Stewart, *Morphology of the adhesive system in the sandcastle worm, *Phragmatopoma californica**, In *Biological adhesive systems*. 2010, Springer. S. 169-179.
31. Stewart R.J., T.C. Ransom und V. Hlady: *Natural underwater adhesives*; *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 49 (11), S. 757-771, 2011
32. Stewart R.J., C.S. Wang und H. Shao: *Complex coacervates as a foundation for synthetic underwater adhesives*; *Advances in colloid and interface science*, 167 (1-2), S. 85-93, 2011

33. Stewart R.J., J.C. Weaver, D.E. Morse und J.H. Waite: *The tube cement of Phragmatopoma californica: a solid foam*; Journal of experimental biology, 207 (26), S. 4727-4734, 2004
34. Bhagat V., E. O'Brien, J. Zhou und M.L. Becker: *Caddisfly inspired phosphorylated poly (ester urea)-based degradable bone adhesives*; Biomacromolecules, 17 (9), S. 3016-3024, 2016
35. Smeets R., H. Hanken, B. Beck-Broichsitter, A. Gröbe, C. Precht, M. Heiland und O. Jung: *Knochenersatzmaterialien*; Der MKG-Chirurg, 9 (1), S. 2-11, 2016
36. Smeets R., A. Henningsen, D. Grubeanu, S. Sikken und R. Gaudin: *Allogene Knochenersatzmaterialien*; Der Freie Zahnarzt, 61 (9), S. 74-82, 2017
37. Zimmermann M., A. Mehl, M. Rosentritt, N. Ilie und U. Lohbauer: *Werkstoffkunde in der Zahnmedizin-Moderne Materialien und Technologien*; Georg Thieme Verlag, 2018
38. Marx R.E. und A.K. Garg: *Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology*; Implant dentistry, 7 (4), S. 267-276, 1998
39. Gerhardt L.-C. und A.R. Boccaccini: *Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering*; Materials, 3 (7), S. 3867-3910, 2010
40. Horch H.-H., R. Sader, C. Pautke, A. Neff, H. Deppe und A. Kolk: *Synthetic, pure-phase beta-tricalcium phosphate ceramic granules (Cerasorb®) for bone regeneration in the reconstructive surgery of the jaws*; International journal of oral and maxillofacial surgery, 35 (8), S. 708-713, 2006
41. Klein M., H. Goetz, S. Pazen, B. Al-Nawas, W. Wagner und H. Duschner: *Pore characteristics of bone substitute materials assessed by microcomputed tomography*; Clinical oral implants research, 20 (1), S. 67-74, 2009
42. Smeets R., O. Jung, H. Hanken, P. Hartjen, A. Al Dam, A. Gröbe, M. Heiland, M. Gosau, D. Rothamel und M. Schlee: *Was können regenerative Materialien in der Zahnmedizin leisten–und wo sind die Grenzen*; Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift, 69 S. 708-721, 2014
43. Springer I.N., H. Terheyden, S. Geiß, F. Härle, J. Hedderich und Y. Açil: *Particulated bone grafts–effectiveness of bone cell supply*; Clinical Oral Implants Research, 15 (2), S. 205-212, 2004
44. Itälä A.I., H.O. Ylänen, C. Ekholm, K.H. Karlsson und H.T. Aro: *Pore diameter of more than 100 µm is not requisite for bone ingrowth in rabbits*; Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 58 (6), S. 679-683, 2001
45. Boby J., R. Pilliar, H. Cameron und G. Weatherly: *The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone*; Clinical Orthopaedics and Related Research®, 150 S. 263-270, 1980
46. Garcia P., D. Franz und M. Raschke: *Knochenersatzmaterialien–Grundlagen und klinischer Nutzen*; Zeitschrift für Orthopädie und Unfallchirurgie, 152 (02), S. 152-160, 2014
47. Heinemann S., S. Rössler, M. Lemm, M. Ruhnnow und B. Nies: *Properties of injectable ready-to-use calcium phosphate cement based on water-immiscible liquid*; Acta biomaterialia, 9 (4), S. 6199-6207, 2013
48. Hench L.L. und J.M. Polak: *Third-generation biomedical materials*; Science, 295 (5557), S. 1014-1017, 2002

49. Lüllmann-Rauch R. und F. Paulsen: *Taschenlehrbuch Histologie*, Thieme, 2012
50. Farrar D.: *Bone adhesives for trauma surgery: A review of challenges and developments*; International Journal of Adhesion and Adhesives, 33 S. 89–97, 2012
51. Schmiessner H.: *Chemical and physical aspects of cyanoacrylate*; Dtsche Zahn Zeit, 25 S. 907-913, 1970
52. Matsumoto T., *Review of cyanoacrylate monomers in surgery*, In *Adhesion in Biological Systems*. Elsevier. S. 209-214, 1970
53. Renner T., *In vitro testing methods for the qualification of bone glues*; Dissertation, Universität Würzburg, 2018.
54. Meyer G., D. Muster, D. Schmitt, P. Jung und J.H. Jaeger: *Bone Bonding Through Bioadhesives : Present Status*; Biomaterials, Medical Devices, and Artificial Organs, 7 (1), S. 55-71, 1979
55. Charnley J.: *Anchorage of the femoral head prosthesis to the shaft of the femur*; The Journal of bone and joint surgery. British volume, 42 (1), S. 28-30, 1960
56. Kumar A. und R. Ghosh: *Fracture Toughness of Acrylic PMMA Bone Cement: A Mini-Review*; Indian Journal of Orthopaedics, 55 (5), S. 1208-1214, 2021
57. Smith D. und S. DC: *Lutes, glues, cements and adhesives in medicine and dentistry*; 8 (3), S. 108, 1973
58. Briehl H., *Erratum zu: Kunststoffe*, In *Chemie der Werkstoffe*. 2021, Springer. S. E1-E1.
59. Christel T., S. Christ, J.E. Barralet, J. Groll und U. Gbureck: *Chelate bonding mechanism in a novel magnesium phosphate bone cement*; Journal of the American Ceramic Society, 98 (3), S. 694-697, 2015
60. Zhou J.R. und J.W. Erdman Jr: *Phytic acid in health and disease*; Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 35 (6), S. 495-508, 1995
61. Wistlich L., A. Rücker, M. Schamel, A.C. Kübler, U. Gbureck und J. Groll: *A bone glue with sustained adhesion under wet conditions*; Advanced healthcare materials, 6 (3), S. 1600902, 2017
62. Holzapfel B.M., J.C. Reichert, J.-T. Schantz, U. Gbureck, L. Rackwitz, U. Nöth, F. Jakob, M. Rudert, J. Groll und D.W. Hutmacher: *How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view*; Advanced drug delivery reviews, 65 (4), S. 581-603, 2013
63. de la Puente P. und D. Ludeña: *Cell culture in autologous fibrin scaffolds for applications in tissue engineering*; Experimental cell research, 322 (1), S. 1-11, 2014
64. Perka C., O. Schultz, R.-S. Spitzer, K. Lindenhayn, G.-R. Burmester und M. Sittinger: *Segmental bone repair by tissue-engineered periosteal cell transplants with bioresorbable fleece and fibrin scaffolds in rabbits*; Biomaterials, 21 (11), S. 1145-1153, 2000
65. Tafti A.K., D. Mehrabani und H.S. Yazdi: *Autologous Fibrin Glue as a Suitable Scaffold for Bone Tissue Engineering*; Int. Congress on Stem Cells & Regenerative Medicine, 2015
66. Khodakaram-Tafti A., D. Mehrabani und H. Shaterzadeh-Yazdi: *An overview on autologous fibrin glue in bone tissue engineering of maxillofacial surgery*; Dental research journal, 14 (2), S. 79-86, 2017
67. Fang H., S. Peng, A. Chen, F. Li, K. Ren und N. Hu: *Biocompatibility studies on fibrin glue cultured with bone marrow mesenchymal stem cells in vitro*; Journal

- of Huazhong University of Science and Technology. Medical sciences= Hua zhong ke ji da xue xue bao. Yi xue Ying De wen ban= Huazhong keji daxue xuebao. Yixue Yingdewen ban, 24 (3), S. 272-274, 2004
68. Bonchek L.I. und N.S. Braunwald: *Experimental evaluation of a cross-linked gelatin adhesive in gastrointestinal surgery*; Annals of surgery, 165 (3), S. 420, 1967
 69. Tatoes C.J. und N.S. Braunwald: *The use of crosslinked gelatin as a tissue adhesive to control hemorrhage from liver and kidney*; Surgery, 60 (4), S. 857-861, 1966
 70. Imoto K., *Recent status of gelatin-resorcin-formalin glue for acute type A aortic dissection*; 59, S. 313-314, 2011,
 71. Quinn J.V.: *Tissue adhesives in clinical medicine*, PMPH-USA, 2005
 72. Raanani E., D.A. Latter, L.E. Errett, D.B. Bonneau, Y. Leclerc und G.C. Salasidis: *Use of "BioGlue" in aortic surgical repair*; The Annals of thoracic surgery, 72 (2), S. 638-640, 2001
 73. Millar N.L., T.A. Bradley, N.A. Walsh, R.C. Appleyard, M.J. Tyler und G.A.C. Murrell: *Frog glue enhances rotator cuff repair in a laboratory cadaveric model*; Journal of Shoulder and Elbow Surgery, 18 (4), S. 639-645, 2009
 74. Benthien J.P., M. Russlies und P. Behrens: *Investigating the effects of bone cement, cyanoacrylate glue and marine mussel adhesive protein from Mytilus edulis on human osteoblasts and fibroblasts in vitro*; Annals of Anatomy - Anatomischer Anzeiger, 186 (5), S. 561-566, 2004
 75. Liu Z., S. Qu, X. Zheng, X. Xiong, R. Fu, K. Tang, Z. Zhong und J. Weng: *Effect of polydopamine on the biomimetic mineralization of mussel-inspired calcium phosphate cement in vitro*; Materials Science and Engineering: C, 44 S. 44-51, 2014
 76. Faure E., C. Falentin-Daudré, C. Jérôme, J. Lyskawa, D. Fournier, P. Woisel und C. Detrembleur: *Catechols as versatile platforms in polymer chemistry*; Progress in polymer science, 38 (1), S. 236-270, 2013
 77. Lee M., S.H. Ku, J. Ryu und C.B. Park: *Mussel-inspired functionalization of carbon nanotubes for hydroxyapatite mineralization*; Journal of Materials Chemistry, 20 (40), S. 8848-8853, 2010
 78. Shao H., K.N. Bachus und R.J. Stewart: *A water-borne adhesive modeled after the sandcastle glue of P. californica*; Macromolecular bioscience, 9 (5), S. 464-471, 2009
 79. Song I.T. und R.J. Stewart: *Complex coacervation of Mg (II) phosphopolymethacrylate, a synthetic analog of sandcastle worm adhesive phosphoproteins*; Soft matter, 14 (3), S. 379-386, 2018
 80. Zhang L., V. Lipik und A. Miserez: *Complex coacervates of oppositely charged co-polypeptides inspired by the sandcastle worm glue*; Journal of Materials Chemistry B, 4 (8), S. 1544-1556, 2016
 81. Xu H.H., P. Wang, L. Wang, C. Bao, Q. Chen, M.D. Weir, L.C. Chow, L. Zhao, X. Zhou und M.A. Reynolds: *Calcium phosphate cements for bone engineering and their biological properties*; Bone research, 5 (1), S. 1-19, 2017
 82. Koutsoukos P., Z. Amjad, M.B. Tomson und G.H. Nancollas: *Crystallization of calcium phosphates. A constant composition study*; Journal of the American Chemical Society, 102 (5), S. 1553-1557, 1980

Literaturverzeichnis

83. LeGeros R.Z. und J.P. LeGeros: *Calcium phosphate bioceramics: past, present and future*; Key Engineering Materials, 240, S. 3-10, 2002
84. Brown P.W. und B. Constantz: *Hydroxyapatite and related materials*; CRC press, 368, 1994
85. Dorozhkin S.V. und M. Epple: *Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten*; angewandte Chemie, 114 (17), S. 3260-3277, 2002
86. Takagi S., L. Chow und K. Ishikawa: *Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements*; Biomaterials, 19 (17), S. 1593-1599, 1998
87. Fukase Y., E. Eanes, S. Takagp, L. Chow und W. Brown: *Setting reactions and compressive strengths of calcium phosphate cements*; Journal of dental research, 69 (12), S. 1852-1856, 1990
88. Tas A.C. *Preparation of self-setting cement-based micro-and macroporous granules of carbonated apatitic calcium phosphate*; Advances in Bioceramics and Biocomposites II, Ceramic engineering and science proceedings, 27, S. 49-60, 2007
89. Wang X., J. Ye und Y. Wang: *Hydration mechanism of a novel PCCP+ DCPA cement system*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 19 (2), S. 813-816, 2008
90. Chow L.C. und E.D. Eanes: *Octacalcium phosphate*; Vol. 18. Karger Medical and Scientific Publishers, 2001
91. Bohner M.: *Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements*; Injury, 31 S. D37-D47, 2000
92. Carrodegua R.G. und S. De Aza: *α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications*; Acta biomaterialia, 7 (10), S. 3536-3546, 2011
93. Brückner T., *Novel application forms and setting mechanisms of mineral bone cements*; Dissertation, Universität Würzburg, 2019.
94. Fernández E., F.J. Gil, M.P. Ginebra, F.C. Driessens, J.A. Planell und S.M. Best: *Calcium phosphate bone cements for clinical applications. Part I: solution chemistry*; J Mater Sci Mater Med, 10 (3), S. 169-176, 1999
95. Elliott J.C.: *Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates*, Elsevier, 2013
96. Brown W.E. und L.C. Chow, *Dental resporative cement pastes*; U.S. Patent No. 4,518,430; 1985
97. Moseke C. und U. Gbureck: *Tetracalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications*; Acta Biomaterialia, 6 (10), S. 3815-3823, 2010
98. Dorozhkin S.V.: *Self-setting calcium orthophosphate formulations: cements, concretes, pastes and putties*; International Journal of Materials and Chemistry, 1 (1), S. 1-48, 2011
99. Ginebra M.-P., M. Espanol, E.B. Montufar, R.A. Perez und G. Mestres: *New processing approaches in calcium phosphate cements and their applications in regenerative medicine*; Acta biomaterialia, 6 (8), S. 2863-2873, 2010
100. Dorozhkin S.V.: *Bioceramics of calcium orthophosphates*; Biomaterials, 31 (7), S. 1465-1485, 2010
101. Chow L.C.: *Next generation calcium phosphate-based biomaterials*; Dental materials journal, 28 (1), S. 1-10, 2009
102. Zhang J., W. Liu, V. Schnitzler, F. Tancret und J.-M. Bouler: *Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties*; Acta biomaterialia, 10 (3), S. 1035-1049, 2014

103. Kuroda K. und M. Okido: *Hydroxyapatite coating of titanium implants using hydroprocessing and evaluation of their osteoconductivity*; Bioinorganic chemistry and applications, 2012, 2012
104. Bohner M. und U. Gbureck: *Thermal reactions of brushite cements*; Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 84 (2), S. 375-385, 2008
105. Tamimi F., Z. Sheikh und J. Barralet: *Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite*; Acta biomaterialia, 8 (2), S. 474-487, 2012
106. Allolio B. und H.M. Schulte: *Praktische Endokrinologie*, Elsevier Health Sciences Germany, 2011
107. Flatman P.W.: *Magnesium transport across cell membranes*; The Journal of membrane biology, 80 (1), S. 1-14, 1984
108. Simon D.B., Y. Lu, K.A. Choate, H. Velazquez, E. Al-Sabban, M. Praga, G. Casari, A. Bettinelli, G. Colussi und J. Rodriguez-Soriano: *Paracellin-1, a renal tight junction protein required for paracellular Mg²⁺ resorption*; Science, 285 (5424), S. 103-106, 1999
109. Weisinger J.R. und E. Bellorín-Font: *Magnesium and phosphorus*; The Lancet, 352 (9125), S. 391-396, 1998
110. Wolf F.I. und A. Cittadini: *Chemistry and biochemistry of magnesium*; Molecular aspects of medicine, 24 (1-3), S. 3, 2003
111. Dorozhkin S.V. und M. Epple: *Biological and medical significance of calcium phosphates*; Angewandte Chemie International Edition, 41 (17), S. 3130-3146, 2002
112. Rude R., H. Gruber, L. Wei, A. Frausto und B. Mills: *Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse*; Calcified tissue international, 72 (1), S. 32-41, 2003
113. Rude R.K., F.R. Singer und H.E. Gruber: *Skeletal and hormonal effects of magnesium deficiency*; Journal of the American College of Nutrition, 28 (2), S. 131-141, 2009
114. Diba M., F. Tapia, A.R. Boccaccini und L.A. Strobel: *Magnesium-containing bioactive glasses for biomedical applications*; International Journal of Applied Glass Science, 3 (3), S. 221-253, 2012
115. Nabyouni M., T. Brückner, H. Zhou, U. Gbureck und S.B. Bhaduri: *Magnesium-based bioceramics in orthopedic applications*; Acta biomaterialia, 66, S. 23-43, 2017
116. Ostrowski N., A. Roy und P.N. Kumta: *Magnesium phosphate cement systems for hard tissue applications: A review*; ACS Biomaterials Science & Engineering, 2 (7), S. 1067-1083, 2016
117. Brown P.W., J. Gulick und J. Dumm: *The System MgO—P₂O₅—H₂O at 25° C*; Journal of the American Ceramic Society, 76 (6), S. 1558-1562, 1993
118. Mousa S.: *Study on synthesis of magnesium phosphate materials*; Phosphorus research bulletin, 24 S. 16-21, 2010
119. Mathew M., P. Kingsbury, S. Takagi und W. Brown: *A new struvite-type compound, magnesium sodium phosphate heptahydrate*; Acta Crystallographica Section B: Structural Crystallography and Crystal Chemistry, 38 (1), S. 40-44, 1982

120. Chau C., F. Qiao und Z. Li: *Microstructure of magnesium potassium phosphate cement*; Construction and Building Materials, 25 (6), S. 2911-2917, 2011
121. Vinokurov S., Y.M. Kulyako, O. Slyunchev, S. Rovnyi, A. Wagh, M. Maloney und B. Myasoedov: *Magnesium potassium phosphate matrices for immobilization of high-level liquid wastes*; Radiochemistry, 51 (1), S. 65-72, 2009
122. Abdelrazig B. und J. Sharp: *Phase changes on heating ammonium magnesium phosphate hydrates*; Thermochemica Acta, 129 (2), S. 197-215, 1988
123. Hall D.A., R. Stevens und B.E. Jazairi: *Effect of water content on the structure and mechanical properties of magnesia-phosphate cement mortar*; Journal of the American Ceramic Society, 81 (6), S. 1550-1556, 1998
124. Frazier A.W., J.R. Lehr und J.P. Smith: *The magnesium phosphates hannayite, schertelite and bobierrite*; American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials, 48 (5-6), S. 635-641, 1963
125. Yang N., C. Shi, J. Yang und Y. Chang: *Research progresses in magnesium phosphate cement-based materials*; Journal of Materials in Civil Engineering, 26 (10), S. 04014071, 2014
126. Ribeiro D.V. und M.R. Morelli: *Performance analysis of magnesium phosphate cement mortar containing grinding dust*; Materials Research, 12 (1), S. 51-56, 2009
127. Mestres G. und M.-P. Ginebra: *Novel magnesium phosphate cements with high early strength and antibacterial properties*; Acta biomaterialia, 7 (4), S. 1853-1861, 2011
128. Moseke C., V. Saratsis und U. Gbureck: *Injectability and mechanical properties of magnesium phosphate cements*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 22 (12), S. 2591-2598, 2011
129. Wagh A.S. und S.Y. Jeong: *Chemically bonded phosphate ceramics: I, a dissolution model of formation*; Journal of the American Ceramic Society, 86 (11), S. 1838-1844, 2003
130. Bertone A., B. Hackett, A. Litsky, A. Johnson, C. Kaeding und T. Lally: *A magnesium injectable formulation adheres bone to bone and tendon to bone*; Trans Orthop Res Soc, 30 S. 1007, 2005
131. Bates P. und R.K. Young: *Plastic Magnesia cements*; Journal of the American Ceramic Society, 4 (7), S. 570-596, 1921
132. Zhou H., A.K. Agarwal, V.K. Goel und S.B. Bhaduri: *Microwave assisted preparation of magnesium phosphate cement (MPC) for orthopedic applications: a novel solution to the exothermicity problem*; Materials Science and Engineering: C, 33 (7), S. 4288-4294, 2013
133. Klammert U., T. Reuther, M. Blank, I. Reske, J.E. Barralet, L.M. Grover, A.C. Kübler und U. Gbureck: *Phase composition, mechanical performance and in vitro biocompatibility of hydraulic setting calcium magnesium phosphate cement*; Acta biomaterialia, 6 (4), S. 1529-1535, 2010
134. Liu W., D. Zhai, Z. Huan, C. Wu und J. Chang: *Novel tricalcium silicate/magnesium phosphate composite bone cement having high compressive strength, in vitro bioactivity and cytocompatibility*; Acta biomaterialia, 21 S. 217-227, 2015
135. Zhou H., M. Nabyouni, B. Lin und S.B. Bhaduri: *Fabrication of novel poly (lactic acid)/amorphous magnesium phosphate bionanocomposite fibers for*

- tissue engineering applications via electrospinning*; Materials Science and Engineering: C, 33 (4), S. 2302-2310, 2013
136. Canal C., D. Pastorino, G. Mestres, P. Schuler und M.-P. Ginebra: *Relevance of microstructure for the early antibiotic release of fresh and pre-set calcium phosphate cements*; Acta biomaterialia, 9 (9), S. 8403-8412, 2013
137. Seki K., A. Sakka, A. Tokushige, T. Imagama, M. Mutou und T. Taguchi: *Treatment for Staphylococcus aureus infection following open wedge high tibial osteotomy using antibiotic-impregnated calcium phosphate cement*; Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 22 (11), S. 2614-2617, 2014
138. Mestres G., M. Abdolhosseini, W. Bowles, S.-H. Huang, C. Aparicio, S.-U. Gorr und M.-P. Ginebra: *Antimicrobial properties and dentin bonding strength of magnesium phosphate cements*; Acta biomaterialia, 9 (9), S. 8384-8393, 2013
139. Ewald A., D. Kreczy, T. Brückner, U. Gbureck, M. Bengel, A. Hoess, B. Nies, J. Bator, U. Klammert und A. Fuchs: *Development and bone regeneration capacity of premixed magnesium phosphate cement pastes*; Materials, 12 (13), S. 2119, 2019
140. Lally T., *Bio-adhesive composition, method for adhering objects to bone*; U.S. Patent No. 6,533,821; 2003
141. Gente M. und M. Willamowski: *Zahnärztliche Werkstoffkunde*, Spitta Verlag GmbH & Company, 2018
142. TenHuisen K. und P. Brown: *The formation of hydroxyapatite-ionomer cements at 38 C*; Journal of dental research, 73 (3), S. 598-606, 1994
143. Majekodunmi A., S. Deb und J. Nicholson: *Effect of molecular weight and concentration of poly (acrylic acid) on the formation of a polymeric calcium phosphate cement*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 14 (9), S. 747-752, 2003
144. Khashaba R.M., M. Moussa, C. Koch, A.R. Jurgensen, D.M. Missimer, R.L. Rutherford, N.B. Chutkan und J.L. Borke: *Preparation, physical-chemical characterization, and cytocompatibility of polymeric calcium phosphate cements*; International journal of biomaterials, 2011
145. Chen W.-C., C.-P. Ju, J.-C. Wang, C.-C. Hung und J.-H.C. Lin: *Brittle and ductile adjustable cement derived from calcium phosphate cement/polyacrylic acid composites*; Dental Materials, 24 (12), S. 1616-1622, 2008
146. Watson K., K. Tenhuisen und P. Brown: *The formation of hydroxyapatite–calcium polyacrylate composites*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 10 (4), S. 205-213, 1999
147. Wilson A., S. Crisp und A. Ferner: *Reactions in glass-ionomer cements: IV. Effect of chelating comonomers on setting behavior*; Journal of dental research, 55 (3), S. 489-495, 1976
148. Matsuya Y., J.M. Antonucci, S. Matsuya, S. Takagi und L.C. Chow: *Polymeric calcium phosphate cements derived from poly (methyl vinyl ether-maleic acid)*; Dental Materials, 12 (1), S. 2-7, 1996
149. Sheikh Z., M. Geffers, T. Christel, J.E. Barralet und U. Gbureck: *Chelate setting of alkali ion substituted calcium phosphates*; Ceramics International, 41 (8), S. 10010-10017, 2015
150. Konishi T., M. Mizumoto, M. Honda, Z. Zhuang und M. Aizawa: *Fabrication of chelate-setting cements from hydroxyapatite powders surface-modified with*

- various sodium inositol hexaphosphate concentrations and their mechanical properties*; Procedia Engineering, 36 S. 137-143, 2012
151. Takahashi S., T. Konishi, K. Nishiyama, M. Mizumoto, M. Honda, Y. Horiguchi, K. Oribe und M. Aizawa: *Fabrication of novel bioresorbable β -tricalcium phosphate cement on the basis of chelate-setting mechanism of inositol phosphate and its evaluation*; Journal of the ceramic society of Japan, 119 (1385), S. 35-42, 2011
 152. Dos Santos L., L. De Oliveira, E. Rigo, R. Carrodegua, A. Boschi und A. De Arruda: *Influence of polymeric additives on the mechanical properties of α -tricalcium phosphate cement*; Bone, 25 (2), S. 99S-102S, 1999
 153. Wang J., C. Liu, Y. Liu und S. Zhang: *Double-network interpenetrating bone cement via in situ hybridization protocol*; Advanced Functional Materials, 20 (22), S. 3997-4011, 2010
 154. Christel T., M. Kuhlmann, E. Vorndran, J. Groll und U. Gbureck: *Dual setting α -tricalcium phosphate cements*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 24 (3), S. 573-581, 2013
 155. Dos Santos L.A., R.G. Carrodegua, A.O. Boschi und A.C. De Arruda: *Dual-setting calcium phosphate cement modified with ammonium polyacrylate*; Artificial organs, 27 (5), S. 412-418, 2003
 156. SUGAWARA A., J.M. ANTONUCCI, S. TAKAGI, L.C. Chow und M. OHASHI: *Formation of hydroxyapatite in hydrogels from tetracalcium phosphate/dicalcium phosphate mixtures*; The Journal of Nihon University School of Dentistry, 31 (1), S. 372-381, 1989
 157. Rigo E.C.d.S., L.A.d. Santos, L.C.d.O. Vercik, R. García Carrodegua und A.O. Boschi: *Alpha-tricalcium phosphate-and tetracalcium phosphate/dicalcium phosphate-based dual setting*; Latin american applied research= Pesquisa aplicada latinoamericana= Investigación aplicada latinoamericana. Bahía Blanca, AG. vol. 37, no. 4 (oct./dic. 2007), p. 267-274, 2007
 158. Geffers M., J.E. Barralet, J. Groll und U. Gbureck: *Dual-setting brushite–silica gel cements*; Acta biomaterialia, 11 S. 467-476, 2015
 159. Schamel M., J. Groll und U. Gbureck: *Simultaneous formation and mineralization of star-P (EO-stat-PO) hydrogels*; Materials Science and Engineering: C, 75 S. 471-477, 2017
 160. Schamel M., J.E. Barralet, M. Gelinsky, J. Groll und U. Gbureck: *Intrinsic 3D prestressing: a new route for increasing strength and improving toughness of hybrid inorganic biocements*; Advanced Materials, 29 (35), S. 1701035, 2017
 161. Canal C. und M. Ginebra: *Fibre-reinforced calcium phosphate cements: a review*; Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 4 (8), S. 1658-1671, 2011
 162. Dorozhkin S.V.: *Calcium orthophosphate-based biocomposites and hybrid biomaterials*; Journal of Materials Science, 44 (9), S. 2343-2387, 2009
 163. Schnieders J., U. Gbureck, R. Thull und T. Kissel: *Controlled release of gentamicin from calcium phosphate–poly (lactic acid-co-glycolic acid) composite bone cement*; Biomaterials, 27 (23), S. 4239-4249, 2006
 164. Schorcht F., I. Kourti, B.M. Scalet, S. Roudier und L.D. Sancho: *Best available techniques (BAT) reference document for the production of cement, lime and magnesium oxide*; European Commission Joint Research Centre Institute for Prospective Technological Studies, Luxembourg, 2013

165. Olsen J.V., B. Blagoev, F. Gnad, B. Macek, C. Kumar, P. Mortensen und M. Mann: *Global, in vivo, and site-specific phosphorylation dynamics in signaling networks*; Cell, 127 (3), S. 635-648, 2006
166. Krebs E.G.: *The phosphorylation of proteins: a major mechanism for biological regulation*; Biochem. Soc. Trans, 13 S. 813-820, 1985
167. Voet D., J.G. Voet und C.W. Pratt: *Lehrbuch der Biochemie*, John Wiley & Sons, 2019
168. Jastrzab R. und L. Lomozik: *Coordination mode in the binary systems of copper (II)/O-phospho-L-serine*; Journal of Coordination Chemistry, 62 (5), S. 710-720, 2009
169. Butler W.T.: *The nature and significance of osteopontin*; Connective tissue research, 23 (2-3), S. 123-136, 1989
170. Mann S.: *Biomaterialization: principles and concepts in bioinorganic materials chemistry*; Vol. 5. Oxford University Press on Demand, 2001
171. Salgado C.L., B.I.B. Teixeira und F.J.M. Monteiro: *Biomimetic Composite Scaffold With Phosphoserine Signaling for Bone Tissue Engineering Application*; Frontiers in bioengineering and biotechnology, 7 S. 206, 2019
172. Reinstorf A., M. Ruhnnow, M. Gelinsky, W. Pompe, U. Hempel, K.-W. Wenzel und P. Simon: *Phosphoserine—a convenient compound for modification of calcium phosphate bone cement collagen composites*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 15 (4), S. 451-455, 2004
173. Mai R., R. Lux, P. Proff, G. Lauer, W. Pradel, H. Leonhardt, A. Reinstorf, M. Gelinsky, R. Jung und U. Eckelt: *O-phospho-L-serine: a modulator of bone healing in calcium-phosphate cements*; Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering, 53 (5), S. 229-233, 2008
174. Rühl D.G.R.: *Zur Calciumphosphatpräzipitation mit Phosphoserin, Fetuin, Osteocalcin, Kollagen und in Vesikeln*; 2011
175. Kirillova A., C. Kelly, N. von Windheim und K. Gall: *Bioinspired mineral-organic Bioresorbable bone adhesive*; Advanced healthcare materials, 7 (17), S. 1800467, 2018
176. Garigapati V.R., B.J. Hess und J. Ahola, *Tetra calcium phosphate based organophosphorus compositions and methods*; U.S. Patent No. 8,232,327 und 8,273,803; 2012
177. LaunchPadMedical. *Adhesive Solutions for Bone Repair*, Internetadresse; Verfügbar auf: <http://www.launchpadmedical.com/index.html>, 2019
178. Cochran D.L., A. Jones, R. Sugita, M.C. Brown, T. Guda, H. Prasad, J.L. Ong, A. Pollack und G.W. Kay: *Immediate Dental Implant Stabilization in a Canine Model Using a Novel Mineral-Organic Adhesive: 4-Month Results*; International Journal of Oral & Maxillofacial Implants, 35 (1), 2020
179. Geddes A.T., G.P. Thatcher, S. Hetzel, R.P. McCabe, R. Vandereby Jr und C.J. Snyder: *Biomechanical Testing of a Calcium Phosphate-Phosphoserine-Based Mineral-Organic Adhesive for Non-invasive Fracture Repair of Mandibular Fractures in Dogs*; Frontiers in Veterinary Science, 7, S. 59, 2020
180. Foley K.T., E.J. Woodard, J.R. Slotkin, C.K. Mayotte, A.C. Baldwin, M.C. Brown und B.J. Hess: *Cranial flap fixation in sheep using a resorbable bone adhesive*; Journal of Neurosurgery, 1 (aop), S. 1-9, 2020
181. Sugita R., A.A. Jones, G.A. Kotsakis und D.L. Cochran: *Radiographic evaluation of a novel bone adhesive for maintenance of crestal bone around*

- implants in canine oversized osteotomies*; Journal of periodontology, 93 (6), S. 924-932, 2022
182. Kesseli F.P., C.S. Lauer, I. Baker, K.A. Mirica und D.W. Van Citters: *Identification of a calcium phosphoserine coordination network in an adhesive organo-apatitic bone cement system*; Acta Biomater, 105 S. 280-289, 2020
183. Kirillova A., O. Nillissen, S. Liu, C. Kelly und K. Gall: *Reinforcement and Fatigue of a Bioinspired Mineral–Organic Bioresorbable Bone Adhesive*; Advanced Healthcare Materials, 10 (2), S. 2001058, 2021
184. Hesse M., H. Meier und B. Zeeh: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, 2005
185. Kesseli F.P., C.S. Lauer, I. Baker, K.A. Mirica und D.W. Van Citters: *Identification of a calcium phosphoserine coordination network in an adhesive organo-apatitic bone cement system*; Acta biomaterialia, 105, S. 280-289, 2020
186. Cochran D.L., A.A. Jones, R. Sugita, M.C. Brown, H. Prasad und G.W. Kay: *Twelve-month evaluation of a novel mineral–organic adhesive material used to stabilize dental implants placed in oversized osteotomies in vivo in an animal model*; Clinical oral implants research, 33 (4), S. 391-404, 2022
187. Habenicht G.: *Kleben: Grundlagen, Technologie, Anwendungen*, Springer Berlin Heidelberg, 2013
188. Felsenberg D.: *Struktur und Funktion des Knochens: Stützwerk aus Kollagen und Hydroxylapatit*; Pharmazie in unserer Zeit, 30 (6), S. 488-494, 2001
189. Fulmer M.T. und P.W. Brown: *Effects of Na₂HPO₄ and NaH₂PO₄ on hydroxyapatite formation*; Journal of Biomedical Materials Research, 27 (8), S. 1095-1102, 1993
190. Gbureck U. und R. Thull: *Mechanische und rheologische Eigenschaften mineralischer Knochenzemente*; BioNanoMaterials, 6 (4), S. 287-296, 2005
191. Liu C., W. Shen, Y. Gu und L. Hu: *Mechanism of the hardening process for a hydroxyapatite cement*; Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials, 35 (1), S. 75-80, 1997
192. Posset U., E. Löcklin, R. Thull und W. Kiefer: *Vibrational spectroscopic study of tetracalcium phosphate in pure polycrystalline form and as a constituent of a self-setting bone cement*; Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials, 40 (4), S. 640-645, 1998
193. El Briak H., D. Durand, J. Nurit, S. Munier, B. Pauvert und P. Boudeville: *Study of a hydraulic dicalcium phosphate dihydrate/calcium oxide-based cement for dental applications*; Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 63 (4), S. 447-453, 2002
194. Kouassi M., P. Michăilescu, A. Lacoste-Armynot und P. Boudeville: *Antibacterial effect of a hydraulic calcium phosphate cement for dental applications*; Journal of endodontics, 29 (2), S. 100-103, 2003
195. De Maeyer E.A., R.M. Verbeeck und C.W. Vercruyssen: *Conversion of octacalcium phosphate in calcium phosphate cements*; Journal of biomedical materials research, 52 (1), S. 95-106, 2000

196. Driessens F., E. De Maeyer, E. Fernández, M. Boltong, G. Berger, R. Verbeeck, M. Ginebra und J. Planell: *Amorphous calcium phosphate cements and their transformation into calcium deficient hydroxyapatite*; *Bioceramics*, 9, S. 231-234, 1996
197. Gbureck U., P. Rösch und R. Thull: *Einfluss von Aminosäuren auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften von Calcium-Phosphat-Zementen*; *BioNanoMaterials*, 7 (4), S. 271-277, 2006
198. Carrera E.-M., *Modification of calcium phosphate bioceramics with biologically active metal ions*; Dissertation, Universität Würzburg, 2015.
199. Mobika J., M. Rajkumar, V.N. Priya und S.L. Sibi: *Effect of chitosan reinforcement on properties of hydroxyapatite/silk fibroin composite for biomedical application*; *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 131 S. 114734, 2021
200. Zhang Y. und H.H. Xu: *Effects of synergistic reinforcement and absorbable fiber strength on hydroxyapatite bone cement*; *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 75 (4), S. 832-840, 2005
201. Boehm A.V., S. Meininger, A. Tesch, U. Gbureck und F.A. Müller: *The mechanical properties of biocompatible apatite bone cement reinforced with chemically activated carbon fibers*; *Materials*, 11 (2), S. 192, 2018
202. Gbureck U., J. Barralet, L. Grover, M. Hofmann und R. Thull: *Mechanische Festigkeit und Porosität von Calciumphosphat-Zementen*; *BioNanoMaterials*, 4 (4), S. 258-263, 2003
203. Krachtus D., J.C. Smith und P. Imhof: *Quantum mechanical/molecular mechanical analysis of the catalytic mechanism of phosphoserine phosphatase*; *Molecules*, 23 (12), S. 3342, 2018
204. Yamauchi O.: *I. Noncovalent interactions in biocomplexes*; *New-Generation Bioinorganic Complexes*, S. 1-40, 2016
205. Jastrzab R., M. Nowak, M. Zabiszak, A. Odani und M.T. Kaczmarek: *Significance and properties of the complex formation of phosphate and polyphosphate groups in particles present in living cells*; *Coordination Chemistry Reviews*, 435 S. 213810, 2021
206. Jastrzab R. und L. Lomozik: *Estimation of the Effectiveness of the Phosphate Group in Binary Phosphoserine/Biogenic Amine Systems in Aqueous Solution*; *Journal of solution chemistry*, 38 (8), S. 1005-1014, 2009
207. Glimcher M.J. und E.P. Katz: *The organization of collagen in bone: the role of noncovalent bonds in the relative insolubility of bone collagen*; *Journal of Ultrastructure Research*, 12 (5), S. 705-729, 1965
208. Ulfing N.: *Kurzlehrbuch Histologie*, Thieme, 2019
209. Bylund D.B. und T.-S. Huang: *Decomposition of phosphoserine and phosphothreonine during acid hydrolysis*; *Analytical Biochemistry*, 73 (2), S. 477-485, 1976
210. Allerton S.E. und G.E. Perlmann: *Chemical characterization of the phosphoprotein phosvitin*; *Journal of Biological Chemistry*, 240 (10), S. 3892-3898, 1965
211. Levene P. und A. Schormüller: *Serinephosphoric acid obtained on hydrolysis of vitellinic acid.*; *Journal of Biological Chemistry*, 103 (2), S. 537-542, 1933

212. Jastrzab R.: *Studies of new phosphothreonine complexes formed in binary and ternary systems including biogenic amines and copper (II)*; Journal of Coordination Chemistry, 66 (1), S. 98-113, 2013
213. Cohen-Solal L., J. Lian, D. Kossiva und M. Glimcher: *The identification of O-phosphothreonine in the soluble non-collagenous phosphoproteins of bone matrix*; FEBS letters, 89 (1), S. 107-110, 1978
214. Glimcher M.: *Recent studies of the mineral phase in bone and its possible linkage to the organic matrix by protein-bound phosphate bonds*; Philosophical transactions of the Royal Society of London. B, biological sciences, 304 (1121), S. 479-508, 1984
215. Lau K., J. Farley und D. Baylink: *Phosphotyrosyl-specific protein phosphatase activity of a bovine skeletal acid phosphatase isoenzyme. Comparison with the phosphotyrosyl protein phosphatase activity of skeletal alkaline phosphatase*; Journal of Biological Chemistry, 260 (8), S. 4653-4660, 1985
216. Lau K.-H.W. und D.J. Baylink: *Molecular Mechanism of Action of Fluoride on Bone Cells*; Journal of Bone and Mineral Research, 13 (11), S. 1660-1667, 1998
217. PUZAS J.E. und J.S. BRAND: *Bone cell phosphotyrosine phosphatase: Characterization and regulation by calcitropic hormones*; Endocrinology, 116 (6), S. 2463-2468, 1985
218. Yoon H.K., D.J. Baylink und K.-H.W. Lau: *Protein Tyrosine Kinase Inhibitors Block the Stimulatory Actions of Phosphotyrosine Phosphatase Inhibitors to Increase Cell Proliferation, Alkaline Phosphatase Activity, and Collagen Synthesis in Normal Human Bone Cells*; American journal of nephrology, 20 (2), S. 153-162, 2000
219. Spicer C.D., M. Pujari-Palmer, H. Autefage, G. Insley, P. Procter, H. Engqvist und M.M. Stevens: *Synthesis of Phospho-Amino Acid Analogues as Tissue Adhesive Cement Additives*; ACS central science, 6 (2), S. 226-231, 2020
220. Vorndran E., A. Ewald, F.A. Müller, K. Zorn, A. Kufner und U. Gbureck: *Formation and properties of magnesium–ammonium–phosphate hexahydrate biocements in the Ca–Mg–PO₄ system*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 22 (3), S. 429-436, 2011
221. Graf E. und J.W. Eaton: *Antioxidant functions of phytic acid*; Free Radical Biology and Medicine, 8 (1), S. 61-69, 1990
222. Brückner T., M. Meininger, J. Groll, A.C. Kübler und U. Gbureck: *Magnesium phosphate cement as mineral bone adhesive*; Materials, 12 (23), S. 3819, 2019
223. Walling S.A. und J.L. Provis: *Magnesia-based cements: a journey of 150 years, and cements for the future?*; Chemical reviews, 116 (7), S. 4170-4204, 2016
224. Ding G.-H., W. Xie, I.-H. Jung, Z.-Y. Qiao, G.-W. Du und Z.-M. Cao: *Thermodynamic assessment of the MgO-P₂O₅ and CaO-P₂O₅ systems*; Acta Physico-Chimica Sinica, 31 (10), S. 1853-1863, 2015
225. Ostrowski N., V. Sharma, A. Roy und P.N. Kumta: *Systematic assessment of synthesized tri-magnesium phosphate powders (amorphous, semi-crystalline and crystalline) and cements for ceramic bone cement applications*; Journal of Materials Science & Technology, 31 (5), S. 437-444, 2015
226. Tamimi F., D. Le Nihouannen, D.C. Bassett, S. Ibasco, U. Gbureck, J. Knowles, A. Wright, A. Flynn, S.V. Komarova und J.E. Barralet: *Biocompatibility of magnesium phosphate minerals and their stability under physiological conditions*; Acta biomaterialia, 7 (6), S. 2678-2685, 2011

227. Ostrowski N., B. Lee, D. Hong, P.N. Enick, A. Roy und P.N. Kumta: *Synthesis, osteoblast, and osteoclast viability of amorphous and crystalline tri-magnesium phosphate*; ACS Biomaterials Science & Engineering, 1 (1), S. 52-63, 2015
228. Suga T. und N. Okabe: *Aqua (LO-serine phosphato) calcium (II)*; Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications, 52 (8), S. 1894-1896, 1996
229. Mathew R., B. Stevansson und M. Edén: *Refined Structures of O-Phospho-l-serine and Its Calcium Salt by New Multinuclear Solid-State NMR Crystallography Methods*; J Phys Chem B, 125 (39), S. 10985-11004, 2021
230. Mathew R., M. Pujari-Palmer, H. Guo, Y. Yu, B. Stevansson, H. Engqvist und M. Edén: *Solid-state NMR rationalizes the bone-adhesive properties of serine- and phosphoserine-bearing calcium phosphate cements by unveiling their organic/inorganic interface*; The Journal of Physical Chemistry C, 124 (39), S. 21512-21531, 2020
231. Hansen W.: *Drying Shrinkage Mechanisms in Portland Cement Paste*; Journal of the American Ceramic Society, 70 (5), S. 323-328, 1987
232. Yang M. und H.M. Jennings: *Influences of mixing methods on the microstructure and rheological behavior of cement paste*; Advanced Cement Based Materials, 2 (2), S. 70-78, 1995
233. Aberg J., H. Brisby, H. Henriksson, A. Lindahl, P. Thomsen und H. Engqvist: *Premixed acidic calcium phosphate cement: characterization of strength and microstructure*; Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 93 (2), S. 436-441, 2010
234. Carey L.E., H.H. Xu, C.G. Simon Jr, S. Takagi und L.C. Chow: *Premixed rapid-setting calcium phosphate composites for bone repair*; Biomaterials, 26 (24), S. 5002-5014, 2005
235. Cox S.C., S. Patel, U. Gbureck, A.J. Wright und L.M. Grover: *A cohesive premixed monetite biocement*; Journal of the American Ceramic Society, 100 (3), S. 1241-1249, 2017
236. Han B., P.-W. Ma, L.-L. Zhang, Y.-J. Yin, K.-D. Yao, F.-J. Zhang, Y.-D. Zhang, X.-L. Li und W. Nie: *β -TCP/MCPM-based premixed calcium phosphate cements*; Acta biomaterialia, 5 (8), S. 3165-3177, 2009
237. Takagi S., L.C. Chow, S. Hirayama und A. Sugawara: *Premixed calcium-phosphate cement pastes*; Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 67B (2), S. 689-696, 2003
238. Xu H.H., L.E. Carey und C.G. Simon: *Premixed macroporous calcium phosphate cement scaffold*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 18 (7), S. 1345-1353, 2007
239. Xu H.H.K., L.E. Carey, C.G. Simon, S. Takagi und L.C. Chow: *Premixed calcium phosphate cements: Synthesis, physical properties, and cell cytotoxicity*; Dental Materials, 23 (4), S. 433-441, 2007
240. Bonfield W. und C. Li: *The temperature dependence of the deformation of bone*; Journal of biomechanics, 1 (4), S. 323-329, 1968
241. Lundskog J.: *Heat and bone tissue. An experimental investigation of the thermal properties of bone and threshold levels for thermal injury*; Scand J Plast Reconstr Surg, 9, S. 72-74, 1972
242. Matthews L.S. und C. Hirsch: *Temperatures measured in human cortical bone when drilling*; JBJS, 54 (2), S. 297-308, 1972

243. Li S., S. Chien und P.-I. Brånemark: *Heat shock-induced necrosis and apoptosis in osteoblasts*; Journal of Orthopaedic Research, 17 (6), S. 891-899, 1999
244. Lee G.-H., J.-D. Hwang, J.-Y. Choi, H.-J. Park, J.-Y. Cho, K.-W. Kim, H.-J. Chae und H.-R. Kim: *An acidic pH environment increases cell death and pro-inflammatory cytokine release in osteoblasts: the involvement of BAX inhibitor-1*; The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 43 (9), S. 1305-1317, 2011
245. Zhang Z., Q. Lai, Y. Li, C. Xu, X. Tang, J. Ci, S. Sun, B. Xu und Y. Li: *Acidic pH environment induces autophagy in osteoblasts*; Scientific reports, 7 (1), S. 1-9, 2017
246. Brandao-Burch A., J. Utting, I. Orriss und T. Arnett: *Acidosis inhibits bone formation by osteoblasts in vitro by preventing mineralization*; Calcified tissue international, 77 (3), S. 167-174, 2005
247. Vainio J., J. Kilpikari, P. Törmälä und P. Rokkanen: *Experimental fixation of bone cement and composite resins to bone*; Archives of orthopaedic and traumatic surgery, 94 (3), S. 191-195, 1979
248. Brauer G., J. Kumpula, D. Termini und K. Davidson: *Durability of the bond between bone and various 2-cyanoacrylates in an aqueous environment*; Journal of biomedical materials research, 13 (4), S. 593-606, 1979
249. Kilpikari J., M. Lapinsuo, P. Törmälä, H. Päätiälä und P. Rokkanen: *Bonding strength of alkyl-2-cyanoacrylates to bone in vitro*; Journal of biomedical materials research, 20 (8), S. 1095-1102, 1986
250. Maurer P., K. Bekes, C.R. Gernhardt, H.-G. Schaller und J. Schubert: *Tensile bond strength of different adhesive systems between bone and composite compared: an in vitro study*; Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 32 (2), S. 85-89, 2004
251. Chivers R. und R. Wolowacz: *The strength of adhesive-bonded tissue joints*; International journal of adhesion and adhesives, 17 (2), S. 127-132, 1997
252. Brauer D.S., E. Gentleman, D.F. Farrar, M.M. Stevens und R.G. Hill: *Benefits and drawbacks of zinc in glass ionomer bone cements*; Biomedical Materials, 6 (4), S. 045007, 2011
253. Hulsart-Billström G., C. Stelzl, P. Procter, M. Pujari-Palmer, G. Insley, H. Engqvist und S. Larsson: *In vivo safety assessment of a bio-inspired bone adhesive*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 31 (2), S. 1-10, 2020
254. Ishihara K. und N. Nakabayashi: *Adhesive bone cement both to bone and metals: 4-META in MMA initiated with tri-n-butyl borane*; Journal of biomedical materials research, 23 (12), S. 1475-1482, 1989
255. Ishihara K., J. Arai, N. Nakabayashi, S. Morita und K. Furuya: *Adhesive bone cement containing hydroxyapatite particle as bone compatible filler*; Journal of biomedical materials research, 26 (7), S. 937-945, 1992
256. Lewis G.: *Properties of acrylic bone cement: state of the art review*; Journal of biomedical materials research, 38 (2), S. 155-182, 1997
257. Benthien J., M. Russlies und P. Behrens: *Investigating the effects of bone cement, cyanoacrylate glue and marine mussel adhesive protein from Mytilus edulis on human osteoblasts and fibroblasts in vitro*; Annals of Anatomy- Anatomischer Anzeiger, 186 (5-6), S. 561-566, 2004

258. Ekelund A. und O. Nilsson: *Tissue adhesives inhibit experimental new bone formation*; International orthopaedics, 15 (4), S. 331-334, 1991
259. Papatheofanis F.J.: *Cytotoxicity of alkyl-2-cyanoacrylate adhesives*; Journal of biomedical materials research, 23 (6), S. 661-668, 1989
260. Hoffmann B., E. Volkmer, A. Kokott, P. Augat, M. Ohnmacht, N. Sedlmayr, M. Schieker, L. Claes, W. Mutschler und G. Ziegler: *Characterisation of a new bioadhesive system based on polysaccharides with the potential to be used as bone glue*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 20 (10), S. 2001-2009, 2009
261. Sun C., G.E. Fantner, J. Adams, P.K. Hansma und J.H. Waite: *The role of calcium and magnesium in the concrete tubes of the sandcastle worm*; Journal of Experimental Biology, 210 (8), S. 1481-1488, 2007
262. Shao H. und R.J. Stewart: *Biomimetic underwater adhesives with environmentally triggered setting mechanisms*; Advanced materials, 22 (6), S. 729-733, 2010
263. Zhao H., C. Sun, R.J. Stewart und J.H. Waite: *Cement proteins of the tube-building polychaete Phragmatopoma californica*; Journal of Biological Chemistry, 280 (52), S. 42938-42944, 2005
264. Winslow B.D., H. Shao, R.J. Stewart und P.A. Tresco: *Biocompatibility of adhesive complex coacervates modeled after the sandcastle glue of Phragmatopoma californica for craniofacial reconstruction*; Biomaterials, 31 (36), S. 9373-9381, 2010
265. Liu X., M. Pujari-Palmer, D. Wenner, P. Procter, G. Insley und H. Engqvist: *Adhesive cements that bond soft tissue ex vivo*; Materials, 12 (15), S. 2473, 2019
266. Pujari-Palmer M., H. Guo, D. Wenner, H. Autefage, C.D. Spicer, M.M. Stevens, O. Omar, P. Thomsen, M. Edén und G. Insley: *A novel class of injectable bioceramics that glue tissues and biomaterials*; Materials, 11 (12), S. 2492, 2018
267. Procter P., M. Pujari-Palmer, G. Hulsart-Billström, D. Wenner, G. Insley, S. Larsson und H. Engqvist: *A biomechanical test model for evaluating osseous and osteochondral tissue adhesives*; BMC Biomedical Engineering, 1 (1), S. 11, 2019
268. Sanmartin de Almeida M., G.V.d.O. Fernandes, A.M. de Oliveira und J.M. Granjeiro: *Calcium silicate as a graft material for bone fractures: a systematic review*; Journal of International Medical Research, 46 (7), S. 2537-2548, 2018
269. Procter P., G. Hulsart Billström, A. Alves, M. Pujari-Palmer, D. Wenner, G. Insley, H. Engqvist und S. Larsson: *Gluing living bone using a biomimetic bioadhesive: from initial cut to final healing*; Frontiers in bioengineering and biotechnology, S. 936, 2021
270. Buglyó P., T. Kiss, M. Dyba, M. Jezowska-Bojczuk, H. Kozłowski und S. Bouhsina: *Complexes of aminophosphonates—10. Copper (II) complexes of phosphonic derivatives of iminodiacetate and nitrilotriacetate*; Polyhedron, 16 (19), S. 3447-3454, 1997
271. de Moraes Silva A., A.L.R. Mercê, A.S. Mangrich, C.A.T. Souto und J. Felcman: *Potentiometric and spectroscopic study of mixed copper (II) complexes with amino acids and either adenosine 5' triphosphate or phosphocreatine*; Polyhedron, 25 (6), S. 1319-1326, 2006

272. Stanila A., A. Marcu, D. Rusu, M. Rusu und L. David: *Spectroscopic studies of some copper (II) complexes with amino acids*; Journal of Molecular Structure, 834 S. 364-368, 2007
273. Kampf G., M.S. Lüth, L.E. Kapinos, J. Müller, A. Holý, B. Lippert und H. Sigel: *Formation of Ternary Complexes by Coordination of (Diethylenetriamine) Platinum (II) to N1 or N7 of the Adenine Moiety of the Antiviral Nucleotide Analogue 9-[2-(Phosphonomethoxy) ethyl] adenine (PMEA): Comparison of the Acid-Base and Metal-Ion-Binding Properties of PMEA, (Dien) Pt (PMEA-N1), and (Dien) Pt (PMEA-N7)*; Chemistry-A European Journal, 7 (9), S. 1899-1908, 2001
274. Klammert U., A. Ignatius, U. Wolfram, T. Reuther und U. Gbureck: *In vivo degradation of low temperature calcium and magnesium phosphate ceramics in a heterotopic model*; Acta biomaterialia, 7 (9), S. 3469-3475, 2011
275. Kanter B., M. Geffers, A. Ignatius und U. Gbureck: *Control of in vivo mineral bone cement degradation*; Acta biomaterialia, 10 (7), S. 3279-3287, 2014
276. Flautre B., J. Lemaitre, C. Maynou, P. Van Landuyt und P. Hardouin: *Influence of polymeric additives on the biological properties of brushite cements: an experimental study in rabbit*; Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 66 (2), S. 214-223, 2003
277. Jia J., H. Zhou, J. Wei, X. Jiang, H. Hua, F. Chen, S. Wei, J.-W. Shin und C. Liu: *Development of magnesium calcium phosphate biocement for bone regeneration*; Journal of the Royal Society Interface, 7 (49), S. 1171-1180, 2010
278. Zeng D., L. Xia, W. Zhang, H. Huang, B. Wei, Q. Huang, J. Wei, C. Liu und X. Jiang: *Maxillary sinus floor elevation using a tissue-engineered bone with calcium-magnesium phosphate cement and bone marrow stromal cells in rabbits*; Tissue Engineering Part A, 18 (7-8), S. 870-881, 2012
279. Takagi S., L.C. Chow, S. Hirayama und A. Sugawara: *Premixed calcium-phosphate cement pastes*; Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of the Society for Biomaterials, the Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 67 (2), S. 689-696, 2003
280. Cherg A., S. Takagi und L. Chow: *Effects of hydroxypropyl methylcellulose and other gelling agents on the handling properties of calcium phosphate cement*; Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials, 35 (3), S. 273-277, 1997
281. Ishikawa K., Y. Miyamoto, M. Kon, M. Nagayama und K. Asaoka: *Non-decay type fast-setting calcium phosphate cement: composite with sodium alginate*; Biomaterials, 16 (7), S. 527-532, 1995
282. Takagi S., L.C. Chow, S. Hirayama und F.C. Eichmiller: *Properties of elastomeric calcium phosphate cement-chitosan composites*; Dental materials, 19 (8), S. 797-804, 2003
283. Bohner M.: *Design of ceramic-based cements and putties for bone graft substitution*; Eur Cell Mater, 20 (1), S. 3-10, 2010

284. Bohner M., H. Tiainen, P. Michel und N. Döbelin: *Design of an inorganic dual-paste apatite cement using cation exchange*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 26 (2), S. 1-13, 2015
285. LeMaitre J., C. Pittet und D. Brendlen, *Pasty or liquid multiple constituent compositions for injectable calcium phosphate cements*; U.S. Patent No. 7,407,542; 2008
286. Luo J., H. Engqvist und C. Persson: *A ready-to-use acidic, brushite-forming calcium phosphate cement*; Acta Biomaterialia, 81 S. 304-314, 2018
287. Dorozhkin S.V.: *Self-setting calcium orthophosphate formulations*; Journal of functional biomaterials, 4 (4), S. 209-311, 2013
288. Maazouz Y., E.B. Montufar, J. Malbert, M. Espanol und M.-P. Ginebra: *Self-hardening and thermoresponsive alpha tricalcium phosphate/pluronic pastes*; Acta biomaterialia, 49 S. 563-574, 2017
289. Dumortier G., J.L. Grossiord, F. Agnely und J.C. Chaumeil: *A review of poloxamer 407 pharmaceutical and pharmacological characteristics*; Pharmaceutical research, 23 (12), S. 2709-2728, 2006
290. Le Ray A.-M., H. Gautier, J.-M. Bouler, P. Weiss und C. Merle: *A new technological procedure using sucrose as porogen compound to manufacture porous biphasic calcium phosphate ceramics of appropriate micro-and macrostructure*; Ceramics International, 36 (1), S. 93-101, 2010
291. Shimazaki K. und V. Mooney: *Comparative study of porous hydroxyapatite and tricalcium phosphate as bone substitute*; Journal of orthopaedic research, 3 (3), S. 301-310, 1985
292. Lodoso-Torrecilla I., J.J. van den Beucken und J.A. Jansen: *Calcium phosphate cements: Optimization toward biodegradability*; Acta biomaterialia, 119 S. 1-12, 2021
293. Markovic M., S. Takagi und L.C. Chow: *Formation of macropores in calcium phosphate cements through the use of mannitol crystals*; International Symposium on Ceramic Materials and Components for Engines, 2001
294. Takagi S. und L.C. Chow: *Formation of macropores in calcium phosphate cement implants*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 12 (2), S. 135-139, 2001
295. Del Real R., E. Ooms, J. Wolke, M. Vallet-Regi und J. Jansen: *In vivo bone response to porous calcium phosphate cement*; Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 65 (1), S. 30-36, 2003
296. Del Real R., J. Wolke, M. Vallet-Regi und J. Jansen: *A new method to produce macropores in calcium phosphate cements*; Biomaterials, 23 (17), S. 3673-3680, 2002
297. Ginebra M.P., J.A. Delgado, I. Harr, A. Almirall, S. Del Valle und J.A. Planell: *Factors affecting the structure and properties of an injectable self-setting calcium phosphate foam*; Journal of Biomedical Materials Research Part A, 80 (2), S. 351-361, 2007
298. Xu H.H., M.D. Weir, E.F. Burguera und A.M. Fraser: *Injectable and macroporous calcium phosphate cement scaffold*; Biomaterials, 27 (24), S. 4279-4287, 2006

299. Liao H., X.F. Walboomers, W.J. Habraken, Z. Zhang, Y. Li, D.W. Grijpma, A.G. Mikos, J.G. Wolke und J.A. Jansen: *Injectable calcium phosphate cement with PLGA, gelatin and PTMC microspheres in a rabbit femoral defect*; *Acta biomaterialia*, 7 (4), S. 1752-1759, 2011
300. Heyes C.D., J. Groll, M. Möller und G.U. Nienhaus: *Synthesis, patterning and applications of star-shaped poly (ethylene glycol) biofunctionalized surfaces*; *Molecular BioSystems*, 3 (6), S. 419-430, 2007
301. Götz H., U. Beginn, C.F. Bartelink, H.J. Grünbauer und M. Möller: *Preparation of isophorone diisocyanate terminated star polyethers*; *Macromolecular Materials and Engineering*, 287 (4), S. 223-230, 2002
302. Abi-Gerges A. und R. Fischmeister: *Ion Channels: New Tools to Track Cyclic Nucleotide Changes in Living Cells*; *Encyclopedia of Biophysics*, Springer, 2013
303. Wistlich L., *NCO-sP (EO-stat-PO) as functional additive for biomaterials' development*; Dissertation, Universität Würzburg, 2019
304. Neuerburg C., S. Recknagel, J. Fiedler, J. Groll, M. Moeller, K. Bruellhoff, H. Reichel, A. Ignatius und R.E. Brenner: *Ultrathin sP (EO-stat-PO) hydrogel coatings are biocompatible and preserve functionality of surface bound growth factors in vivo*; *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24 (10), S. 2417-2427, 2013

Abkürzungsverzeichnis

I Abkürzungsverzeichnis

ADHP	Ammoniumdihydrogenphosphat
α -TCP	α -Tricalciumphosphat
β -TCP	β -Tricalciumphosphat
BMP	Bone morphogenic protein
BSA	Bovines Serumalbumin
CaP	Calciumphosphat
CCM	Caustic calcined Magnesia/ Kaustisch gebranntes Magnesia
CPC	Calciumphosphatzement
CQ	Campherchinon
DAHP	Diammoniumhydrogenphosphat
DKHP	Dikaliumhydrogenphosphat
DNHP	Dinatriumhydrogenphosphat
DOPA	Dihydroxyphenylalanin
EFM	Electro-fused Magnesia/ Elektrisch geschmolzenes Magnesia
DCPA	Dicalciumhydrogenphosphat
DCPD	Dicalciumhydrogenphosphatdihydrat
GRF	Gelatine-Resorcinol-Formaldehyd
HA	Hydroxylapatit
IPN	Interpenetrierendes Polymernetzwerk
KDHP	Kaliumdihydrogenphosphat
MgO	Magnesiumoxid/ Magnesia
MgP	Magnesiumphosphat
MPC	Magnesiumphosphatzement
NDHP	Natriumdihydrogenphosphat
OCN	Osteocalcin
OCP	Octacalciumphosphat
OPLS	O-Phospho-L-serin
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCPC	Präfabrizierte Calciumphosphatzemente

Abkürzungsverzeichnis

PEG	Poly(ethylenglykol)
PEGDMA	Poly(ethylenglykol)dimethacrylat
PEO	Poly(ethylenoxid)
pH	Negativ-dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PLGA	Poly(lactid-co-glycolid)
PLR	Pulver-Flüssigkeits-Verhältnis
PMC	Phosphoserin-modifizierte Calciumphosphate
PMMA	Polymethylmethacrylat
PTH	Parathormon
RANK	Receptor activator of nuclear factor κ B
RANKL	Receptor activator of nuclear factor κ B - Ligand
REM	Rasterelektronenmikroskop
SPEG	Sternförmiges Molekül NCO-sP(EO- <i>stat</i> -PO)
TCP	Tricalciumphosphat
TMPA	Trimagnesiumphosphat-Anhydrat, Farringtonit
TMPO	Trimagnesiumphosphat-Octahydrat, Bobierit
TTCP	Tetracalciumphosphat

Abbildungsverzeichnis

II Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Strukturformel von Phytinsäure.
- Abbildung 2: Strukturformel von sechsarmigem NCO-sP(EO-stat-PO).
- Abbildung 3: Strukturformel von Poly(ethylenglykol)dimethacrylat.
- Abbildung 4: Strukturformel von O-Phospho-L-Serin.
- Abbildung 5: Beispiele für Brüche innerhalb der HA-Prüfkörper bei Testungen der Scherfestigkeit der Klebezemente.
- Abbildung 6: Verklebte Knochenprüfkörper für die Prüfung der Klebefestigkeit (links) und Darstellung der Injektionsfähigkeit der verwendeten Pasten (rechts).
- Abbildung 7: Zementquader (A) und Prüfaufbau zur Messung der Druckfestigkeit (B).
- Abbildung 8: Aufbau der Prüfvorrichtung des Scherversuches.
- Abbildung 9: Platin-besputterte HA-Prüfkörper mit Klebefugenrückständen.
- Abbildung 10: Druckfestigkeiten der Klebezementkompositionen (1)-(6):
- Abbildung 11: Vergleich der Druckfestigkeiten zwischen OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O trocken gelagert bei 37 °C (nicht schraffiert) und OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27) eingebettet in eine Glycerinmatrix und ausgehärtet unter Wasserdampf bei 37 °C (schraffiert). Die Messungen erfolgten nach 24
- Abbildung 12: Klebefestigkeiten der Klebezementkompositionen (1)-(6):
- Rot: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(291)/ H_2O
 - Blau: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O
 - Gelb: OPLS/ MgO(2835)/ H_2O
 - Grün: OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H_2O
 - Violett: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O
 - Grau: OPLS/ TTCP/ H_2O (Referenz)
- Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d. Mit „*“ markierte Messungen konnten nicht realisiert werden.
- Abbildung 13: Vergleich der Klebefestigkeiten zwischen:
- A) OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O
(nicht schraffiert; trocken ausgehärtet),
 - B) OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O mit 20 % dreiarmigem NCO-sP(EO-stat-PO)
(gerade schraffiert; trocken ausgehärtet),
 - C) OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27) mit 20 % dreiarmigem NCO-sP(EO-stat-PO)
(schräg schraffiert; unter 100 % Luftfeuchtigkeit ausgehärtet).
- Die Messungen erfolgten nach 24
- Abbildung 14: Beispiele charakteristischer Versagensmuster im Vergleich. Grau/Links: Spröder Bruch bei Referenz-Komposition (6) mit abruptem Materialversagen ohne plastische Deformation. Blau/Rechts: Duktiler Bruch bei Komposition (2) mit plastischer Deformation.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 15: FTIR-Spektren (Transmissionsspektren) der jeweiligen Zementkompositionen (inkl. FTIR der Edukte) im Wellenbereich von 680 bis 4000 cm^{-1} .
Grau: Zementkomposition; Dunkelgrün: OPLS; Blau: MgO(291), MgO(27), MgO(2835); Olive: TTCP; Orange: Farringtonit; Rosa: $\text{Mg}_3\text{O}_8\text{P}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.); Cyan: Glycerol
A: Spektrum von Komposition (1): OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / MgO(291)/ H_2O
B: Spektrum von Komposition (2) OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O
C: Spektrum von Komposition (3) OPLS/ MgO(2835)/ H_2O
D: Spektrum von Komposition (4) OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H_2O
E: Spektrum von Komposition (5) OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.)/ H_2O
F: Spektrum von Komposition (6): OPLS/ TTCP/ H_2O .
- Abbildung 16: FTIR-Spektrum (Transmissionsspektrum) der modifizierten Zementkomposition (2) (OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / MgO(27)/ Glycerol; gehärtet unter 100% Luftfeuchtigkeit) (inkl. FTIR der Edukte) im Wellenbereich von 680 bis 4000 cm^{-1} .
- Abbildung 17: Diffraktogramme von:
A) MgO (2835) (blau), MgO (27) (rot) und MgO (291) (grau)
B) OPLS/ MgO(2835)/ H_2O (Komp. (3)) (rot), OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H_2O (Komp. (4)) (grau) und den Komponenten MgO (2835) (grün) und MgO (27)(blau).
- Abbildung 18: Diffraktogramme von OPLS/ MgO(291)/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / H_2O (Komp. (1) (schwarz), OPLS/ MgO(27)/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ / H_2O (Komp. (2) (rot) und deren Komponente $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ (blau) („m“: Magnesiumoxid).
- Abbildung 19: Diffraktogramm von OPLS/ TTCP/ H_2O (Komp. (6)) (grau) und dessen Komponente TTCP (rot) („*“: $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$, $(4\text{CaO} \cdot \text{P}_2\text{O}_5)$; „o“: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$).
- Abbildung 20: Diffraktogramm von $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ vor (grau) und nach Wärmebehandlung (rot) („pp“: Pyrophosphat; „m“: Magnesium-oxid).
- Abbildung 21: Diffraktogramme von:
A) wärmebehandeltem $\text{Mg}_3\text{O}_8\text{P}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (blau) im Vergleich zu wärmebehandeltem $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 22\text{H}_2\text{O}$ (grau)
B) OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.)/ H_2O (Komp. (5)) (grau) im Vergleich zu seiner Komponente $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.) (blau) (B) („pp“: Pyrophosphat; „m“: Magnesiumoxid).
- Abbildung 22: pH-Werte im zeitlichen Verlauf während der Abbindereaktion.
- Abbildung 23: Gewichtsverlust [Gew.%] von Komposition (5) (OPLS/ $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (wärmebeh.)/ H_2O) und Komposition (6) (OPLS/ TTCP/ H_2O) durch Lagerung in PBS im zeitlichen Verlauf von 10 Tagen.
- Abbildung 24: Beispiel einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme (computergrafisch angefärbt) einer abgesicherten Klebefuge auf einem Hydroxylapatit-Prüfkörper nach Testung der Klebefestigkeit.
Rot: Abgesicherte Klebefuge (K); Grün: Überstand der Klebefuge ohne mechanische Testung (*); Blau: Hydroxylapatit-Prüfkörper bearbeitet mit Korn P 80 (HA) in 25-facher Vergrößerung.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 25: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus:
- (A)-(C): Komposition (1) (OPLS/ MgO(291)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) in 25-facher (A), 50-facher (B) und 500-facher (C) Vergrößerung.
- (D)-(F): Komposition (2) (OPLS/ MgO(27)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) in 25-facher (D), 50-facher (E) und 500-facher (F) Vergrößerung.
Die Klebungen befinden sich auf einem HA-Prüfkörper nach Versagen im Abscherversuch. Die Verwendung von Knochen im REM war wegen möglicher Schäden durch Restfeuchtigkeit nicht zulässig Die Rohbilder wurden zur besseren Orientierung computergrafisch eingefärbt.
- Rot: Abgescherte Klebeverbindung.
- Grün: Überstand der Klebeverbindung ohne mechanische Prüfung.
- Blau: Hydroxylapatit-Prüfkörper, bearbeitet mit Körnung P 80.
- Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (3) (OPLS/ MgO(2835)/ H₂O) in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.
- Abbildung 27: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus:
- (A)-(C): aus Komposition (5) (OPLS/ Mg₃(PO₄)₂·xH₂O (wärmebeh.)/ H₂O) in 25-facher (A), 50-facher (B) und 500-facher (C) Vergrößerung.
- (D)-(F): Komposition (6) (OPLS/ TTCP H₂O) in 25-facher (D), 50-facher (E) und 500-facher (F) Vergrößerung.
Die Klebungen befinden sich auf einem HA-Prüfkörper nach Versagen im Abscherversuch. Die Verwendung von Knochen im REM war wegen möglicher Schäden durch Restfeuchtigkeit nicht zulässig Die Rohbilder wurden zur besseren Orientierung computergrafisch eingefärbt.
- Rot: Abgescherte Klebeverbindung.
- Grün: Überstand der Klebeverbindung ohne mechanische Prüfung.
- Blau: Hydroxylapatit-Prüfkörper, bearbeitet mit Körnung P 80.
- Abbildung 28: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus der Glycerin-modifizierten Komposition (2) (OPLS/ MgO(2835)/ Glycerin) in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.
- Abbildung 29: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ MgO(27)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) mit 10% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.
- Abbildung 30: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ MgO(27)/ Mg₃(PO₄)₂/ H₂O) mit 25% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.
- Abbildung 31: Denkbare Konfigurationen für koordinative Bindungen von Phososerin mit Mg²⁺:
A) Koordinative Bindungen zwischen Mg²⁺ und Amino- bzw. Carboxylgruppen.
B) Koordinative Bindungen zwischen Mg²⁺ und Phosphorylgruppen.
- Abbildung 32: Chemische Strukturformeln alternativer Moleküle für koordinative Bindungen zu Mg²⁺.
A) Phosphothreonin.
B) Phosphotyrosin.

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 33: *Schematische Darstellung (inhaltlich nach Glimcher^[214]) wie Phosphorsäureester die organische Knochenmatrix und die anorganischen mineralischen Kristalle im Knochen verbinden.*
- Abbildung 34: *Abbildung von dreiarmigem NCO-sP(EO-stat-PO)^[300].*
- Abbildung 35: *Druckfestigkeiten [MPa] der Klebezementkompositionen (1)-(6) (entspr. (A)-(F)):*
- A: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂/ MgO(291)/ H₂O
 - B: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂/ MgO(27)/ H₂O
 - C: OPLS/ MgO(2835)/ H₂O
 - D: OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H₂O
 - E: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂·xH₂O (wärmebeh.)/ H₂O
 - F: OPLS/ TTCP/ H₂O (Referenz)
- Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d.*
- Abbildung 36: *Klebefestigkeiten [MPa] der Klebezementkompositionen (1),(2) und (4)-(6) (entspr. (A)-(E)):*
- A: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂/ MgO(291)/ H₂O
 - B: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂/ MgO(27)/ H₂O
 - C: OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H₂O
 - D: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂·xH₂O (wärmebeh.)/ H₂O
 - E: OPLS/ TTCP/ H₂O (Referenz)
- Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d.*
- Abbildung 37: *Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus Komposition (4) (OPLS/ MgO(27)/ MgO(2835)/ H₂O) in 25-facher (A), 50-facher (B) und 500-facher (C) Vergrößerung auf einem HA-Prüfkörper nach Versagen im Abscherversuch.*
- Abbildung 38: *Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ MgO(2835)/ H₂O) mit 15% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.*
- Abbildung 39: *Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ MgO(2835)/ H₂O) mit 20% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.*
- Abbildung 40: *Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/ MgO(2835)/ H₂O) mit 30% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B), 500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.*

III Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: CaP-Verbindungen und ihre entsprechenden chemischen Formeln^[85, 93, 94].*
- Tabelle 2: MgP-Verbindungen und ihre entsprechenden chemischen Formeln^[116].*
- Tabelle 3: Zusammensetzung der zehnfach konzentrierten Stammlösung phosphatgepufferter Salzlösung (PBS).*
- Tabelle 4: Überblick über die verwendeten Rohpulver im Zuge der Zementsynthesen.*
- Tabelle 5: Übersicht über die verwendeten Magnesiumoxide hinsichtlich Calcinierung, Partikelgröße und Reaktivität.*
- Tabelle 6: Geeignete Kompositionen, welche mechanischen Testungen an Knochen, sowie Analysen des Abbindeverhaltens und weiterführenden Analysen unterzogen wurden.*
- Tabelle 7: Schema zur Modifikation von Komposition (2) mit Mannit-Porogen.*
- Tabelle 8: Relativer Mannit-Anteil in Gew.-% an der Trockenmasse von Komposition (2) [OPLS 255 mg, Mg₃(PO₄)₂ 205 mg, MgO(27) 130 mg, Mannit x mg] in aufsteigender Reihe. Entsprechend Anteil an H₂O gemäß einer PLR von 3,93 g/ml, sowie die Auswirkung auf die Aushärtezeit.*
- Tabelle 9: Verwendete Referenzmuster nach der ICDD-Datenbank PDF-2 (1996).*
- Tabelle 10: Gewichtsverlust in % von Referenz-Komposition (6) (OPLS/ TTCP/ H₂O) durch Lagerung in PBS im zeitlichen Verlauf von 10 Tagen.*
- Tabelle 11: Gewichtsverlust in % von Komposition (5) (OPLS/ Mg₃(PO₄)₂·xH₂O (wärmebeh.)/ H₂O) durch Lagerung in PBS im zeitlichen Verlauf von 10 Tagen.*

IV Anhang

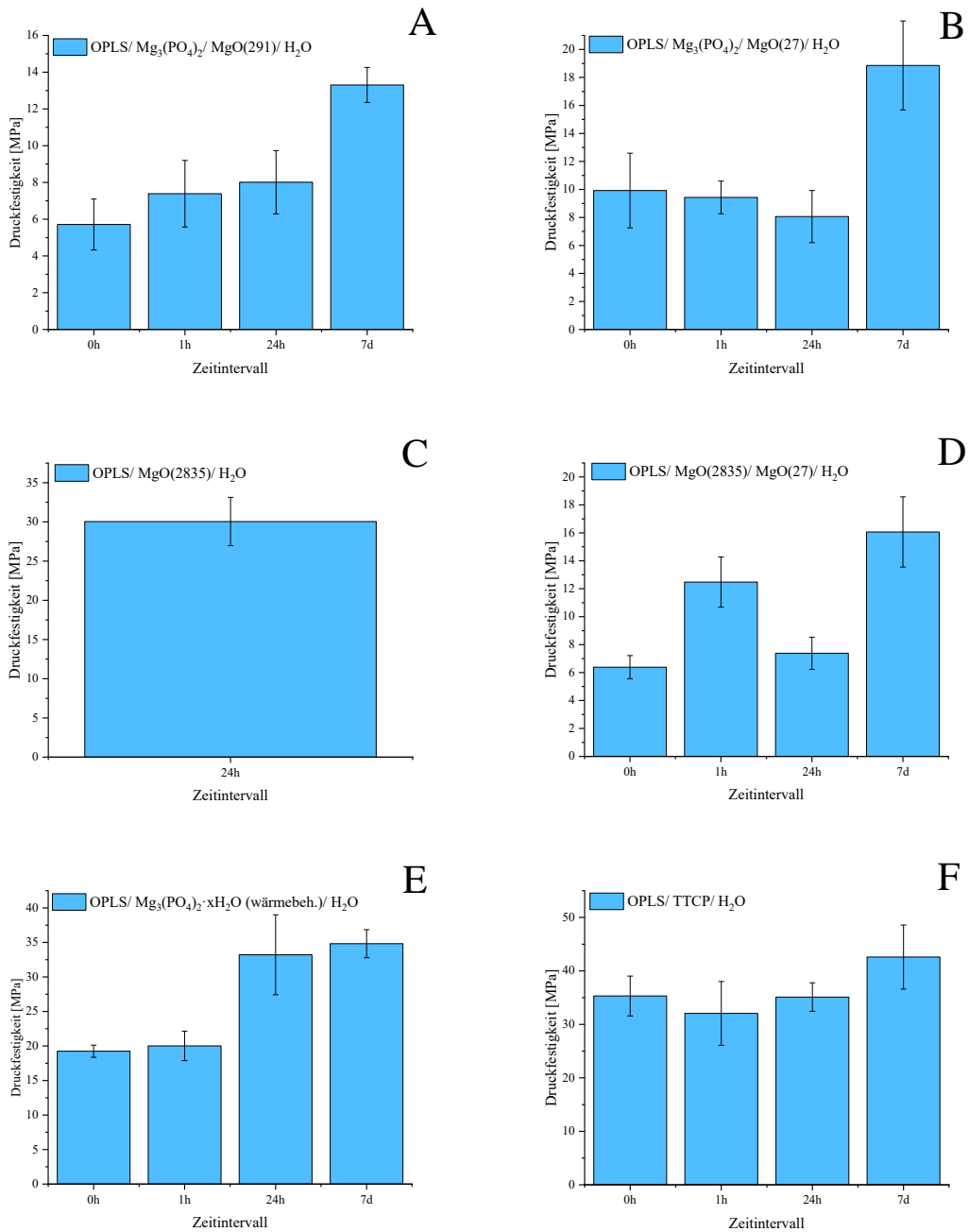


Abbildung 35: Druckfestigkeiten [MPa] der Klebezementkompositionen (1)-(6) (entspr. (A)-(F)):

- A: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂/ MgO(291)/ H₂O
- B: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂/ MgO(27)/ H₂O
- C: OPLS/ MgO(2835)/ H₂O
- D: OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H₂O
- E: OPLS/ Mg₃(PO₄)₂·xH₂O (wärmebeh.)/ H₂O
- F: OPLS/ TTCP/ H₂O (Referenz)

Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d.

Anhang

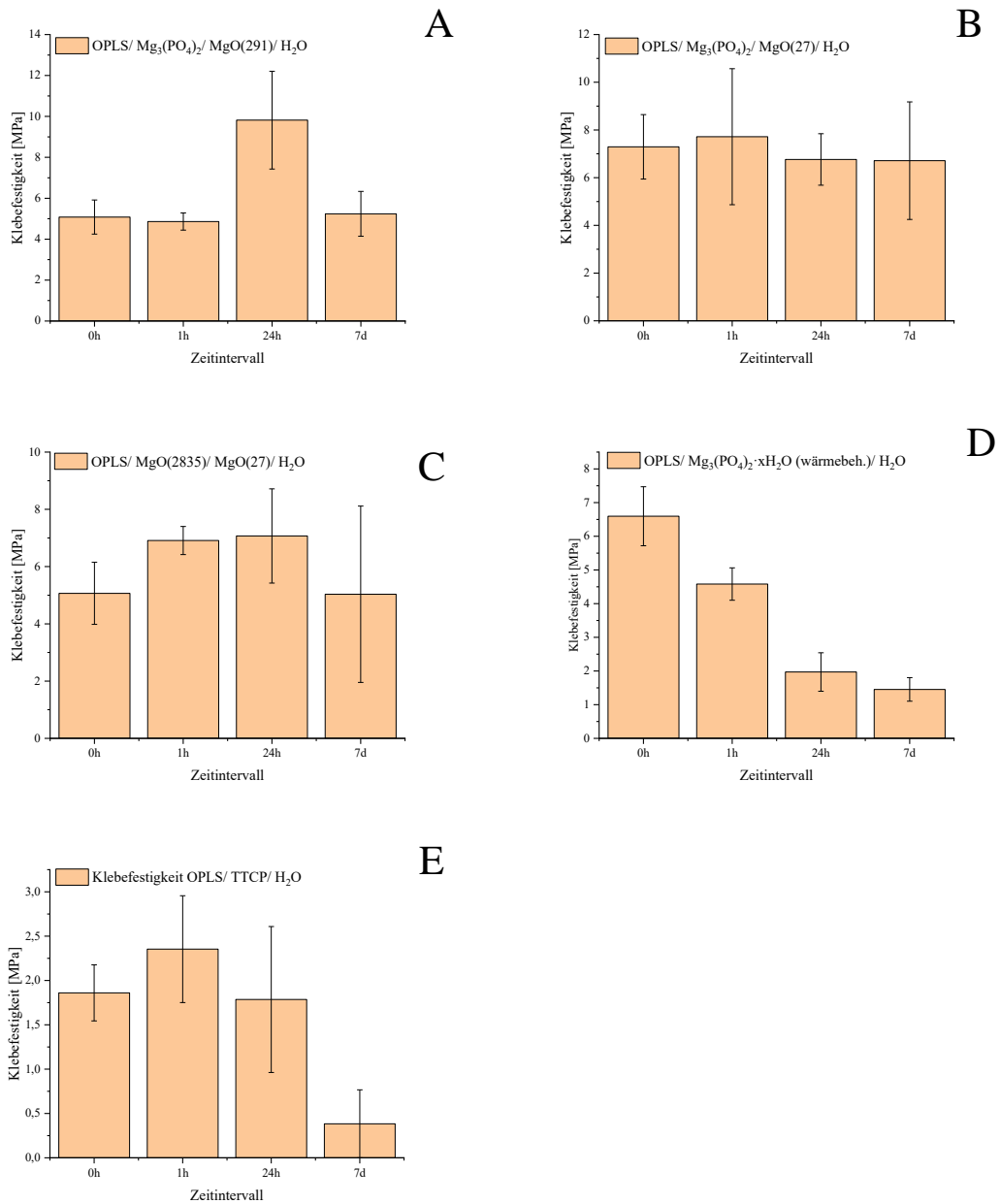


Abbildung 36: Klebefestigkeiten [MPa] der Klebezementkompositionen (1),(2) und (4)-(6) (entspr. (A)-(E)):

- A: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(291)/ H_2O
- B: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2$ / MgO(27)/ H_2O
- C: OPLS/ MgO(2835)/ MgO(27)/ H_2O
- D: OPLS/ $Mg_3(PO_4)_2 \cdot xH_2O$ (wärmebeh.)/ H_2O
- E: OPLS/ TTCP/ H_2O (Referenz)

Die Messungen erfolgten initial (0 h) und nach Lagerung bei 37 °C nach 1 h, 24 h und 7 d.

Anhang

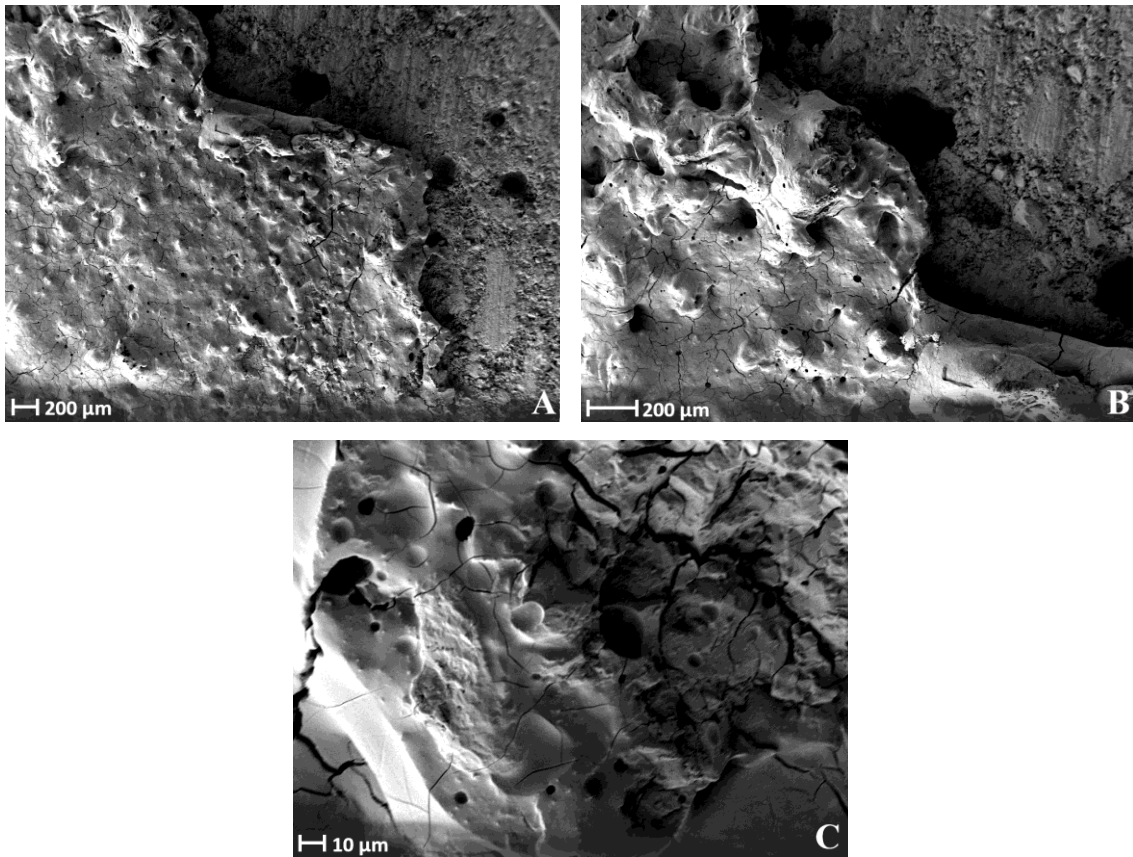
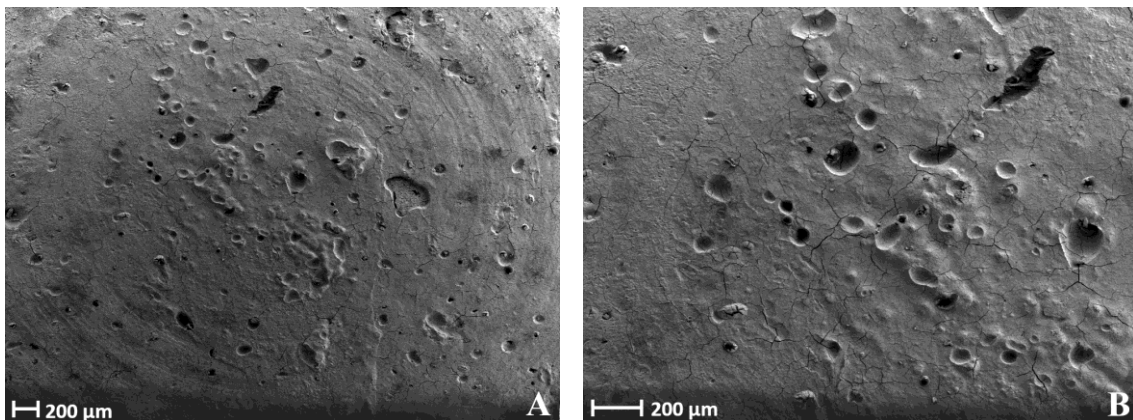


Abbildung 37: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus Komposition (4) (OPLS/ MgO(27)/ MgO(2835)/ H₂O) in 25-facher (A), 50-facher (B) und 500-facher (C) Vergrößerung auf einem HA-Prüfkörper nach Versagen im Abscherversuch.



Anhang

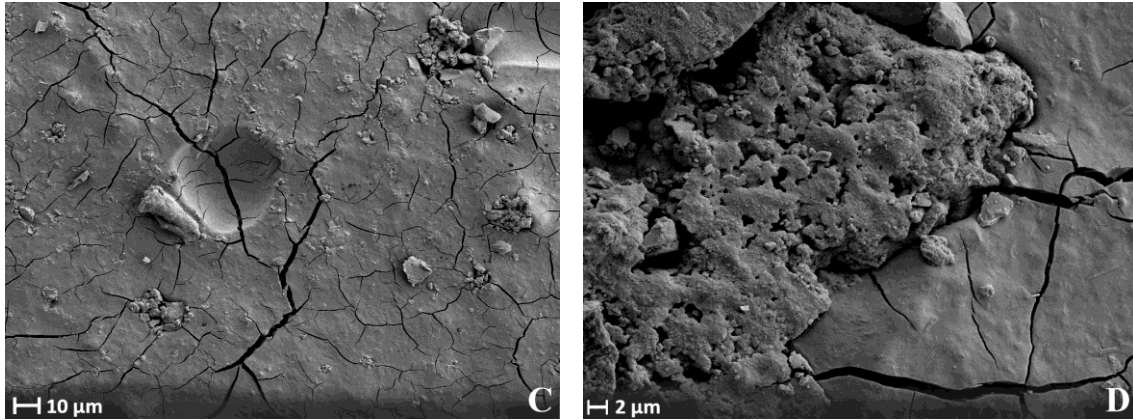


Abbildung 38: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/
MgO(2835)/ H₂O) mit 15% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B),
500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

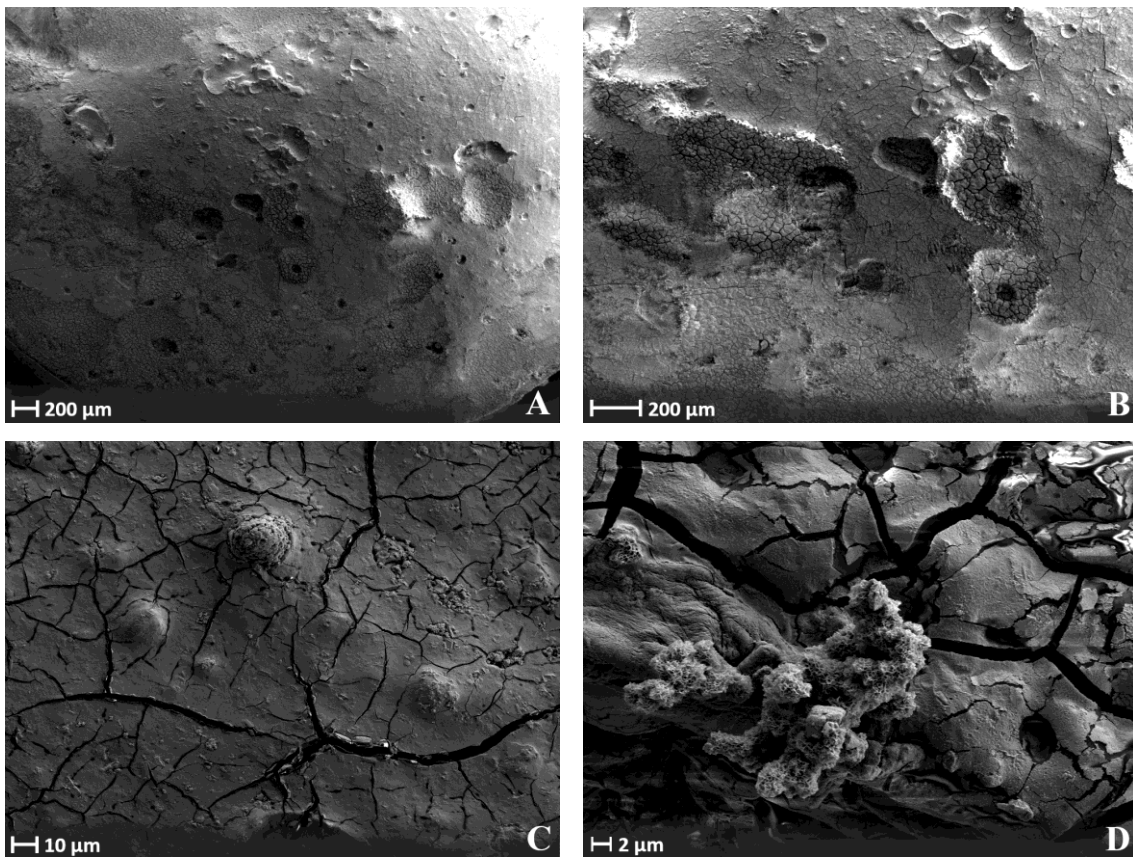


Abbildung 39: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/
MgO(2835)/ H₂O) mit 20% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B),
500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

Anhang

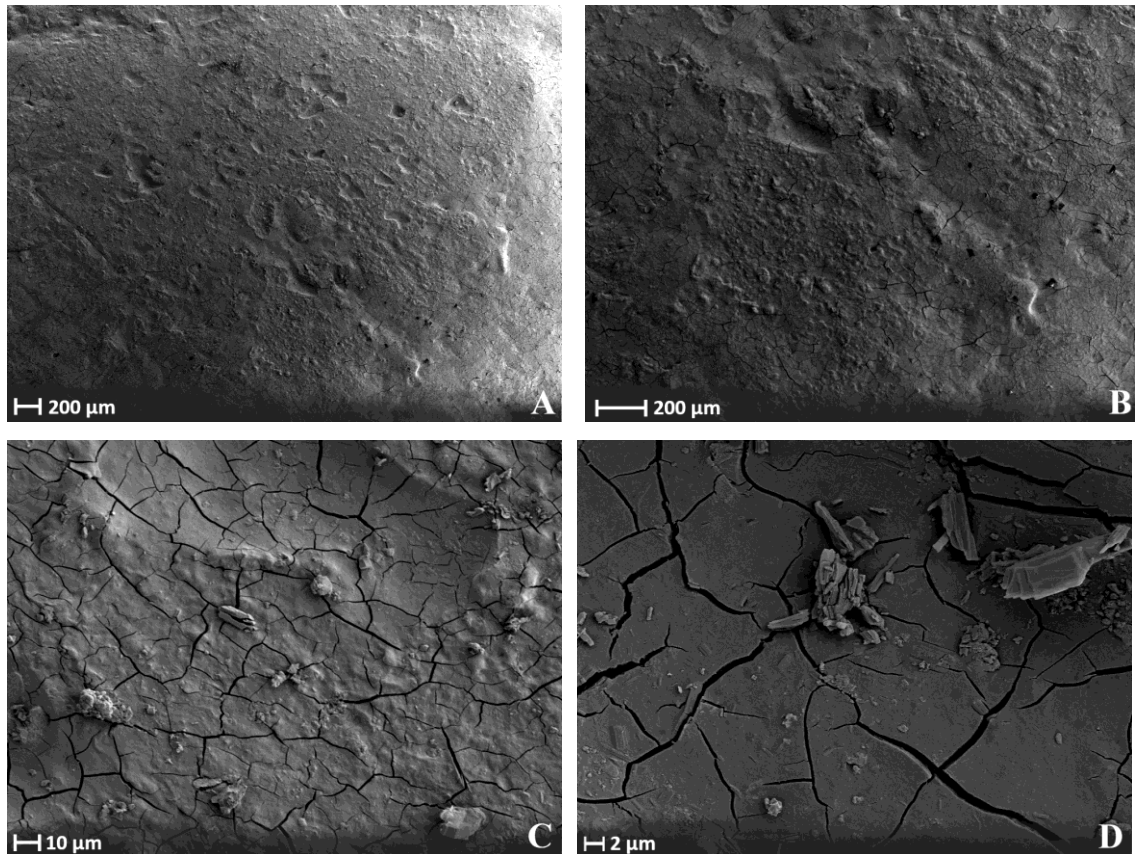


Abbildung 40: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen eines Prüfkörpers aus Komposition (2) (OPLS/
MgO(2835)/H₂O) mit 30% Mannit-Anteil an der Trockenmasse in 25-facher (A), 50-facher (B),
500-facher (C) und 2000-facher (D) Vergrößerung.

V Danksagung

Ich möchte mich zu Beginn und vor allem bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Uwe Gbureck bedanken. Dabei möchte ich neben der einzigartigen Betreuung und Zugänglichkeit vor allem die zahlreichen konstruktiven Anregungen und Ideen honorieren. Insbesondere für die eigenen Ideen der Doktoranden gab es stets ein offenes Ohr. Dies führte dazu, dass ich meinen Forschungsbemühungen stets ausgesprochen gerne nachgegangen bin.

Prof. Dr. Dr. A. C. Kübler möchte ich an dieser Stelle recht herzlich für die Übernahme des Korreferates danken. Ich danke Herrn Prof. Dr. Dr. A. C. Kübler nochmals ausdrücklich sowie zusätzlich Dr. habil. Jörg Teßmar für die Beteiligung am Betreuungskomitee.

Ein herzlicher Dank gilt generell den Mitarbeitern des Institutes für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnmedizin. Hierbei danke ich im Speziellen Friederike Kaiser, Jan Weichhold und Isabell Biermann, die ein besonderes Interesse an meinen Forschungen zeigten und mit guten Ideen zum Gelingen beitrugen. Paul Otto möchte ich ebenfalls für das Interesse und das intensive Auseinandersetzen mit meiner Arbeit danken sowie dafür, dass er Teilergebnisse bei der „Bioceramics 2022“ in Venedig mit Auszeichnung präsentierte.

Für den angeregten Informationsaustausch und den Einschluss der hier vorgestellten Werkstoffe in weitere unfallchirurgische Forschungsarbeiten danke ich Dr. Philipp Heilig und Prof. Dr. Stefanie Hölscher-Doht aus der Klinik für Unfall-, Hand-, Plastischen und Wiederherstellungschirurgie des Universitätsklinikums Würzburg.

Ich danke außerdem der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Finanzierung meiner Doktorarbeit.

Abschließend möchte ich ausdrücklich meiner Familie Danke sagen. Vielen Dank für die Geduld, die Zusprüche und die Unterstützung während der beiden Studien und Dissertationen.

VI Eigene Veröffentlichungen und Kongressteilnahme

- Renner T., P. Otto, A.C. Kübler, S. Hölscher-Doht und U. Gbureck: Novel adhesive mineral-organic bone cements based on phosphoserine and magnesium phosphates or oxides; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2023.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10856-023-06714-6>
(*Wissenschaftliches Journal*)
- Renner T., S. Mittmann, P. Otto und U. Gbureck: Novel mineral-organic bone adhesive compositions and adhesive strength evaluation through hydroxyapatite cement based biomimetic in-vitro test system; präsentiert auf: „Bioceramics“, Venedig, 2022.
(*Kongress, Poster Session. Bepreist mit dem „best poster award“*)
- Renner T.: In vitro testing methods for the qualification of bone glues; Dissertation, Universität Würzburg, 2018.
(*Dissertation*)