

Aus der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde
der Universität Würzburg
Vorstand: Prof. Dr. Dr. R. Thull

**Dotierung von Tetracalciumphosphat mit biokompatiblen Additiven
zur Steigerung der mechanischen Festigkeit
von Calciumphosphat-Knochenzement**

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

Katharina Ritschel
aus Erbach/ Odenwald

Würzburg, Juni 2006

Referent: Prof. Dr. Dr. R. Thull

Koreferent : Prof. Dr. Dr. J. Reuther

Dekan: Prof. Dr. Georg Ertl

Tag der mündlichen Prüfung :

Die Promovendin ist Zahnärztin

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	1
2. KENNTNISSTAND	3
2.1. Hydroxylapatit als Biomaterial	3
2.2. Calciumphosphate	3
2.2.1 Dicalciumphosphat Anhydrid (Monetit)	4
2.2.2 Dicalciumphosphatdihydrat (Bruschit)	5
Tricalciumphosphate	6
2.2.4 Tetracalciumphosphat	6
2.3. Löslichkeit der Calciumphosphate	8
2.3.1 Apatitbildende CPC	10
2.3.2 Bruschitbildende CPC	11
2.4. Eigenschaften von Calciumphosphatzementen	12
2.4.1 Abbindezeit und mechanische Festigkeit	12
2.4.2 Rheologische Eigenschaften von CPC	13
2.4.3 Biologische Eigenschaften von apatit- und bruschitbildenden CPC	14
3. MATERIAL UND METHODE	16
3.1. Synthese und Mahlung von Calciumphosphaten	16
3.1.1 Herstellung der Basismischung aus DCPA und Calciumcarbonat	16
3.1.2 Metalloxidzusätze	17
3.1.3 Nassmahlung von Dicalciumphosphatanhydrid	18
3.1.4. Synthese der Calciumphosphatzemente	18
3.2. Partikelgrößenanalyse	18
3.3. Verhalten von CPC in wässriger und in physiologischer Umgebung	19

3.4.	Initiale Abbindezeit	20
3.5.	Mechanische Festigkeit von Calciumphosphat-Zementen	21
3.6.	Röntgendiffraktometrische Untersuchung von Reaktionsverläufen	23
3.7.	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung von Prüfkörpern	24
4.	ERGEBNISSE	25
4.1.	Synthese von Tetracalciumphosphat	25
4.1.1	Partikelgrößenanalyse	25
4.1.2	Phasenzusammensetzung TTCP	25
4.2.	Protolysegrad von CPC- Paste und in physiologischer Umgebung	27
4.2.1	Einfluss unterschiedlicher Metalloxid-Zusätze auf den pH-Wert	28
4.2.2	Einfluss unterschiedlicher prozentualer Zusätze von TiO ₂ auf das Verhalten des Protolysegrades	29
4.2.3	Auswirkungen eines unterschiedlichen CC-Anteils auf das Verhalten des pH-Wertes	30
4.2.4	Einfluss von Natriumphosphat auf das Verhalten des Protolysegrades	32
4.2.5	Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz der Metalloxide	33
4.3.	Initiale Abbindezeiten von Calciumphosphat-Zementen	34
4.3.1	Einfluss unterschiedlicher Metalloxide auf die initiale Abbindezeit	35
4.3.2	Einfluss unterschiedlicher prozentualer TiO ₂ - Zusätze auf die initiale Abbindezeit	36
4.3.3	Auswirkungen eines unterschiedlichen CC-Anteils auf die initiale Abbindezeit	36
4.3.4	Einfluss von Natriumphosphat auf die initiale Abbindezeit	37
4.3.5	Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz der Metalloxide zur TTCP-Basisimischung auf die initiale Abbindezeit	38
4.4.	Mechanische Festigkeit von Calciumphosphat-Zementen	38

4.4.1	Einfluss unterschiedlicher Metalloxide auf die mechanische Festigkeit	39
4.4.2	Einfluss unterschiedlicher prozentualer Zusätze von TiO_2 auf die mechanische Festigkeit bei im CC-Anteil nicht reduzierten Zementformulierungen	39
4.4.3	Einfluss unterschiedlicher prozentualer Zusätze von TiO_2 auf die mechanische Festigkeit bei im CC-Anteil reduzierten Zementformulierungen	41
4.4.4	Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz der Metalloxide auf die mechanische Festigkeiten bei unterschiedlichem PL-Verhältnis	42
4.5.	Phasenzusammensetzung nach Aushärtung	42
5.	DISKUSSION	44
6.	ZUSAMMENFASSUNG	51
7.	LITERATURVERZEICHNIS	52

Abkürzungsverzeichnis

α -TCP	α -Tricalciumphosphat
β -TCP	β -Tricalciumphosphat
CaP	Calciumphosphat
CC	Calciumcarbonat
CS	Druckfestigkeit
CT	Kohäsionszeit
CPC	Calciumphosphat-Zemente
DCPA	Calciumhydrogenphosphat (Monetit)
DCPD	Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (Bruschit)
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DTS	Diametrale Zugfestigkeit
FAP	Fluorapatit
GFC	Wachstumsfaktorzement
GS	Gentamycinsulfat
HA	Hydroxylapatit
LP	Löslichkeitsprodukte
MCPA	Monocalciumphosphat Anhydrid
MCPM	Monocalciumphosphat Monohydrat
MO ₂	Metalloxid
MPa	Megapascal
OCP	Octacalciumphosphat
P/L	Pulver/Lösungsmittel
PMMA	Polymethylmethacrylat
SE	Sekundärelektronen
SiO ₂	Siliciumoxid
ST	Setting Time (Abbindezeit)
TG	Thermogravimetrie
TiO ₂	Titandioxid
TTCP	Tetracalciumphosphat
ZrO ₂	Zirkonoxid

1. Einleitung und Problemstellung

Zur Versorgung von Knochendefekten, die aus Traumata, Tumoren oder entzündlichen Prozessen resultieren, werden neben autologen Transplantaten körpereigener Hartschubstanz auch Implantationen mit künstlichen Werkstoffen durchgeführt. In Bezug auf künstliche Werkstoffe ist der Stand der Technik der Einsatz von Calciumphosphaten im nicht kraftbelasteten Bereich des Viscerocraniums [1]. Zur Anwendung gelangen hierbei Hydroxylapatit- oder Tricalciumphosphat als Pulver, Granulat, gesinterte Formkörper oder in situ härtende Zementformulierungen (CPC). Nachteile von Pulvern und Granulaten bestehen in der geringen mechanischen Stabilität des Werkstoffes am Anwendungsort, da die Partikel nur durch Adhäsionskräfte bzw. koagulierende Gewebeflüssigkeit wie z.B. Blut vernetzt sind. Mechanisch stabilen Sinterkörpern fehlt dagegen die freie Formbarkeit des Werkstoffes am Knochendefekt. CPC verbinden Vorteile der Gewebeverträglichkeit, der freien Formbarkeit und der mechanischen Stabilität und binden am Anwendungsort zu Hydroxylapatit (HA) oder Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (DCPD, Brushit) mit geringer Kristallinität ab. CPC wurden 1950 erstmals von *Kingery* erwähnt und 1982 von *LeGeros* weiter untersucht. Beide beschrieben ihre Verwendung für orthopädische und zahnmedizinische Zwecke. Seit der Entwicklung des ersten in situ abbindenden Calciumphosphat-Zementes (CPC) im Jahre 1987 durch *Brown* und *Chow* [2, 3], bestehend aus einer äquimolaren Mischung von Tetracalciumphosphat (TTCP) und wasserfreiem Calciumhydrogenphosphat Monetit (DCPA) bzw. dem entsprechenden Dihydrat Brushit (DCPD), wurde eine Reihe verschiedener Zusammensetzungen auf ihre Eignung als Knochenersatzwerkstoffe hin untersucht [4]. Die Biokompatibilität von Calciumphosphat-Zementen (CPC) ist im Allgemeinen gegenüber Hart- und Weichgeweben als sehr gut einzustufen.

CPC können nach Art des Abbindeprodukts klassifiziert werden: bei einem pH Wert der Zementpaste im neutralen oder basischen Bereich werden apatitbildende und bei einem pH Wert < 4,2 bruschitbildende Zemente erhalten. CPC sind für die Knochenreproduktion hoch attraktiv, da sie in situ frei formbar

und durch minimalinvasive chirurgische Techniken einsetzbar sind. CPC sind durch zellulären Umbau oder durch Auflösung resorbierbar. Diese Tatsache hat das rasche Anwachsen von Knochengewebe ohne Volumenverlust und ohne die Bildung fibrillären Bindegewebes zur Folge. Weiterhin kann mit CPC in Pastenform eine mikroskopisch gute Anpassung an Knochendefektflächen erreicht werden. Daneben konnte im Tierversuch [5-8] die Eignung für verschiedene Anwendungsorte nachgewiesen werden, für die mit anderen Werkstoffen z.B. Polymethylmethacrylat (PMMA), keine zufriedenstellenden Ergebnisse erbracht werden konnten.

Klinische Anforderungen an CPC sind vornehmlich eine definierte Abbindezeit und -zeit sowie ausreichende mechanische Stabilität auch in funktionell nicht belasteten Defektbereichen, um das unter dem Implantat liegende Weichgewebe vor äußerer Kraftereinwirkung zu schützen. Problematisch erweist sich oftmals die hohe spezifische Oberfläche der Reaktanden mit Partikelgrößen im μm -Bereich, die anfällig für Kontamination durch den Herstellungsprozess ist. Dies führt zu Änderungen der Löslichkeit und Reaktivität der Partikel, die sich in verlängerten Abbindezeiten und geringerer mechanischer Belastbarkeit manifestieren. Gegenstand der vorliegenden Arbeit waren die Abbinde- und mechanischen Eigenschaften einer Zementmatrix aus basischem Tetracalciumphosphat (TTCP) und saurem Calciumhydrogenphosphat (DCPA), die nach Zugabe eines wässrigen Elektrolyten zu Hydroxylapatit abbindet zu untersuchen. Um die Abbindezeit im physiologischen pH-Bereich von 7-8 zu halten, ist eine Einstellung der Korngröße von DCPA auf ca. 1-2 μm und von TTCP auf 10-15 μm notwendig. Ziel war es, durch Dotierung der Zementkomponente TTCP mit den biokompatiblen Zusätzen Siliciumoxid (SiO_2), Titanoxid (TiO_2) sowie Zirkonoxid (ZrO_2) die mechanischen Eigenschaften des Zements zu verbessern, ohne andere Parameter wie Abbindezeit oder pH-Wert der Zementpaste wesentlich zu beeinflussen. Der Zusatz der Additive erfolgte vor dem Sintervorgang nass oder trocken zur Ausgangsmischung. Die so synthetisierten Zemente wurden bezüglich ihrer anwendungsrelevanten Parameter wie Abbindezeit, pH-Wert während der Abbindezeit, mechanische Festigkeit und Phasenzusammensetzung der Reaktionsprodukte untersucht.

2. Kenntnisstand

2.1. Hydroxylapatit als Biomaterial

Der Einsatz von Calciumphosphaten (CaP) beruht auf der Idee, einen Werkstoff zu verwenden, der in seiner mineralischen Phase eine ähnliche chemische Zusammensetzung aufweist, wie die Stützgewebe des menschlichen Körpers. Etwa 60-70% des Knochens und 98% des Zahnschmelzes bestehen aus Hydroxylapatit ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) bzw. hiervon abgeleiteten Calciumphosphaten [9].

In physiologischer Umgebung ist Hydroxylapatit das am wenigsten lösliche Calciumphosphat, was seine Gegenwart in Knochen- und Zahnmaterialien erklärt. Aufgrund der ähnlichen chemischen Zusammensetzung zur anorganischen Phase des Knochens, finden Calciumphosphate häufig Anwendung als biokompatible Knochenersatzmaterialien. CaP zum medizinischen Gebrauch werden entweder aus natürlichen Ausgangsstoffen wie Knochen oder Korallen hergestellt, um eine poröse Struktur für ein rasches Knochenwachstum zu gewährleisten oder eine andere Methode zur CaP-Herstellung ist das Sintern synthetischer Pulvermischungen aus Calcium und Phosphat, welche häufig mit einem Porogen versetzt sind. Trotz ihrer ausgezeichneten Biokompatibilität weisen gesinterte Hydroxylapatite Kristallgrößen im Mikrometerbereich auf, welche die Resorption der Werkstoffe durch Osteoklasten und den Umbau zu Knochen durch Osteoblasten verhindern.

Der klinische Einsatz von HA im Bereich der maxillofacialen Chirurgie ist hauptsächlich auf eine bindegewebsfreie Kontaktzone, hohe Osteokonduktivität, freie Formbarkeit und mechanische Stabilität zurückzuführen. So wird HA z.B. zur Rekonstruktion der Gehörknöchelchenkette [10] oder zum Auffüllen von Knochendefekten in der regenerativen Parodontalchirurgie [11] angewandt.

2.2. Calciumphosphate

In Tabelle 1 werden die wichtigsten Calciumphosphat-Verbindungen in der Reihenfolge ihres zunehmenden molaren Ca/P-Verhältnisses und basischen

Charakters aufgeführt. Alle Verbindungen gehören mit Ausnahme von Fluorapatit (FAP) dem Dreistoffsystem $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ an [12]. FAP ist von Interesse, da die mineralischen Bestandteile des biologischen Hartgewebes aus verunreinigten Hydroxylapatit- bzw. Fluorapatit-Feststoff-Lösungen bestehen.

Tabelle 1: Löslichkeitsprodukte (LP) verschiedener Calciumphosphate[12]

Verbindung	Summenformel	Ca/P	log (LP) bei 37°C
Monocalciumphosphatanhydrid(MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	löslich
Dicalciumphosphatdihydrat (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	6,59
Dicalciumphosphatanhydrid (DCPA)	CaHPO_4	1,0	6,90
Octacalciumphosphat (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6$	1,33	96,6
α -Tricalciumphosphat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	25,5
β -Tricalciumphosphat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	28,9
Hydroxylapatit (OHAp)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,67	58,4
Fluorapatit (FAP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_3\text{F}$	1,67	60,5
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	–

Grundlage der Chemie von CPC ist die unterschiedliche Löslichkeit der Zementreaktanden und dem jeweiligen Abbindeprodukt. Der Reaktionsmechanismus ist jeweils ein Lösungs-/Präzipitationsprozess analog der Abbindereaktion von Calciumsulfat Hemihydrat (Gips). Die Herstellung und die Chemie der verschiedenen Calciumorthophosphate sind in der Literatur beschrieben [12-14]. Typische Syntheseschritte von CPC beinhalten Sinterung, Fällung aus wässriger Lösung und Mahlverfahren, um phasenfreie, reine Materialien mit definierten Partikelgrößenverteilungen zu erhalten. Für die Knochenzementsynthese kommen die unterschiedlichsten Calciumphosphate zur Anwendung. Im Folgenden werden Eigenschaften häufig genutzter Komponenten, wie z.B. ihr Verhalten in Gegenwart von Wasser sowie Darstellungsmöglichkeiten beschrieben.

2.2.1 Dicalciumphosphat Anhydrid (Monetit)

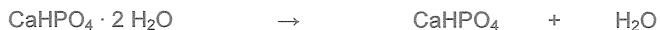
Dicalciumphosphat Anhydrid (DCPA) findet in der Medizin Verwendung als

Ausgangsmaterial zur Synthese von Calciumphosphat-Zementen. Trotz seiner höheren Stabilität im Gegensatz zu Brushit ist DCPA nicht im Endoskelett nachweisbar. Der Grund hierfür ist möglicherweise in der geringeren Kristallwachstumsrate im Vergleich zu Brushit zu suchen [15]. Zur Darstellung werden zu einer Kaliumhydrogenphosphat-Lösung bei einer Temperatur von 100°C und einen pH-Wert von 4-5 innerhalb von drei Stunden gleichzeitig zwei wässrige Lösungen aus Dinatriumhydrogen-/Kaliumdihydrogenphosphat und Calciumchlorid/ Kaliumdihydrogenphosphat zu gegeben [16]. Das Anhydrid DCPA lässt sich ebenfalls über die thermische Dehydratation von Calciumhydrogenphosphat Dihydrat bei 180°C gewinnen [17]. Wird das Anhydrid DCPA hydrolysiert, erhält man das Dihydrat Brushit.

2.2.2 Dicalciumphosphatdihydrat (Brushit)

Im Gegensatz zu Monetit kann Dicalciumphosphatdihydrat (DCPD) als Bestandteil des Endoskeletts nachgewiesen werden. Des Weiteren ist DCPD als Zwischenprodukt bei der Bildung von Hydroxylapatit aus amorphem Calciumphosphat bekannt [18, 19]. Die Methode zur Herstellung von DCPD entspricht der Herstellung von Monetit, allerdings muss die Fällungsreaktion bei Raumtemperatur durchgeführt werden und es können auch Ammoniumphosphate als Reaktionspartner genutzt werden [20].

Nach MCPA und MCPM ist DCPD die instabilste Form der Calciumphosphate [21]. DCPD hat ein Löslichkeitsprodukt von $2,386 \times 10^{-7} \text{ mol}^2 / \text{l}^2$ bei 37°C. Wird DCPD hydrolysiert, wird es über mehrere Zwischenprodukte zum schwer löslichen Hydroxylapatit umgewandelt [22, 23]. In einem pH-Bereich von 6,2-7,4 hat allerdings die Umsetzung mit Wasser die Bildung von Octacalciumphosphat zur Folge. Der Grund ist vermutlich die niedrigere Kristallbildungsrate von Hydroxylapatit [24]. Bei 180°C führen thermische Reaktionen zur Dehydratation, während es ab 350°C zur Bildung von Calciumpyrophosphat kommt.



Tricalciumphosphate

α -TCP, β -TCP und Whitlockit werden zu den Tricalciumphosphaten mit einem CA/P-Verhältnis von 1,5 gerechnet [25]. Whitlockit und β -TCP stellen röntgendiffraktometrisch identische Verbindungen dar. Unterschiede bestehen in der Einlagerung von bis zu 15 % Magnesiumionen in das Kristallgitter. β -TCP kann bei einer Temperatur von 1125°C in die Hochtemperatur-Modifikation α -TCP umgewandelt werden [26].

Da sich β -TCP nicht in wässrigen Systemen bildet, erfolgt die Herstellung thermisch durch Sintern. Gesintert werden DCPA/Calciumcarbonat-Mischungen im Verhältnis 2:1. Die Umwandlung in β -TCP erfolgt bei Temperaturen von 1000°C innerhalb von 24h [27].



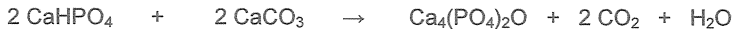
Aus ungenügender Reaktionsstöchiometrie resultierende Verunreinigungen des Produkts bestehend aus Hydroxylapatit bzw. Calciumpyrophosphat können durch Zugabe von Calciumoxid bzw. DCPA und anschließender Nachsinterung bei 1000°C in Phasenreines β -TCP umgewandelt werden. Die Synthese von α -TCP ist durch Erhitzen von β -TCPs auf eine Temperatur von 1200-1400°C möglich [28]. Das Löslichkeitsprodukt von β -TCP beträgt bei 25°C $1,2 \times 10^{-29} \text{ mol}^5/\text{l}^5$. Werden Magnesiumionen in das Kristallgitter eingebaut, wird die Löslichkeit signifikant reduziert.

α -TCP kann in wässriger Umgebung zu Mischungen von DCPA, DCPD, OCP bzw. calciumarmem Hydroxylapatit in Abhängigkeit der Reaktionsbedingungen hydrolysiert werden. In Gegenwart von Natriumacetatlösung reagiert α -TCP zu Octacalciumphosphat (OCP). Die Verwendung von Natrium- oder Ammoniumdicarboxylaten führt bei Hydrolyse zur Substitution von HPO_4^{2-} durch das Dicarboxylat-Anion [29, 30].

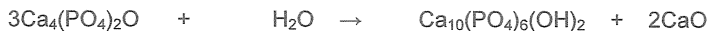
2.2.4 Tetracalciumphosphat

TTCP wird bei einer Reihe von Knochenzementformulierungen als basische

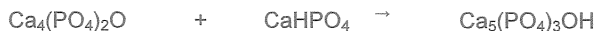
Komponente verwendet. Es ist das einzige Calciumphosphat mit einem größeren Ca/P-Verhältnis als Hydroxylapatit. TTCP bildet sich in dem Zwei-Phasen-System CaO-P₂O₅ nur bei höheren Temperaturen in Abwesenheit von Wasser [31]. TTCP wird im technischen Maßstab durch die Reaktion von Phosphor, Sauerstoff und Calciumphosphat bei der Eisenherstellung durch das *Thomas-Verfahren* gebildet [32]. Dagegen erfolgt die Synthese von TTCP für Knochenersatzwerkstoffe vornehmlich durch die Festkörperreaktion von Calciumcarbonat und Dicalciumphosphatanhydrid in äquimolarer Mischung bei Temperaturen über 1300°C. Besonders wichtig bei dieser Reaktion ist das schnelle Abkühlen des Sinterkörpers, um eine Umwandlung von TTCP in Tricalciumphosphat bzw. Hydroxylapatit zu verhindern [33].



Sowohl die Abkühlung, als auch die Lagerung von TTCP müssen in wasserfreier Atmosphäre erfolgen, da der Einfluss von Wasser zur Zersetzung des Calciumphosphats in Hydroxylapatit und stark basisches Calciumoxid führt [34, 35].



TTCP ist Bestandteil einer Vielzahl von Zementformulierungen. Beispielsweise bildet sich aus einer äquimolaren Mischung mit Monetit oder Bruschit in wässriger Lösung Hydroxylapatit im physiologischen pH-Wert-Bereich. Dabei wird die Reaktion wesentlich von der geringeren Löslichkeit von Hydroxylapatit im genannten pH-Wert-Bereich bestimmt.



2.3. Löslichkeit der Calciumphosphate

Die Löslichkeit der Calciumphosphate variiert in Abhängigkeit verschiedener Parameter, wie etwa dem pH-Wert der Lösung, um mehrere Größenordnungen. Thermodynamisch wird die Löslichkeit einer Verbindung über das Löslichkeitsprodukt beschrieben:

$$LP(\text{OHAp}) = \cdot (\text{Ca})^5 (\text{PO}_4)^3 (\text{OH})$$

Für das Dreistoff-System $\text{Ca}(\text{OH})_2 - \text{H}_3\text{PO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ können die in Tabelle 1 aufgeführten Löslichkeitsprodukte zur Erstellung von Löslichkeitsdiagrammen verwendet werden. In Abbildung 1 sind die berechneten Isothermen verschiedener Calciumphosphate bei 37°C zu finden. Die Löslichkeit der Verbindungen steigt mit abnehmendem pH-Wert. Diese Tatsache zeigt sich deutlich durch die negative Steigung der Isothermen im neutralen und sauren Bereich (pH-Wert 7).

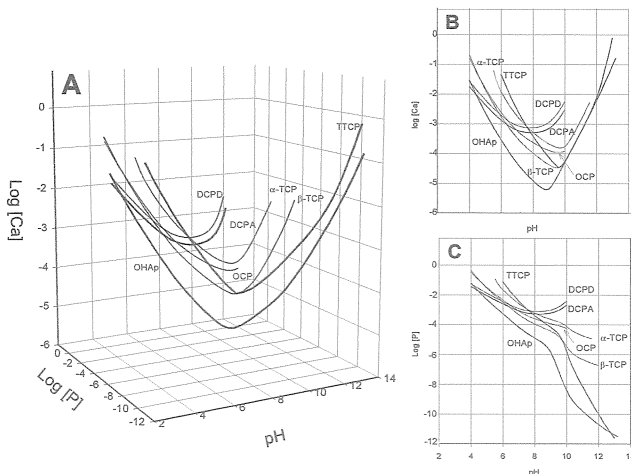


Abbildung 1: Löslichkeits-Phasendiagramme für das Dreistoffsystem $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ bei 37°C (A); die Löslichkeitsisothermen zeigen $\log [\text{Ca}^{2+}]$ und pH-Wert (B) bzw. $\log [\text{PO}_4^{3-}]$ und pH-Werte (C) der Lösungen im Gleichgewicht mit verschiedenen Calciumphosphaten [36]

Aus dem Phasendiagramm wird ersichtlich, dass HA bis zu einem pH-Wert von 4,2 die am wenigsten lösliche Verbindung ist. Unter diesem pH-Wert ist DCPA das am schwersten lösliche Calciumphosphat. Dieser Umstand erklärt die Tatsache, dass der mineralische Hauptbestandteil sowohl des physiologischen Hartgewebes als auch pathologisch calcifizierter Abscheidungen unreine Formen von HA sind. Die unterschiedliche Löslichkeit von Zementedukten und dem jeweiligen Zementprodukt ist die Triebkraft der Abbinde-reaktion von CPC. Nach Zusatz einer wässrigen Phase sättigt sich diese mit den Reaktanden auf, bis deren Löslichkeitsprodukt erreicht ist. Zu diesem Zeitpunkt ist die flüssige Zementphase gegenüber dem jeweiligen Abbindeprodukt stark übersättigt. Das Abbindeprodukt fällt aus und bewirkt nach dreidimensionaler Vernetzung ein Aushärten der Zementpaste.

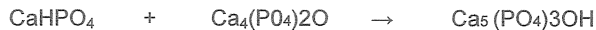
Die Geschwindigkeit der Auflösung der Reaktionspartner hängt von der spezifischen Oberfläche der Zementpartikel ab, die durch das Mahlen der Partikel in flüssiger oder fester Phase eingestellt wird [37, 38]. Nur wenn die Lösungs-raten der Bestandteile kongruent sind, tritt bei multikomponenten Pulvermischungen eine Abbinde-reaktion ein. Beispielsweise beträgt das Partikelgrößenverhältnis TTCP/DCPA etwa 10:1, um eine vergleichbare Auflösungsgeschwindigkeit und damit eine Abbinde-reaktion des Zementes zu erreichen. Weiterhin werden die Abbinde-eigenschaften auch durch eine Kontamination der Partikeloberflächen, wie z.B. die Apatitbildung auf TTCP Partikeln nach Einwirkung von Feuchtigkeit, beeinflusst. Ein anderer Faktor, der die Geschwindigkeit der Abbinde-reaktion kontrolliert, ist die Kristallwachstumsrate des Reaktionsproduktes. Diese ist von HA relativ langsam, so dass Abbindebeschleuniger wie Natriumphosphat oder Phosphorsäure verwendet werden müssen, um klinisch erforderliche Abbindezeiten von einigen Minuten zu erzielen [39-41]. Dagegen ist bei Bruschi-Zementen die Kristallwachstumsrate etwa um drei Größenordnungen schneller, weshalb hier Abbindeverzögerer wie z.B. Sulfate oder Citrate eingesetzt werden müssen.

Maßgeblichen Einfluss auf die Reaktivität von CaP in Zementformulierungen übt

die Kristallinität der Verbindungen aus. Amorphe oder gering kristalline CaP sind entweder durch eine schnelle Fällungsreaktion aus einem wässrigen Elektrolyten oder durch langzeitiges Mahlen mit hohem Energieeintrag („mechanische Aktivierung“) zugänglich. Letzterer Vorgang kann zur Herstellung einkomponentiger Zemente, beispielsweise aus α/β -TCP, TTCP oder alkalidotierten CaPs herangezogen werden [42-46]. Der Mahlvorgang über einen längeren Zeitraum bedeutet für alle Zusammensetzungen eine Verbreiterung und eine Verminderung der Intensität der Beugungsreflexe im Röntgendiffraktogramm. Hiermit einher geht eine Steigerung der Löslichkeit der Verbindungen, die für die höhere Reaktivität verantwortlich ist.

2.3.1 Apatitbildende CPC

Apatit bildet sich als Reaktionsprodukt, wenn der pH-Wert der Paste im neutralen oder basischen Bereich liegt. Die Reaktionspartner für Hydroxylapatit-Zemente sind basische CaP, wie z.B. TTCP [47-53] oder Calciumoxid [54, 55], kombiniert mit leicht sauren Verbindungen, wie DCPA, DCPC oder auch Octacalciumphosphat (OCP).



Mehrere Autoren haben die Zementformulierungen entsprechend Gleichung 1 im Hinblick sowohl auf die Partikelgrößenverteilung der Reaktionspartner [37, 38] als auch auf das Mischungsverhältnis von TTCP/DCPA, das zwischen 0,25-2 variiert wurde [56-58], untersucht. Die höchste mechanische Festigkeit mit einer diametralen Zugfestigkeit von 13 MPa wurde erreicht, indem äquimolare Mischungen mit einem Partikelgrößenverhältnis von TTCP/DCPA von mindestens 10:1 verwendet wurden. Der Einfluss von NaHCO_3 auf die Zementeigenschaften wurde von Miyamoto et al. bestimmt. Die Löslichkeit der

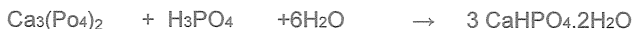
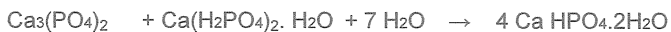
Zemente sollte sich durch die Abänderung der Apatitstruktur durch Carbonationen derart ändern, dass die Zemente durch Osteoklasten besser resorbierbar werden.

Zementformulierungen mit klinisch akzeptablen Abbindereaktionen, die vorwiegend α -TCP enthalten, wurden durch *Driesens et al.* und *Ginebra et al.* [59, 60] beschrieben. Sie untersuchten die Abbindereaktionen bei einer Zementformulierung mit 81% α -TCP, 17% β -TCP und 2% HA mit einer 2,5%igen Na_2HPO_4 -Lösung als flüssiger Phase bei 22°C und 37°C [61, 62]. Durch Röntgendiffraktometrie konnte nachgewiesen werden, dass die Hydrolysereaktion des α -TCP-Anteils für das Aushärten des Zementes verantwortlich war, während der β -TCP-Anteil nicht reagierte. Etwa 80% des α -TCP war nach 24h Aushärtezeit zu calciumarmen Apatit umgesetzt. Die schnellere Abbindezeit wurde auf die kleinere Partikelgröße (~6,3 μm) des Anfangspulvers zurückgeführt.

Eine andere HA-bildende Abbindereaktion ist die Umkristallisation von metastabilen amorphen CaP in wässriger Phase. Dieses System hat eine von der Partikelgröße unabhängige Reaktivität, was auf der thermodynamischen Instabilität der Reaktionspartner in Bezug auf HA beruht [63, 64].

2.3.2 Bruschitbildende CPC

DCPD (Bruschit) wird als das Endprodukt einer Abbindereaktion gebildet, wenn Monocalciumphosphate oder phosphorhaltige Säuren als Zementbestandteile [65-68] verwendet werden, so dass ein pH-Wert der Zementpaste < 4,2 vorliegt:



Die Abbindereaktion von Bruschit-Zementen im Vergleich zu Apatit-Zementen ist aufgrund der hohen Kristallwachstumsrate viel schneller. Deshalb wurden

verschiedene Abbindeverzögerer wie z.B. Pyrophosphate [41, 42], Sulfate oder Citrate untersucht und somit die Vorbereitung von Zementen durch Abbindezeiten von 3-8 min [69, 70] ermöglicht. Eine weitere Möglichkeit die Abbindezeit zu verlängern, wäre eine Verringerung der spezifischen Oberfläche der Reaktionspartner vor dem Sintern durch Granulierung, so dass die Lösungsrate der Pulver und damit die Reaktivität herabgesetzt wird.

2.4. Eigenschaften von Calciumphosphatzementen

2.4.1 Abbindezeit und mechanische Festigkeit

Kennzeichen von Calciumphosphat-Zementen ist eine strukturelle Stabilität der Zementpaste (Festigkeit) nach der Abbindereaktion. Diese Tatsache grenzt CPC gegenüber den als Granulat oder Pulver eingesetzten β -Tricalciumphosphat-Keramiken ab, die keiner Abbindereaktion unterliegen und somit keinerlei strukturelle Festigkeit nach Einbringung in den Körper aufweisen. Die Festigkeit der Zemente wird durch die dreidimensionale Verfilzung der während der Abbindereaktion ausgefallten Kristallite bedingt. Die mechanischen Festigkeiten von CPC sind beträchtlich niedriger als jene von Knochen, Zähnen oder thermisch behandelten keramischen CaP [71, 72]. Obwohl CPC mit mechanischen Druckfestigkeiten von 80 MPa erreicht werden konnten, sind CPC bislang spröde und haben relativ niedrige Zug- bzw. Biegefestigkeiten. Das Abbinden bei Raumtemperatur macht es aber möglich, verschiedene Arten von biokompatiblen bzw. bioresorbierbaren Fasern oder Gewirken in CPC zu integrieren [73-78], hierdurch kann beispielsweise die diametrale Zugfestigkeit um das vierfache gesteigert werden. Schwierig gestaltet sich der Vergleich von Festigkeitswerten aus unterschiedlichen Untersuchungen, da die Art der Herstellung der hierfür verwendeten Prüfkörper (Probenform und Design, Verdichtungsdruck) sowie deren Lagerung vor der Prüfung (trocken, nass) entscheidenden Einfluss auf das Messergebnis ausübt. Als maßgebliche, festigkeitsbeeinflussende Parameter wurden in der Vergangenheit die Umsetzungsrate sowie vornehmlich die Porosität der Zementmatrix (Mikro- und Makroporosität) erkannt [79]. Während für die Umsetzungsrate ein linearer

Zusammenhang mit der Druckfestigkeit für verschiedene Zementtypen gefunden wurde [45, 80], korreliert die Porosität mit den mechanischen Eigenschaften über eine Exponentialfunktion, so dass bereits geringe Änderungen der Porosität große Änderungen der Festigkeit zur Folge haben können [81]. Im Allgemeinen sind hierbei Bruschi-Zemente trotz geringerer Porosität (Anmischflüssigkeit wird während Abbindevorgang verbraucht) weniger fest als Apatit-Zemente.

Vom klinischen Anwender direkt nachvollziehbar und für einen zeitnahen Wundverschluss entscheidend ist die Abbindezeit der Zemente. Erst wenn die Zementpaste am Anwendungsort eine ausreichende Resistenz gegenüber mechanischen Kräften und Auswaschung aufweist, kann das Operationsfeld verschlossen werden. Es wird hierbei zwischen der initialen Abbindezeit (ST_i) und der finalen Abbindezeit (ST_f) unterschieden. Die initiale Abbindezeit ist hierbei das Intervall zwischen Anmischvorgang und dem Verlust an Formbarkeit, während ST_f diejenige Zeit ist, welche die Zementpaste benötigt, bis eine ausreichende mechanische Festigkeit für einen Verschluss des Defekts gegeben ist. Die Abbindezeiten werden hauptsächlich mittels Gilmore-Nadeltest gemessen [82], bei dem in periodischen Zeitintervallen Nadeln definierten Durchmessers und Gewichts auf die Zementoberfläche abgesenkt werden und das Eindruckverhalten optisch bewertet wird. Die Methode ist apparativ einfach durchzuführen, allerdings mit dem Nachteil der Subjektivität der optischen Beurteilung behaftet. Als objektivere Alternativverfahren der Bestimmung der Abbindezeiten von CPC sind Methoden wie Puls-Echoultraschall [83] oder Wechselstromimpedanzspektroskopie [84] in der Literatur beschrieben.

2.4.2 Rheologische Eigenschaften von CPC

Für die minimalinvasive Anwendung ist die Injizierbarkeit des Zementes Voraussetzung. Normale CPC sind nur schlecht injizierbar, da es während des Injektionsvorgangs zu einer Phasenseparation von Feststoff und Flüssigkeit an der Eintrittsstelle zur Kanüle kommt („Filter-pressing“) [85]. Injizierbare Zemente können beispielsweise durch eine Verminderung des P/L-Verhältnisses erhalten werden. Dies zeigt allerdings häufig eine abträgliche Wirkung auf die

mechanischen Eigenschaften des Zementes, da eine höhere Flüssigkeitsmenge auch zur Steigerung der Porosität führt. Die Injektionseigenschaften von CPC können durch die Modifikation der flüssigen Phase mit Zusätzen von Polysacchariden wie z.B. Chondroitinsulfat oder Hyaluronsäure verbessert werden, die durch eine Viskositätssteigerung der flüssigen Phase die Tendenz zur Phasenseparation von Feststoff und Flüssigkeit verringern.

Eine andere Möglichkeit die Injizierbarkeit von CPC zu verbessern, ist die Verwendung einer biomodalen Partikelgrößenverteilung kombiniert mit einer hohen Oberflächenladung der Zementpartikel, durch eine Adsorption von Ionen auf der Partikeloberfläche. Dieser Vorgang kann anhand des Zeta-Potentials der Partikeloberflächen [86] beurteilt werden. Das Zeta-Potential stellt ein kinetisches Maß des Ionenaustauschs zwischen der wasserhaltigen Schicht um die keramischen Partikel und der Partikeloberfläche selbst dar [87, 88]. Die Steigerung des Zeta-Potentials führt zu einer niedrigeren Viskosität der Zementpaste aufgrund einer Verminderung interpartikulären Kräfte durch gegenseitige elektrostatische Abstoßung. Diese Viskositätsreduktion ermöglicht vollständig injizierbare apatit- und bruschitbildende Zemente [89, 90].

2.4.3 Biologische Eigenschaften von apatit- und bruschitbildenden CPC

Sowohl apatit- als auch bruschitbildende Zemente sind als biokompatibel anzusehen und zeigen gute Eigenschaften bezüglich der Induktion der Knochenneubildung im Defekt [91, 92]. Der Hauptunterschied zwischen beiden Zementtypen ist die Geschwindigkeit der Resorption und der zellulären Reaktion. Unter physiologischen Bedingungen ist Hydroxylapatit praktisch unlöslich, da physiologische Flüssigkeiten wie z.B. Blut oder Speichel in Bezug auf HA übersättigt sind. Eine Auflösung von HA kann nur in saurem Milieu, wie es z.B. von Osteoklasten oder anderen säurebildenden Zellen verursacht wird, stattfinden. Aus diesem Grund werden apatitbildende CPC nur langsam resorbiert und sind nach sechs Monaten noch als strukturell stabiles Implantat nachweisbar, während bruschitbildende CPC in dieser Zeit fast vollständig resorbiert und durch neuen Knochen ersetzt werden [93]. Obwohl Bruschit-CPC

anfangs eine geringere mechanische Festigkeit als Apatit-Matrices zeigen, ist die schnelle Resorption und der damit verbundene Ersatz durch neuen Knochen von hohem klinischem Interesse.

Klinische Anwendungsbereiche für beide Zementtypen sind Knochendefekte im nicht funktionell kraftbelasteten Bereich. Es wurden seit Mitte der Neunziger Jahre eine Reihe von CPC (vorwiegend Apatit-Zemente) als Medizinprodukte in den Markt eingeführt, eine Übersicht ist der aktuellen Literatur zu entnehmen [94]. Die Anwendung in Pastenform ermöglicht eine mikroskopisch gute Anpassung an Knochendefekt-Oberflächen. Die direkte Anbindung von CPC an den Knochen reduziert die Bildung von Bindegewebe am Knochen-Implantat-Interface. Verschiedene *in vitro* Studien im Knochen zeigten, dass die Zemente auch in der Vertebroplastie oder zur Fixierung von Implantaten oder Knochenschrauben verwendet werden können [95, 96].

3. Material und Methode

3.1. Synthese und Mahlung von Calciumphosphaten

3.1.1 Herstellung der Basismischung aus DCPA und Calciumcarbonat

Die Synthese von TTCP für die Anwendung als Knochenersatzwerkstoff erfolgte durch Festkörperreaktion von Calciumcarbonat und Dicalciumphosphatanhydrid in äquimolarer Mischung bei Temperaturen über 1300°C. Das zur Herstellung der Tetracalciumphosphate (=Basismischung) verwendete DCPA wurde von der Firma *Baker*, Phillipsburg/USA bezogen. Das verwendete CC stammt von der gleichen Firma. In einem Pflugscharmischer M5R (MK) der Firma *Lodige-Maschinenbau GmbH*, Paderborn wurden jeweils 1572,8g (11,56mol) wasserfreies DCPA mit wechselnden Anteilen Calciumcarbonat versetzt und 1h bei 180 Umdrehungen/min ohne Wechsel der Rotationsrichtung bei Raumtemperatur gemischt. Der Zusatz der Additive SiO₂, TiO₂ und ZrO₂ ist unter 3.1.2 beschrieben.

Für den folgenden Sintervorgang stand ein Laborofen OTV System Vecstar der Firma *Oyten Thermotechnik*, Oyten zur Verfügung. Als feste Sinterparameter waren die Aufheizphase (15°C/min) und die Abkühlungsphase (99,99°C/min) vorgegeben. Die Variable war die Haltetemperatur des Sintervorganges mit 1500°C für SiO₂ und ZrO₂ Zusätze bzw. 1400°C für TiO₂ Zusätze. Nach Beendigung der Heizphase wurde der Ofen sofort geöffnet und das Sintergut auf eine Temperatur von 300-350°C in ca. 10 min abgeschreckt. Wichtig hierbei war ein schnelles Abkühlen des Sinterkörpers, um eine Umwandlung von TTCP in Tricalciumphosphat bzw. Hydroxylapatit zu verhindern. Der Sinterkuchen wurde nach seiner vollständigen Abkühlung unter Feuchtigkeitsausschluss in einer Glovebox gemörsert und gesiebt. Für die Siebung wurde ein 355µm Sieb der Firma *Fritsch*, Idar-Oberstein verwendet. Zur weiteren Verwendung wurde das Produkt unter Feuchtigkeitsausschluss aufbewahrt.

Die Mahlung der Tetracalciumphosphate erfolgte mit einer Planetenschnellmühle PM400 der Firma *Retsch*, Haan mit Mahlbechern aus Achat (250ml) sowie

Kugeln (\varnothing 30 mm) der Firma *Retsch* des gleichen Werkstoffes. Es wurden jeweils zwei Achatmahlbecher mit Tetracalciumphosphat (30,0 g, 81,9 mmol) und je 4 Mahlkugeln befüllt. Als Mahlparameter galt eine Mahldauer von 20 min bei 200 Umdrehungen/min mit minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung. Die nach der Trockenmahlung unter staub- und feuchtigkeitsreduzierten Bedingungen erhaltenen Pulver wurden ohne weitere Aufbereitung eingesetzt.

Tabelle 2: Die verschiedenen Zusammensetzungen der TTCP- Basismischungen: im CC-Anteil nicht reduzierte und z.T. im CC-Anteil um 10%, 20% und 30% reduzierte Zusammensetzungen

DCPA (mol)	CC (mol)
11,56	11,01
11,56	9,91
11,56	8,81
11,56	6,61

3.1.2 Metalloxidzusätze

Die unter 3.1.1 beschriebene Basismischung aus DCPA und CC für die Synthese von TTCP wurde zusätzlich mit verschiedenen Metalloxiden vor dem Sintervorgang modifiziert. Es wurden neben Siliciumoxid der Firma *Sigma-Aldrich*, Deisenhofen Titanoxid und Zirkonoxid der Firma *Alfa Aesar*, Karlsruhe verwendet. Der Zusatz erfolgte entweder trocken oder nass in Isopropanol.

Um ein Metalloxid nass zusetzen zu können, wurde eine Suspension von 400 g der Basismischung aus wasserfreiem DCPA und CC in 380 ml *iso*-Propanol spatelweise mit entsprechenden Mengen an Siliciumoxid, Titanoxid oder Zirkonoxid versetzt und unter Feuchtigkeitsausschluss 24h bei Raumtemperatur gerührt. Das verwendete *iso*-Propanol besaß Analysenqualität und wies einen maximalen Wassergehalt von 0,2% auf. Anschließend erfolgte ein schnelles Abfiltrieren über einem G4-Filter und eine Trocknung bis zur Gewichtskonstanz im Vakuum bei 80°C. Danach wurde das Pulver einem Sinterprozess unterzogen.

Um ein Metalloxid trocken zusetzen zu können, wurde ein Ansatz von 400 g wasserfreiem DCPA und CC mit den verschiedenen Metalloxiden unter Feuchtigkeitsausschluss 72h bei 39 U/min bei Raumtemperatur mit der Rollermaschine Roller-Mixer SRT2 der *Firma Renner* vermischt.

3.1.3 Nassmahlung von Dicalciumphosphatanhydrid

Als zweite Zementkomponente wurde DCPA der Firma *Baker*, Phillipsburg/USA verwendet. Es wurden jeweils 180 g DCPA, 200 ml Ethanol und 200 Mahlkugeln mit einem Durchmesser von 10 mm in einen Achatbecher gegeben. Das verwendete Ethanol besaß Analysenqualität mit einem maximalen Wassergehalt von 4%. Als Mahlparameter wurden 250 Umdrehungen/min ohne Wechsel der Rotationsrichtung sowie eine Mahldauer von 24h ausgewählt. Das Lösungsmittel wurde bei 80°C für 7h im Trockenschrank entfernt.

3.1.4. Synthese der Calciumphosphatzemente

Zur Synthetisierung der Calciumphosphatzemente wurden TTCP und DCPA in einem molaren Verhältnis von 1: 1,05 mittels der Planetenkugelmühle 20 min bei 100 Umdrehungen/min mit minütlichem Wechsel der Rotationsrichtung vermischt. Das Abfüllen des Zementes erfolgte unter Feuchtigkeitsausschluss in der Glove-Box. Als flüssige Phase zur Anmischung der Zementpasten wurde entweder Aqua ad injectabilia oder eine 0,25M Natriumphosphat-Lösung (0,25M $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$) verwendet. Letztere wurde durch Lösen von 0,0833 mol NaH_2PO_4 und 0,166 mol Na_2HPO_4 in Wasser hergestellt.

3.2. Partikelgrößenanalyse

Die Partikelgrößen wurden an einem CASY® 1TTC – „Cell-Counter“ und Analyser-System der Firma *Schärfe System*, Reutlingen bestimmt. Da Leermessungen mit der Reinigungsmittellösung „CASYTON®-Lösung“ der Firma *Schärfe System*, die maximale Anzahl von 25 Counts nicht übersteigen sollten, wurde vor jeder Messung das Kapillarsystem mit der Lösung gereinigt. Für die Partikelgrößenbestimmung standen je nach Pulvergröße zwei auswechselbare

Kapillaren mit 60 µm (DCPA) und 150 µm (TTCP) Durchmesser zur Verfügung. Die Kapillarabschirmung für die Messung feinkörniger Fraktionen bestand aus zwei Edelstahlblechen der Firma *Schärfe System*.

Von jeder zu untersuchenden Probe wurde eine kleine Spatelspitze in 10 ml steriler isotonischer Kochsalzlösung „CASYTON®-Messlösung“ im Ultraschallbad suspendiert und im Anschluss daran sofort vermessen. Um das Gerät zu Reinigen, wurde zweimal hintereinander mit der Reinigungsmittellösung gespült. Nach 20 min erfolgte eine weitere Reinigung mit destilliertem Wasser und steriler isotonischer „CASYTON®-Messlösung“. Bei der Kontrollmessung durfte die maximale Anzahl von 5% der Gesamtcounts nicht überschritten werden. Es wurden für alle zu untersuchenden Proben drei Messungen durchgeführt und daraus die mittlere Partikelgröße errechnet.

3.3. Verhalten von CPC in wässriger und in physiologischer Umgebung

Um den pH-Wert der verschiedenen Zemente während der Abbindereaktion zu bestimmen, wurde zum Einen eine Pastenmessung, zum Anderen eine Messung in Hepes-Puffer durchgeführt. Die Pastenmessung entspricht der wässrigen Umgebung, während die Messung im Hepespuffer der physiologischen Umgebung entspricht. Für beide Verfahren wurde als flüssige Phase *Aqua ad injectabilia*, Firma *Delta-Pharma*, Pfullingen verwendet. Bei der Pastenmessung wurden zusätzlich zur Aufnahme der zu vermessenden Probe Mikroreaktionsgefäße (150 ml) der Firma *Hartenstein*, Würzburg mit 0,50 mm-Bohrung eingesetzt. Der pH-Wert ist als Funktion der Zeit angegeben.

Durchführung der Pastenmessung

Nach dreißigsekündigem Anmischen von 2,0 g Pulver mit 606 µl Flüssigkeit auf einer Glasplatte wurde die entstandene Paste in das Mikroreaktionsgefäß mit Bohrung überführt und die pH-Elektrode Delta der Firma *Mettler-Toledo*, Gießen bis zur vollständigen Überdeckung in die Paste eingestochen. Die Kalibrierung der pH-Elektrode erfolgte mit standardisierten Pufferlösungen der Firma *Merck*, Darmstadt.

Protokolliert wurden die verschiedenen pH-Werte in definierten Zeitabständen.

Herstellung Hepes-Puffer und Durchführung der pH-Wert Messung

Die Hepes-Pufferlösung wurde aus 50 mmol HEPES (N-(2-Hydroxyethyl)-Piperazin-N'-(2-Ethansulfonsäure)heminatriumsalz) Fa. *Sigma-Aldrich*, Deisenhofen und 0,14 mol NaCl, Fa. *Merck*, Darmstadt auf 100 ml destilliertes Wasser hergestellt. Nach dem Herstellen eines Probenkörpers mit D=6 mm und H=6 mm unter Zuhilfenahme einer entsprechenden Probenform wurde die Probe in einen kleinen Erlenmeyerkolben gegeben, um weitere 80 min auszuhärten. Die zylindrische Probenform mit einem Durchmesser von 6 mm wurde mit passenden Stempeln (12 mm) von oben und unten verschlossen. Anschließend wurde die so vorbereitete Probenform 30 min mit einer Kraft von 20 N belastet, bevor der Probenkörper in den Erlenmeyerkolben gegeben wurde.

Das pH-Meter wurde mit drei verschiedenen Pufferlösungen mit den pH-Werten 7, 9 und 11 kalibriert. Nach 80 min wurde der Probenkörper mit 3 ml Hepes-Puffer-Lösung überschichtet. Die Protokollierung des pH-Wertes des den Prüfkörper umfassenden Mediums erfolgte alle 60 min über einen Zeitraum von 30 Stunden. Das Pulver/Lösungs-Verhältnis wurde für alle Prüfungen auf 3,3: 1 festgelegt.

3.4. Initiale Abbindezeit

Um die Abbindezeit der Calciumphosphat-Zemente bestimmen zu können, wurde ein Gilmore-Nadeltest in einer temperierten Feuchtigkeitskammer durchgeführt. Die Apparatur bestand aus einer doppelwandigen Edelstahlkammer, deren Innenwand nach oben offen war. Diese Ummantelung, wie auch die doppelte Bodenplatte, waren mit einem Zu- und Abfluss für den Anschluss eines Thermostaten versehen, der dafür sorgte, dass die Temperatur im Inneren der Kammer immer konstant auf 37°C gehalten wurde. Eine zweiteilige Probenform mit einer mittigen Bohrung von 12 x 3 mm für die Aufnahme der Zementpaste wurde in der Mitte der Bodenplatte der Kammer auf einem von außen drehbaren Teller befestigt. Vor Beginn der Messungen erfolgte

die Einstellung der Klimakammer auf eine Innentemperatur von $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ und eine Luftfeuchtigkeit von mehr als 90%. Mit einem Thermohygrothermometer wurden Temperatur und Feuchtigkeit in der Kammer ständig überwacht. Um aber eine vollständige Durchwärmung der Apparatur zu gewährleisten, waren die beschriebenen Maßnahmen mindestens 1h vor Beginn der ersten Messung durchzuführen.

Um die Verdunstung von Wasser während des Anmischvorgangs verhindern zu können, wurde das Mischen der Zementpasten in Latex-Fingerlingen (Suzuki Latex USA s EDEL-C) durchgeführt. Für jede Messung wurden jeweils 1,00g des Zementes in den Fingerling abgewogen. Das P/L-Verhältnis war mit einem Verhältnis von 3,3: 1 vorgegeben, als flüssige Phase wurden 303 μl *Aqua ad injectabilia* verwendet. Nach der Zugabe der Lösung wurde der Fingerling am oberen Ende mit einer Klemme derart verschlossen, dass möglichst wenig Luft im Inneren verbleiben konnte. Anschließend wurde der Fingerling 15 s lang auf der vibrierenden Auflage eines Mixers (Thermolyne vibratory mixer Maxi mix, Typ 37600, Firma *Barnstead*, Iowa USA) geknetet, so dass es zu einer gleichmäßigen Vermischung der Komponenten kam. Die so entstandene Zementpaste wurde dann mit Hilfe einer Walzenapparatur und eines Mischspatels in die vorgewärmte Probenform gebracht und die Oberfläche mit einem Objektträger geglättet. Die befüllte Probenform wurde in die Klimakammer eingebracht. Gemäß des Gilmore-Nadeltests erfolgte die Messung der Abbindezeit durch das Absenken einer Nadel der Größe G1 auf die Oberfläche der Probe in definierten Zeitabständen. Es konnten durch die Drehung der Form um 60° von außen, pro angemischter Zementprobe sechs Messungen vorgenommen werden. Sobald die Nadel keinen Abdruck mehr auf dem Zement hinterließ, galt der Zement als abgebunden. Jeder Probenkörper wurde mit Hilfe eines Auflichtmikroskops bei zehnfacher Vergrößerung nach beurteilt.

3.5. Mechanische Festigkeit von Calciumphosphat-Zementen

Die Prüfkörper wurden in Zylindern aus Edelstahl (37 mm x 19 mm) mit einer Bohrung von $6,000 \text{ mm} \pm 0,013 \text{ mm}$ angefertigt. Um die Zementpasten in die

Zylinderform überführen zu können, stand eine Walzenapparatur zur Verfügung. Für das Einspannen der befüllten Zylinder unter konstanter Belastung wurde eine Hebelapparatur mit höhenverstellbaren Böden zur Aufnahme der Probenformen und definiert belastbaren Hebelarmen verwendet. Eine HA-Lösung, die zur Überschichtung der Probenkörper nötig war, wurde aus ausgehärteten, mit *Aqua ad injectabilia* angemischten Probenkörpern und destilliertem Wasser als Lösungsmittel hergestellt.

Für das Anmischen der Calciumphosphat-Zemente waren ein Pulver/Lösungsmittel-(P/L)-Verhältnis von 3,3: 1 bzw. von 4:1 vorgegeben. Als flüssige Phase wurde *Aqua ad injectabilia* verwendet. Das Anmischen des Zementes erfolgte analog dem Vorgehen zur Zementpräparation der initialen Abbindezeit. Die so entstandene Paste des Zementes wurde mit der bereits beschriebenen Walzenapparatur in die Zylinderformen überführt. Ein zweiter Metallstempel wurde verwendet, um den Probenzylinder zu verschließen. Die so vorbereitete Probenform wurde in die Hebel-Apparatur eingespannt, 5s einer Vorlast von 9 MPa ausgesetzt und anschließend dauerhaft mit einer Kraft von 0,7 MPa belastet. Der gesamte Vorgang wurde mit weiteren fünf Zementproben wiederholt. Die Zeitspanne zwischen dem Anmischen der ersten Probe und dem Einspannen des letzten Metallzylinders sollte nicht länger als 12 min sein.

Anschließend wurde die gesamte Apparatur in einer Feuchtigkeitskammer bei 37°C und 90-100% Luftfeuchtigkeit für 4h gelagert. Nach Ablauf dieser Zeitspanne wurden die Probenkörper mittels einer hydraulischen Presse aus den Metallzylindern entfernt, in Probengläsern einzeln mit gesättigter HA-Lösung überschichtet und nochmals 20h bei 37°C ausgelagert. Nachdem die Probenkörper entnommen und getrocknet waren, wurden sie an einer statischen Universal-Materialprüfmaschine 1445, Firma *Zwick*, Ulm bis zum Bruch mit einer Vorschubgeschwindigkeit von 1mm/min belastet. Dokumentiert wurde bei dieser Prüfung die maximale beim Bruch auftretende Kraft.

Druckfestigkeit

Es wurde jeweils 800 mg Pulver abgewogen. Das Pulver wurde entweder mit

242 μl *Aqua ad injectabilia* entsprechend dem P/L-Verhältnis 3,3:1 oder 200 μl der Lösung entsprechend dem Verhältnis 4:1 angemischt. Die Länge der verwendeten Metallstempel betrug 16 mm. Die Druckfestigkeit (CS) der Proben wurde berechnet nach:

$$CS = F [N] / (r^2 \cdot \pi) [N / \text{mm}^2]$$

F: Bruchkraft

r: Radius des Probenkörpers

Diametrale Zugfestigkeit

In sechs Fingerlinge aus Latex wurde je 200 g des Zementpulvers eingewogen und entsprechend dem P/L-Lösungsmittel-Verhältnis mit 60,6 μl (3,3:1) oder mit 50 μl (4:1) *Aqua ad injectabilia* vermischt. Für die Herstellung jedes Probenkörpers wurden zwei Metallstempel unterschiedlicher Länge verwendet. Der Boden der Metallzylinder wurde mit einem 25 mm Stempel verschlossen, während die Öffnung mit dem 16 mm Stempel verschlossen wurde. Die diametrale Zugfestigkeit (DTS) errechnete sich nach:

$$DTS = F / (r \cdot d \cdot \pi) [N / \text{mm}^2]$$

F: Bruchkraft (N)

r: Radius des Probenkörpers

d: Dicke des Probenkörpers

3.6. Röntgendiffraktometrische Untersuchung von Reaktionsverläufen

Die Bestimmung der Phasenzusammensetzung der dotierten Tetracalciumphosphate und ausgehärteter Zemente erfolgte mittels Röntgendiffraktometrie (XRD). Die Röntgendiffraktometrie erfolgte mit einem Röntgendiffraktometer D5005 der Firma *Siemens*, Karlsruhe bei einer Kathodenspannung von 40kV und einer Stromstärke von 40mA. Messung und

Auswertung der Spektren erfolgte mit Hilfe der Software DIFFRAC plus der Firma, *Siemens*, Karlsruhe. Das Pulver wurde in entsprechende Kunststoffformen eingebracht und die Oberfläche mit einem Objektträger glatt gestrichen. Als Messparameter war der Messbereich von 20-40°, die Aufnahmegeschwindigkeit mit 2 deg/min sowie eine Schrittweite von 0,01° vorgegeben.

3.7. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung von Prüfkörpern

Für rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen von 24h ausgehärteten Prüfkörpern wurde ein Gerät DSM 940 der Firma *Zeiss*, Oberkochen mit integriertem SE-und BSE-Detektor verwendet. Die Bedampfung der Prüfkörper mit einer leitfähigen Goldschicht erfolgte im Vakuum mit einem Gerät des Typs K250 der Firma *Emitech*. Um die 24h ausgehärteten Prüfkörperteile auf einem Träger für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung zu befestigen, wurde ein geeigneter Befestigungskleber aus einer Kohlenstoffpaste verwendet.

4. Ergebnisse

4.1. Synthese von Tetracalciumphosphat

4.1.1 Partikelgrößenanalyse

Die nach *Chow* [97] für die CPC-Synthese relevante Partikelgröße von Tetracalciumphosphat (TTCP) beträgt 10-15 μm . TTCP wurde nach Synthese über eine thermische Festkörperreaktion trocken unter Einhaltung verschiedener Parameter gemahlen und die daraus resultierenden Partikelgrößen miteinander verglichen. Die über Korngrößenanalyse mittels „Cell-Counter“ erhaltenen Korngrößenverteilungen wiesen zwei Maxima zwischen 5 μm und 10 μm auf. Eine Partikelgröße von 35 μm wurde in keinem Fall überschritten. Die aus den einzelnen Verteilungsfunktionen berechneten gemittelten Partikelgrößen lagen zwischen 7,51-9,91 μm . Die durchschnittliche mittlere Partikelgröße variierte zwischen 10-12 μm (Tabelle 3).

Tabelle 3: Partikelgrößenanalyse von Tetracalciumphosphat in Abhängigkeit der Zusammensetzung und Präparationsbedingungen über „Cell-Counter“

CC (mol)	DCPA (mol)	MO2	MO2 nass/ trocken zugesetzt	D ₅₀ TTCP
11,01	11,56	-----	nass	11,7
9,91	11,56	5% SiO ₂	nass	11,51
9,91	11,56	5% TiO ₂	nass	11,73
9,91	11,56	5% ZrO ₂	nass	12,08
11,01	11,56	5% TiO ₂	nass	10,87
11,01	11,56	10% TiO ₂	nass	10,05
11,01	11,56	20% TiO ₂	nass	11,27
11,01	11,56	5% TiO ₂	trocken	10,62
9,91	11,56	5% TiO ₂	trocken	10,85
8,81	11,56	5% TiO ₂	trocken	11,71
8,81	11,56	10% TiO ₂	nass	11,03

4.1.2 Phasenzusammensetzung TTCP

Die Phasenzusammensetzung der dotierten Tetracalciumphosphate wurde

durch Röntgendiffraktometrie (XRD) ermittelt. Typische Diffraktogramme sind in Abbildung 2 für jeweils 10% Metalloxid und ein Verhältnis von 11,01 mol CC zu 11,56 mol DCPA nach Sinterung dargestellt.

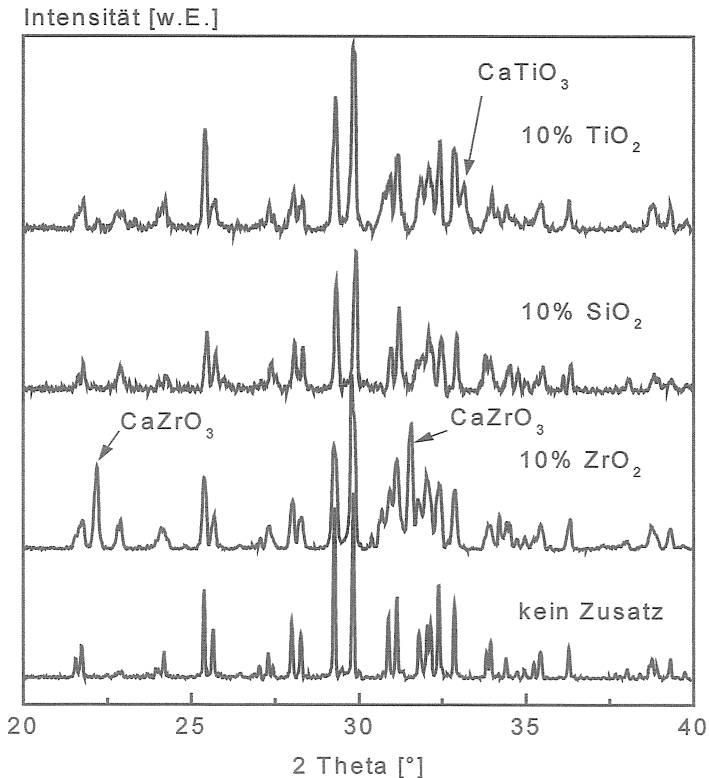


Abbildung 2: Röntgendiffraktogramme von TTCP ohne bzw. mit Dotierung mit jeweils 10% Metalloxid nach Sinterung bei 1500°C; keine Reduktion des CC-Anteils

Zu erkennen ist in den Diffraktogrammen jeweils das typische Beugungsmuster von kristallinem Tetracalciumphosphat, für den Zusatz von ZrO₂ kann zusätzlich Calciumzirkonat (Beugungsreflexe bei 2Theta = 22° und 31°) und für den Zusatz von TiO₂ Calciumtitanat (Reflexe bei 2Theta = 33°) nachgewiesen werden. Der Zusatz von SiO₂ führt zu keinen zusätzlichen Beugungsreflexen, offenbar wurde

hier eine Glasphase aus Calciumsilikat gebildet, die keine Röntgenbeugung zeigt.

4.2. Protolysegrad von CPC- Paste und in physiologischer Umgebung

Die Kenntnis des Protolysegrades ist von klinischem Interesse, um wichtige Informationen bezüglich der Biokompatibilität eines CPC zu erhalten. Aus der Biokompatibilität resultiert beispielsweise die Vermeidung von Gewebeschäden durch einen CPC. Im folgenden Abschnitt soll dargestellt werden, wie sich die Änderung der chemischen Zusammensetzung durch Dotierung mit Metalloxiden auf die Zementigenschaften auswirkt. Metalloxidzusätze beeinflussen nicht nur den pH-Wert, sondern auch das Lösungsverhalten. Im Zuge früherer Arbeiten [98] wurde der Einfluss von Metalloxidzusätzen wie z.B. SiO₂, TiO₂ und ZrO₂ auf das Lösungsverhalten von Tetracalciumphosphaten untersucht. Das Ergebnis der Untersuchungen zeigt (Tabelle 4), dass im Vergleich der gemahlene TTCP mit und ohne Zusatz die Pulver mit Metalloxidzusätzen eine niedrigere Löslichkeit aufweisen.

Tabelle 4: Gegenüberstellung der gemahlene TTCP mit und ohne Metalloxidzusätzen

Zusatz	Ca 2-Konzentration [mol/l]
--	2,28 · 10 ⁻³
10% SiO ₂	1,85 · 10 ⁻³
5% TiO ₂	2,53 · 10 ⁻³
10% TiO ₂	2,45 · 10 ⁻³
5% ZrO ₂	2,58 · 10 ⁻³
10% ZrO ₂	2,16 · 10 ⁻³

Die Ermittlung des Protolysegrads erfolgte zum Einen durch Pastenmessung und zum Anderen durch die Messung eines vorgehärteten Prüfkörpers in Hepes-Puffer als Modell einer physiologischen Umgebung. Im Rahmen der Pastenmessung wurden die Zementformulierungen auf ihren pH-Verlauf innerhalb eines Zeitraums von 6h geprüft, um Aussagen bezüglich der Abbindereaktion der Zemente zu treffen. Dagegen wurden bei der Ermittlung des Protolysegrades im Hepes-Puffer die Zementformulierungen auf ihren pH-Verlauf innerhalb eines Zeitraumes von 30h geprüft.

4.2.1 Einfluss unterschiedlicher Metalloxid-Zusätze auf den pH-Wert

Bei der Ermittlung des Protolysegrades durch Pastenmessung ergeben sich für TiO_2 und ZrO_2 -Zusätze mit einem Maximum von 8,80 vergleichbare pH-Werte. SiO_2 dagegen führt mit 9,00 zu einem etwas höheren pH-Wert.

Die Ermittlung des pH-Wertes in physiologischer Umgebung führt generell zu niedrigeren pH-Werten, als die Ermittlung durch die Pastenmessung. Die Schwankungen liegen zwischen 0,3 –1,2 Einheiten (Tabelle 5; Abbildung 3 und 4). Die Zugabe von TiO_2 führt bei der Ermittlung des Protolysegrades im Hepes-Puffer zu einem pH-Wert von 7,5, die Zugabe von SiO_2 bzw. ZrO_2 führt jeweils zu einem höheren pH-Wert von etwa 7,7 Einheiten. Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, dass durch die Messung in physiologischer Umgebung mit dem Zusatz von TiO_2 der physiologischste pH-Wert für einen CPC erzielt wurde.

Tabelle 5: Verhalten des pH-Wertes eines CPC mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase bei unterschiedlichen Metalloxid-Zusätzen ermittelt in Zementpaste und in physiologischer Umgebung, MO_2 wurde TTCP-Basismischung nass zugesetzt.

CC (mol)	DCPA (mol)	MO2	pH-Wert Paste	pH-Wert Hepes
9,91	11,56	5% SiO_2	9,00	7,7
9,91	11,56	5% TiO_2	8,80	7,5
9,91	11,56	5% ZrO_2	8,80	7,7
9,91	11,56	-----	9,32	7,58

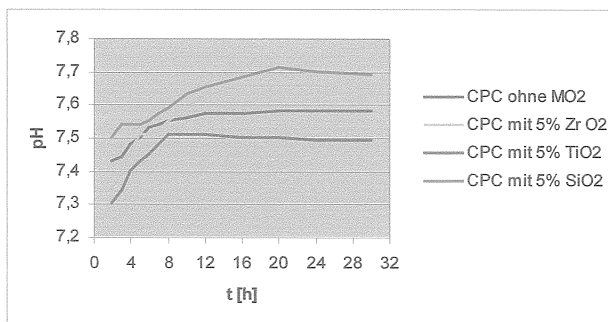


Abbildung 3: Verhalten des pH-Wertes eines CPC mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase bei unterschiedlichen Metalloxid-Zusätzen ermittelt in physiologischer Umgebung, MO_2 wurde der TTCP-Basismischung nass zugesetzt.

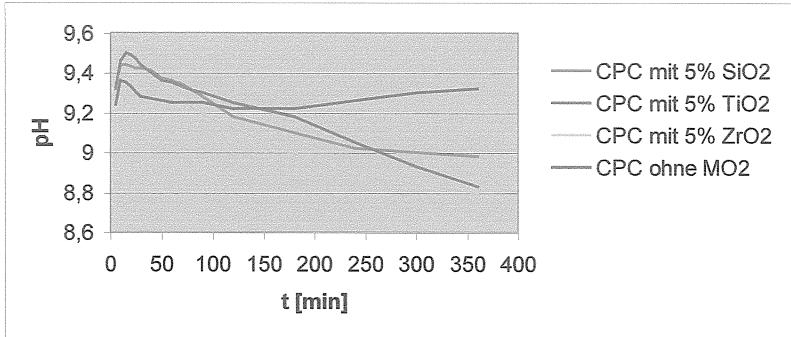


Abbildung 4: Verhalten des pH-Wertes eines CPC 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase bei unterschiedlichen Metalloxid-Zusätzen ermittelt in Zementpaste, MO_2 wurde TTCP-Basismischung nass zugesetzt.

4.2.2 Einfluss unterschiedlicher prozentualer Zusätze von TiO_2 auf das Verhalten des Protolysegrades

Ein Zusatz von 20 % TiO_2 ergibt jeweils den niedrigsten pH-Wert im Rahmen der Ermittlung des Protolysegrades durch die Pastenmessung. Im Zuge der Ermittlung des Protolysegrades in physiologischer Umgebung sind auch hier die pH-Werte insgesamt niedriger, als bei der Pastenmessung. Die pH-Werte bewegen sich zwischen 7,80 und 8,05.

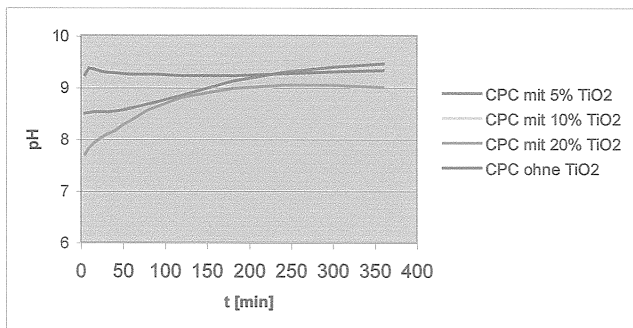


Abbildung 5: Verhalten des pH-Wertes eines CPC mit Wasser oder 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssige Phase bei unterschiedlichen prozentualen TiO_2 Zusätzen ermittelt in Zementpaste.

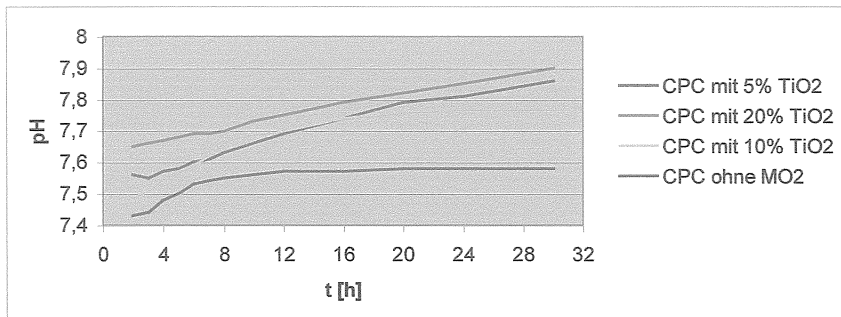


Abbildung 6: Verhalten des pH-Wertes eines CPC mit Wasser oder 0,25M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ als flüssige Phase bei unterschiedlichen prozentualen TiO_2 Zusätzen ermittelt in physiologischer Umgebung.

4.2.3 Auswirkungen eines unterschiedlichen CC-Anteils auf das Verhalten des pH-Wertes

Grundsätzlich sollte die Frage geklärt werden, ob Zemente deren CC-Anteil bei der Synthese des Tetracalciumphosphats reduziert war, einen anderen pH-Wert zeigen, als Zemente deren CC-Anteil nicht reduziert war. Die Untersuchungen wurden für einen Zusatz von 10% TiO_2 durchgeführt. Im CC-Anteil nicht reduzierte Zementformulierungen führen im Rahmen der Messung in Zementpaste zu höheren pH-Werten als die im CC-Anteil reduzierten Formulierungen. Die Differenz liegt bei etwa 1,3 Einheiten (Tabelle 6 und Abbildung 7).

Tabelle 6: Einfluss eines unterschiedlichen CC-Anteils auf den pH-Wert einer Zementpaste mit 0,25M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ als flüssiger Phase, 10% TiO_2 wurden der TTCP-Basismischung trocken zugesetzt.

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO_2 (%)	pH-Wert Paste
11,01	11,56	10	9,6
8,81	11,56	10	8,3
11,01	11,56	-----	9,32

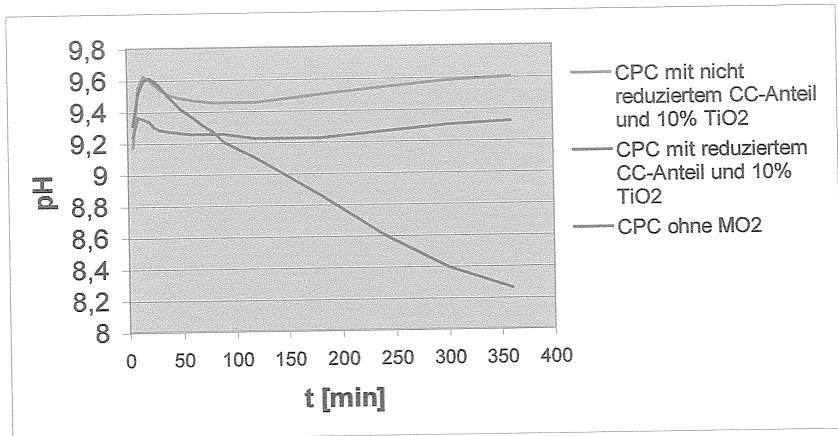


Abbildung 7: Einfluss eines unterschiedlichen CC-Anteils auf den pH-Wert der Zementpaste mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase, 10 % TiO_2 wurden der TTCP-Basismischung trocken zugesetzt.

Im Allgemeinen sind bei der pH-Wert Ermittlung in physiologischer Umgebung die pH-Werte niedriger, als die pH-Werte der Pastenmessung. Dennoch bewirken auch bei diesem Verfahren Zementformulierungen mit nicht reduziertem CC-Anteil einen höheren pH-Wert zwischen 7,7 und 8,05. Dagegen bewegen sich die pH-Werte der reduzierten Formulierungen zwischen 7,5 und 7,6 und sind somit nah am physiologischen pH-Wert (Tabelle 7 und Abbildung 8).

Tabelle 7: Einfluss eines unterschiedlichen CC-Anteils auf den pH-Wert eines CPC ermittelt in physiologischer Umgebung, TiO_2 wurde TTCP-Basismischung trocken zugesetzt mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO_2 (%)	pH-Wert Hepes
11,01	11,56	5	7,7
9,91	11,56	5	7,6
11,01	11,56	----	7,6

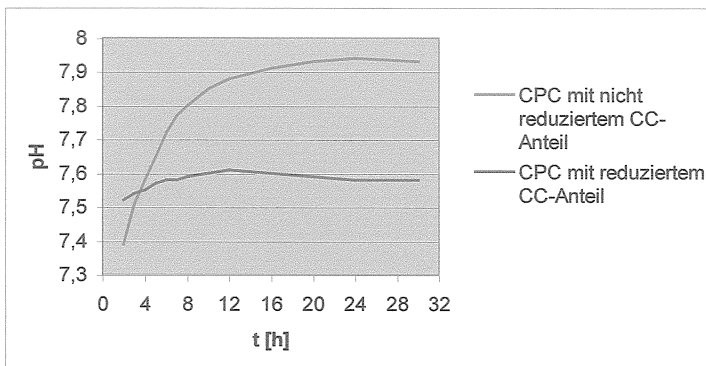


Abbildung 8: Einfluss eines unterschiedlichen CC-Anteils auf den pH-Wert eines CPC ermittelt in physiologischer Umgebung, 10% TiO_2 wurde der TTCP-Basismischung trocken zugesetzt mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase

4.2.4 Einfluss von Natriumphosphat auf das Verhalten des Protolysegrades

Wie Tabelle 8 und Abbildung 9 zu entnehmen ist, zeigen Zementformulierungen mit NaPh einen leicht erhöhten pH-Wert, ermittelt in Zementpaste im Vergleich zu den Zementformulierungen ohne NaPh. Die Erhöhung des pH-Wertes ist mit 0,2-0,5 Einheiten allerdings als sehr geringfügig einzuschätzen, da der Gesamt-pH-Wert durch die Anwesenheit von NaPh nicht verändert wird. Bei allen hier vorliegenden Messungen wurde kein als physiologisch geltender pH-Wert erreicht. Die An- oder Abwesenheit von NaPh verursacht bei der pH-Wertmessung in physiologischer Umgebung keine Veränderungen des pH-Wertes (Tabelle 8).

Tabelle 8: Einfluss von NaPh auf den pH-Wert eines CPC mit Wasser oder 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase, pH-Wert ermittelt in Zementpaste oder physiologischer Umgebung (HEPES), TiO_2 wurde TTCP-Basismischung nass zugesetzt

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO_2 (%)	Flüssige Phase	pH-Wert Paste	pH-Wert Hepes
11,01	11,56	10	Wasser	9,4	8,00
11,01	11,56	10	0,25M NaPO4	9,6	8,00

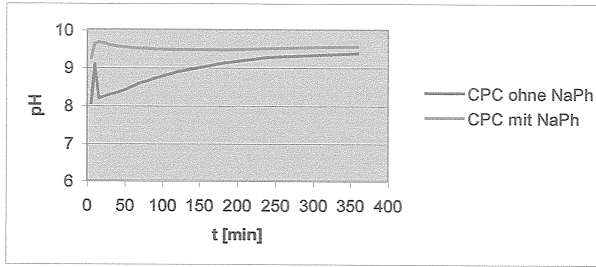


Abbildung 9: Einfluss der Zusammensetzung der flüssigen Phase (Wasser oder 0,25M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$) auf den pH-Wert eines CPC ermittelt in der Zementpaste, 10% TiO_2 wurde TTCP- Basismischung jeweils nass zugesetzt

4.2.5 Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz der Metalloxide

Die Schwankungen der in wässriger Umgebung ermittelten pH-Werte zwischen trocken- bzw. nass zugesetzten MO_2 liegen zwischen 0 und 0,2 Einheiten und sind somit als nicht ausschlaggebend einzustufen. Es wurden keine pH-Werte um 7,4 erreicht (Tabelle 9 und Abbildung 10).

Tabelle 9: Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz von TiO_2 zur TTCP-Basismischung auf den pH-Wert eines CPC in der Zementpaste bzw. in physiologischer Umgebung (HEPES) mit 0,25M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ als flüssiger Phase

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO_2 (%)	nass/trocken	pH-Wert Paste	pH-Wert HEPES
11,01	11,56	10	trocken	9,6	-
11,01	11,56	10	nass	9,6	-
8,81	11,56	10	trocken	-	7,5
8,81	11,56	10	nass	-	7,5

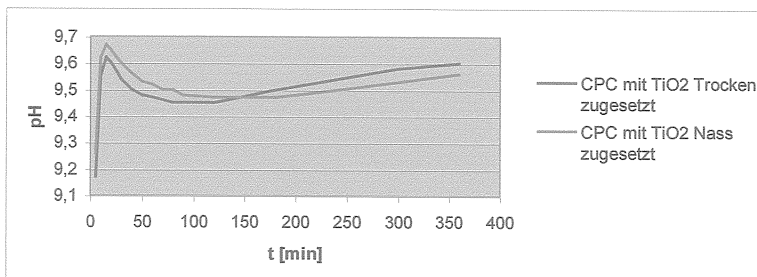


Abbildung 10: Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz von 10% TiO_2 in die TTCP-Basismischung auf den pH-Wert eines CPC, ermittelt in Zementpaste, mit 0,25M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 / \text{Na}_2\text{HPO}_4$ als flüssiger Phase

Im Rahmen der pH-Wertmessung in physiologischer Umgebung liegen die Schwankungen der pH-Werte zwischen 0 und 0,2 Einheiten. Das Messergebnis fällt somit genau so aus, wie die pH-Wertmessung in Zementpaste. Allerdings ist deutlich hervorzuheben, dass die Messung in physiologischer Umgebung zu weitaus physiologischeren pH-Werten führt. Ein pH-Wert von 7,5 wurde mit einer im CC-Anteil reduzierten, mit NaPh versetzten und 10% TiO₂-Zusatz Zementformulierung erzielt. Zu diesen Betrachtungen ist festzuhalten, dass es keinen Unterschied ergibt, ob Metalloxide denn CPC nass- oder trocken zugesetzt sind (Abbildung 11).

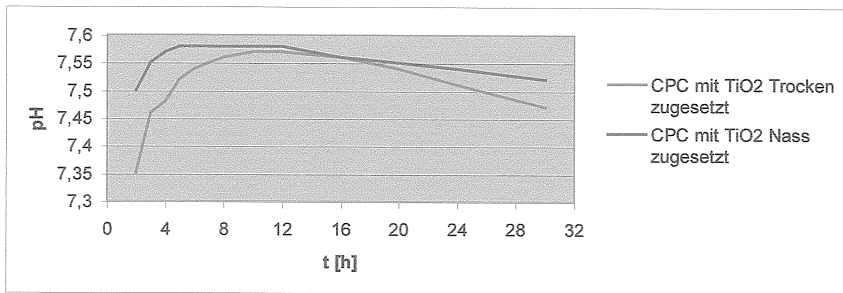


Abbildung 11: Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz von 10% TiO₂ in die TTCP-Basismischung auf den pH-Wert eines CPC mit 0,25M NaH₂PO₄ / Na₂HPO₄ als flüssiger Phase in physiologischer Umgebung (HEPES)

4.3. Initiale Abbindezeiten von Calciumphosphat-Zementen

Die Abbindezeit (*setting time*, ST) eines Zementes ist gleich zu setzen mit der Zeitspanne zwischen Anmischung und Aushärtung und wird über die Penetrationsmethode nach Gilmore bestimmt. Die hierfür verwendete Gilmore-Nadel steht für eine bestimmte Krafteinwirkung und ist über eine in Tabelle 10 aufgeführte Größe definiert:

Tabelle 10: Gewichts- und Größenmaß der im Versuch verwendeten Gilmore-Nadel

Nadel	Gewicht (g)	Durchmesser (mm)
G1	113,398	2,117

Um die Verdunstung von Wasser aus der Zementpaste während der Abbindereaktion zu vermeiden, wurden die Abbindezeiten in einer auf 37°C und mehr als 90% relative Luftfeuchte klimatisierten Kammer durchgeführt. Ziel dieser Untersuchung war es, Unterschiede bei Zementformulierungen mit oder ohne Natriumphosphat, bei unterschiedlichen Metalloxid-Zusätzen oder bei im CC-Anteil reduzierten bzw. nicht reduzierten Mischungen darzustellen und herauszuarbeiten. Als flüssige Phase wurde *Aqua ad injectabilia* verwendet. Die Untersuchungen zur initialen Abbindezeit wurden bei verschiedenen P/L-Verhältnissen durchgeführt.

Zunächst sollte geklärt werden, ob der Zusatz von MO_2 allgemein zu einer Veränderung der Abbindezeit führt. Vergleichende Analysen führten zu dem Ergebnis, dass der Zusatz von MO_2 die initiale Abbindezeit etwas verkürzt, unabhängig vom P/L-Verhältnis. Wie aus Tabelle 11 ersichtlich wird, verkürzte die Zugabe von 5% TiO_2 bei einem P/L-Verhältnis von 3,3:1 die initiale Abbindezeit um 3,5 min, während sich die initiale Abbindezeit bei einem reduzierten Anteil der flüssigen Phase um 6,6 min verkürzte.

Tabelle 11: Einfluss von MO_2 im Allgemeinen auf die Ermittlung der initialen Abbindezeit eines CPC durch die Penetrationsmethode nach Gilmore, MO_2 wurde TTCP-Basismischung nass zugesetzt, ohne NaPh

CC (mol)	DCPA (mol)	MO_2 (%)	ST 3,3:1	ST
9,91	11,56	-----	25,5	22,5
9,91	11,56	5% TiO_2	22	16

4.3.1 Einfluss unterschiedlicher Metalloxide auf die initiale Abbindezeit

Es wurden TiO_2 , SiO_2 und ZrO_2 jeweils in einem molaren Verhältnis von CC 9,91(mol): DCPA 11,56 (mol) den Zementen nass zugesetzt. Dieses molare Verhältnis entspricht einem Zusatz des Metalloxides von 5%. Aus Tabelle 12 geht hervor, dass SiO_2 und TiO_2 -Zusätze bei variablen P/L-Verhältnissen zu längeren initialen Abbindezeiten führen, als ein 5% ZrO_2 -Zusatz.

Tabelle 12: Einfluss unterschiedlicher Metalloxide auf die initiale Abbindezeit eines CPC ermittelt durch die Penetrationsmethode nach Gilmore, MO_2 wurde TTCP-Basismischung nass zugesetzt, mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase

CC (mol)	DCPA (mol)	MO2 (%)	ST 3,3:1	ST 4:1
9,91	11,56	5% SiO_2	7,5	4,0
9,91	11,56	5% TiO_2	7,5	3,5
9,91	11,56	5% ZrO_2	5,5	3,0

4.3.2 Einfluss unterschiedlicher prozentualer TiO_2 - Zusätze auf die initiale Abbindezeit

Die Untersuchungen zeigen, dass bei variablen P/L-Verhältnissen ein Zusatz von 10% TiO_2 zu kürzeren initialen Abbindezeiten führt, als Zusätze von 5 und 20% (Tabelle 13). Bei einem P/L-Verhältnis von 3,3:1 liegt die ST bei einem 5% Zusatz zwischen 5,5-22 min, bei 10% Zusatz zwischen 2,5-12 min und bei einem 20% Zusatz zwischen 4-18 min. Und bei einem reduzierten Anteil der flüssigen Phase liegt die ST bei 5% Zusatz zwischen 5-16 min, bei einem 10% Zusatz zwischen 1,8-7 min und bei einem 20% Zusatz zwischen 1,8-13 min. Die Zugabe höherer prozentualer MO_2 -Zusätze verkürzt die ST um etwa 4-10 min.

Tabelle 13: Einfluss unterschiedlicher prozentualer TiO_2 -Zusätze auf die initiale Abbindezeit eines CPC ermittelt durch die Penetrationsmethode nach Gilmore, TiO_2 wurde TTCP nass zugesetzt, ohne 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO_2 (%)	ST 3.3:1	ST 4:1
9,91	11,56	5	22	16
9,91	11,56	10	12	7
9,91	11,56	20	18	13

4.3.3 Auswirkungen eines unterschiedlichen CC-Anteils auf die initiale Abbindezeit

Grundsätzlich sollte die Frage geklärt werden, ob Zemente deren CC-Anteil reduziert ist eine andere initiale Abbindezeit aufweisen, als Zemente deren CC-Anteil nicht reduziert ist. Die Untersuchungen wurden innerhalb der TiO_2 -Reihe durchgeführt. Die Vergleiche zeigten, dass im P/L-Verhältnis 3,3:1 5% TiO_2 bei im CC-Anteil reduzierten CPC zu einer kürzeren Abbindezeit führen als 5% TiO_2 bei CPC mit 100% CC-Anteil. Dagegen führen bei gleichem P/L-Verhältnis 10 %

TiO₂ bei CPC mit 100% CC-Anteil zu der kürzeren initialen Abbindezeit.

Tabelle 14: Auswirkungen eines unterschiedlichen CC-Anteils auf die initiale Abbindezeit eines CPC ermittelt durch die 0,25M NaH₂PO₄ / Na₂HPO₄ als flüssiger Phase

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO ₂ (%)	ST 3,3:1
11,01	11,56	5	22
9,91	11,56	5	14

Anders verhält es sich bei einem reduzierten Anteil der flüssigen Phase. Hier führt ein 5%iger TiO₂-Zusatz bei einem im CC-Anteil nicht reduzierten CPC mit 2 min zu der kürzesten initialen Abbindezeit. Dieser CPC ist mit NaPh versetzt und TiO₂ wurde der TTCP-Basismischung trocken zugesetzt. Dagegen führt bei einem CPC, welcher im CC-Anteil reduziert ist und TiO₂ der TTCP-Basismischung nass zugesetzt wurde mit 10 min zu der kürzesten initialen Abbindezeit. Ob dieser Unterschied auf die An- oder Abwesenheit von NaPh oder ob das MO₂ trocken oder nass zugesetzt wurde zurückzuführen ist, sollte in weiterführenden Untersuchungen geklärt werden. Generell führen 10 % TiO₂ Zusatz zu einer kürzeren initialen Abbindezeit unabhängig davon, ob NaPh zugesetzt ist oder nicht oder auf welche Art und Weise das MO₂ der TTCP-Basismischung zugesetzt wurde.

4.3.4 Einfluss von Natriumphosphat auf die initiale Abbindezeit

Aus den vergleichenden Analysen wurde ersichtlich, dass NaPh-Zusätze als Abbindebeschleuniger fungieren. NaPh senkt die Abbindezeit im P/L-Verhältnis 3,3:1 im Schnitt um etwa 7-17 min, bei reduziertem Anteil der flüssigen Phase um etwa 3-12 min. Im P/L-Verhältnis 4:1 ist die initiale Abbindezeit grundsätzlich etwas kürzer und wird durch die Zugabe von NaPh noch zusätzlich verkürzt.

Tabelle 15: Einfluss der An- oder Abwesenheit von Natriumphosphat auf die initiale Abbindezeit eines CPC ermittelt durch die Penetrationsmethode nach Gilmore, TiO₂ wurde der TTCP-Basismischung trocken zugesetzt

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO ₂ (%)	Flüssige Phase	ST 3,3:1	ST 4:1
11,01	11,56	5	Wasser	16	12
11,01	11,56	5	NaPO ₄	5,5	2

4.3.5 Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz der Metalloxide zur TTCP-Basismischung auf die initiale Abbindezeit

Trocken zugesetzte MO_2 führen im Zusammenhang mit NaPh zu kürzeren initialen Abbindezeiten, als Nass zugesetzte MO_2 . Bei CPC, welche nicht mit NaPh versetzt sind, führen nass zugesetzte MO_2 zu kürzeren Abbindezeiten (Tabelle 16). Die initialen Abbindezeiten sind, wie bei allen vorangegangenen Untersuchungen, generell bei einer reduzierten flüssigen Phase etwas niedriger. Dennoch zeigt sich hier die gleiche Regelmäßigkeit wie bei CPC, deren flüssige Phase im Mischungsverhältnis nicht reduziert wurde.

Tabelle 16: Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz von TiO_2 zur TTCP-Basismischung auf die initiale Abbindezeit eines CPC ermittelt durch die Penetrationsmethode nach Gilmore, mit NaPh

CC (mol)	D CPA (mol)	TiO_2 (%) nass/ trocken	flüssige Phase	ST 3,3:1	ST 4:1
11,01	11,56	10% TiO_2 trocken	NaPO_4	2,5	1,8
11,01	11,56	10% TiO_2 nass	NaPO_4	5	4
11,01	11,56	20% TiO_2 trocken	Wasser	16	12
11,01	11,56	20% TiO_2 nass	Wasser	6	2,5

4.4. Mechanische Festigkeit von Calciumphosphat-Zementen

Um als Knochenersatzmaterial Anwendung zu finden, ist eine ausreichende Festigkeit eines Calciumphosphat-Zementes ausschlaggebend. Die Mindestanforderung für einen kommerziellen Knochenersatzwerkstoff in bezug auf die Druckfestigkeit liegt bei mindestens 50 MPa, während die Mindestanforderung für die diametrale Zugfestigkeit bei 8 MPa liegt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Druck- bzw. diametrale Zugfestigkeit verschiedener Zementformulierungen anhand eines validierten Messverfahrens mit definierten Prüfkörpern bestimmt. Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand im Wesentlichen, ob der Zusatz verschiedener Metalloxide Einfluss auf das mechanische Verhalten der Zemente nimmt. Untersucht wurden Zemente, die nach röntgendiffraktometrischer Analyse eine Abbindereaktion zeigen. Als flüssige Phase wurde *Aqua ad injectabilia* bzw. eine 0,25Mol Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 Lösung verwendet.

Die Anmischung der Zemente erfolgte bei variablen P/L-Verhältnissen. Aus einem Großteil der Zementformulierungen ließen sich Prüfkörper in guter Qualität herstellen. Nach Entnahme aus der gesättigten HA-Lösung wiesen einige Prüfkörper deutliche Verdichtungsmängel auf, so dass sie nicht in die entsprechende Auswertung aufgenommen werden konnten. Zunächst sollte geklärt werden, ob Metalloxide grundsätzlich Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften von CPC nehmen. Es zeigte sich, dass sowohl in bezug auf die Druckfestigkeit als auch auf die diametrale Zugfestigkeit der Zusatz von Metalloxiden eine deutliche Festigkeitssteigerung zur Folge hatte.

4.4.1 Einfluss unterschiedlicher Metalloxide auf die mechanische Festigkeit

Es wurden 5% TiO_2 , SiO_2 und ZrO_2 jeweils in einem molaren Verhältnis von CC 11,01 mol : DCPA 11,56 mol der TTCP-Basismischung eines CPC nass zugesetzt. Die Druckfestigkeit und die diametrale Zugfestigkeit nehmen in der Reihenfolge $\text{TiO}_2 > \text{SiO}_2 > \text{ZrO}_2$ ab, liegen in allen Fällen aber höher als die entsprechenden Werte des nicht dotierten Referenz-Zementes.

Tabelle 17: Einfluss unterschiedlicher Metalloxidzusätze auf die mechanische Festigkeit eines CPC, ermittelt im Druckversuch (CS) und im diametralen Zugversuch (DTS) mit 0,25M NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 als flüssiger Phase; P/L-Verhältnis 3,3:1.

CC (mol)	DCPA (mol)	MO_2 (%)	CS (MPa)	DTS (MPa)
11,01	11,56	-	62,1 ± 11,3	7,6 ± 0,6
11,01	11,56	5% TiO_2	102,9 ± 9,9	9,1 ± 0,7
11,01	11,56	5% SiO_2	79,5 ± 5,7	8,1 ± 0,7
11,01	11,56	5% ZrO_2	68,8 ± 11,5	7,6 ± 1,3

4.4.2 Einfluss unterschiedlicher prozentualer Zusätze von TiO_2 auf die mechanische Festigkeit bei im CC-Anteil nicht reduzierten Zementformulierungen

Die Zemente wurden im Rahmen dieser Untersuchung jeweils mit 5%, 10% oder mit 20% TiO_2 versetzt. Für eine 5%-ige Zugabe von TiO_2 konnte die höchste Druckfestigkeit mit 105 MPa bei einem mit NaPh versetzten und nassgemischten Zement im P/L-Verhältnis von 3,3:1 erreicht werden. Allerdings wies diese

Zementformulierung gleichzeitig die niedrigste diametrale Zugfestigkeit für eine mit 5% MO_2 versetzte Zementformulierung auf. Grundsätzlich konnte bei allen mit TiO_2 versetzten Zementen eine den Mindestanforderungen entsprechende Druckfestigkeit erreicht werden. Die Mindestanforderung der diametralen Zugfestigkeit konnte nur in einzelnen Fällen erreicht werden.

Tabelle 18: Druckfestigkeit und diametrale Zugfestigkeit von Zementformulierungen mit unterschiedlichem Metalloxidanteil; TiO_2 wurde der TTCP-Basismischung aus 11,01 mol CC und 11,56 mol DCPA nass zugesetzt

TiO_2 (%)	Flüssige Phase	ιCS (MPa) 3,3:1	ιDTS (MPa) 3,3:1	ιCS (MPa) 4:1	ιDTS (MPa) 4:1
5	Wasser	98 ± 9,7	8,34 ± 1,22	95,31 ± 9,15	6,46 ± 1,75
10		104 ± 25,62	8,72 ± 1,45	104,75 ± 10,4	8,00 ± 1,9
20		111,71 ± 8,06	8,91 ± 1,28	107 ± 6,36	8,71 ± 2,42
5	NaPO_4	105,5 ± 12,3	5,1 ± 2,6	89,54 ± 13,9	9,00 ± 1,92
10		103,2 ± 13,31	8,54 ± 1,97	113,72 ± 39,8	8,62 ± 1,3
20		90,72 ± 10,27	7,87 ± 1,48	95,45 ± 9,31	7,4 ± 2,2

Die Zugabe von 20% TiO_2 bedingte die mit durchschnittlich ca. 112 MPa höchste Druckfestigkeit bei einer nassgemischten Zementformulierung ohne NaPh im P/L-Verhältnis 3,3:1. Eine nahezu ausreichende diametrale Zugfestigkeit von durchschnittlich 9 MPA konnte ebenfalls mittels der trockengemischten Zementformulierung ohne NaPh erreicht werden. Auch bei dieser Formulierung ist die Druckfestigkeit mit ca. 100 MPA sehr hoch. Zu diesen Betrachtungen ist festzuhalten, dass die Zugabe von 5%, 10% und 20% in der Zementformulierung welche trockengemischt und ohne NaPh ist die besten Ergebnisse erzielt. Die Zugabe von 5% und 10% TiO_2 sollte im P/L-Verhältnis 3,3:1 und die Zugabe von 20% TiO_2 sollte im P/L-Verhältnis 4:1 erfolgen. Es kann für alle hier untersuchten Zemente die Aussage getroffen werden, dass eine erhöhte Zugabe von TiO_2 nicht gleichbedeutend ist mit einer erhöhten mechanischen Festigkeit. Ebenfalls führt ein reduziertes P/L-Verhältnis tendenziell zu einer leichten Erhöhung der mechanischen Festigkeiten, was aber keinen gravierenden Einfluss auf das Gesamtergebnis nimmt.

4.4.3 Einfluss unterschiedlicher prozentualer Zusätze von TiO_2 auf die mechanische Festigkeit bei im CC-Anteil reduzierten Zementformulierungen

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden die Zemente jeweils mit 5 bzw. 10 % TiO_2 versetzt und mit Wasser bzw. 0,25 Mol NaPO_4 Lösung ausgehärtet. Die höchste Druckfestigkeit für einen 5%-igen TiO_2 -Zusatz konnte mit durchschnittlich 104 MPa und gleichzeitig die höchste diametrale Zugfestigkeit mit ca. 10 MPa bei einem nassgemischten Zement ohne NaPh bei einem P/L-Verhältnis von 3,3:1 erreicht werden. Dagegen wurde mit durchschnittlich 72 Mpa die höchste Druck- und mit ca. 10 Mpa die höchste Zugfestigkeit bei einer nassgemischten Zementformulierung mit NaPh für einen 10%-igen TiO_2 -Zusatz erreicht. Offensichtlich spielt bei reduzierten Zementformulierungen der NaPh-Anteil eine wichtige Rolle, denn für einen 5%-igen TiO_2 -Zusatz werden ohne NaPh sehr gute mechanische Festigkeiten erreicht, während für eine 10%-igen Zusatz eine Formulierung mit NaPh benötigt wurde, um ausreichend gute Ergebnisse zu erzielen. Wie auch bei den Zementformulierungen mit nicht reduziertem CC-Anteil gilt auch hier, dass eine Erhöhung des TiO_2 -Zusatzes nicht gleichbedeutend mit einer Erhöhung der mechanischen Festigkeit ist. Ein verändertes P/L-Verhältnis führt auch hier zu einer minimale Festigkeitssteigerung, welche aber nicht zu entscheidenden Änderungen in bezug auf die Festigkeit beiträgt.

Tabelle 19: Auswirkung unterschiedlicher prozentualer TiO_2 -Zusätze (der TTCP-Basismischung nass zugeetzt) auf die mechanische Festigkeiten von CPC ermittelt im Druckversuch (CS) und im diametralen Zugversuch (DTS), P/L-Verhältnis 3,3:1

CC (mol)	DCPA (mol)	TiO_2 (%)	flüssige Phase	CS (MPa)	DTS (MPa)
11,01	11,56	5	NaPO ₄	105,51 ± 12,3	5 ± 2,56
9,91	11,56	5		67,6 ± 12,6	8,7 ± 11
11,01	11,56	10		103,2 ± 13,3	8,54 ± 2
8,81	11,56	10		72 ± 8,3	10,4 ± 1,4
11,01	11,56	5	Wasser	102,9 ± 9,9	9,1 ± 0,7
9,91	11,56	5		104,3 ± 8,5	10,0 ± 1,0
11,01	11,56	10		104 ± 25,6	8,72 ± 1,5
8,81	11,56	10		55,4 ± 5,9	7,42 ± 1,1

4.4.4 Einfluss von Trocken- oder Nasszusatz der Metalloxide auf die mechanische Festigkeiten bei unterschiedlichem PL-Verhältnis

Die Versuchsergebnisse zeigen, dass die Druckfestigkeit der Zementformulierungen bei einem P/L-Verhältnis von 3,3:1 bei nass zugesetzten MO_2 ansteigen. Die Steigerung ist als gering einzustufen und liegt zwischen ca. 1 - 6 MPa. Die diametrale Zugfestigkeit dagegen sinkt tendenziell eher bei nass zugesetzten MO_2 . Das Absinken liegt zwischen ca. 0,5 - 2,5 MPa. Diese Ergebnisse sind gleichermaßen auf das P/L-Verhältnis 4:1 übertragbar. Somit beeinflussen trocken- bzw. nass zugesetzte MO_2 die mechanischen Festigkeiten nicht maßgeblich.

Tabelle 20: Einfluss von Trocken- bzw. Nasszusatz von TiO_2 zur TiO_2 -Basismischung (11,01 mol CC und 11,56 mol DCPA) auf die mechanische Festigkeit der Zemente bei unterschiedlichem PL-Verhältnis mit Wasser als flüssiger Phase

TiO_2 (%)	Mischung	σ_{CS} (MPa)	σ_{DTS} (MPa)	σ_{CS} (MPa)	σ_{DTS} (MPa)
		3,3:1	3,3:1	4:1	4:1
5	trocken	94,5 ± 11,7	9,8 ± 1,5	103 ± 6,6	8,9 ± 1,5
5	nass	98 ± 9,7	8,3 ± 1,2	95,3 ± 9,2	6,5 ± 1,8
10	trocken	103 ± 13,8	10,6 ± 1,6	95 ± 17,2	7,2 ± 1,2
10	nass	104 ± 25,6	8,7 ± 1,5	105 ± 10,4	8 ± 1,9
20	trocken	94,1 ± 8,3	7,8 ± 1,9	100 ± 16,8	9,2 ± 2,0
20	nass	112 ± 8,1	9 ± 1,3	107 ± 6,4	8,7 ± 6,4

4.5. Phasenzusammensetzung nach Aushärtung

Die Zusammensetzung der Zemente nach definierter Aushärtung wurde durch Röntgenbeugung (XRD) nach 24h bei 37°C bestimmt. Typische Diffraktogramme sind in Abbildung 12 für den Zusatz von jeweils 10% Metalloxid zur TTCP Komponente bei nicht reduziertem Calciumcarbonatanteil dargestellt.

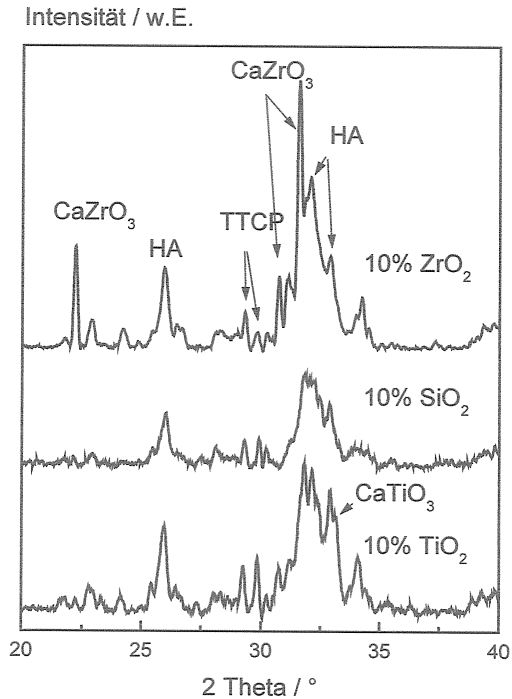


Abbildung 12: Röntgendiffraktogramme von CPC nach Aushärtung; die Zementkomponente TTCP wurde mit 10% Metalloxid ohne Reduktion des Calciumcarbonat-Anteils dotiert

Die Diffraktogramme zeigen jeweils das typische Beugungsmuster von gering kristallinem Hydroxylapatit mit Reflexen bei ca. 25,8° und Bereich von 31,0 – 35,0°. Daneben sind im Fall von ZrO₂ noch Calciumzirkonat und im Fall von TiO₂ Calciumtitanat nachweisbar, die bei der thermischen Synthese der Tetracalciumphosphate gebildet wurden. Es ist somit davon auszugehen, dass beide Phasen nicht nennenswert an der Abbindereaktion beteiligt sind. Für SiO₂ kann keine weiter kristalline Phase nachgewiesen werden, vermutlich hat aber die primär bei der Synthese gebildete Ca-Silikat Glasphase analog zu der Abbindereaktion Silikatbasierter Portlandzemente durch Quellung reagiert.

5. Diskussion

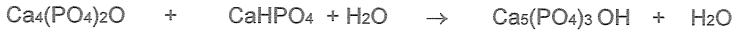
Mineralische Calciumphosphat-Knochenzemente vereinen die Vorteile der Gewebeverträglichkeit und freien Formbarkeit mit der mechanischen Stabilität des Implantats. Seit der Entwicklung der ersten abbindefähigen Zementsysteme aus TTCP und DCPA durch Brown und Chow 1983 [99], wurden eine ganze Reihe verschiedener Zementsysteme in der Fachliteratur beschrieben und seit Mitte der neunziger Jahre erfolgreich als Medizinprodukte der Klasse 2b in den Markt eingeführt, vorwiegend mit der Indikation zur Defektfüllung in nicht-lastragenden Bereichen. Die Zemente bestehen aus ein- bzw. mehrkomponentigen Mischungen verschiedener Calciumorthophosphate und binden nach Pastenformung mit einem wässrigen Elektrolyten über einen Lösungs / Präzipitations-Mechanismus ab. Da alle Reaktionen bei physiologischen Temperaturen ablaufen, können in die Zementmatrix Wirkstoffe, wie Antibiotika oder Wachstumsfaktoren [100, 101] und sogar lebende Zellen [102] eingebracht werden. Das Endprodukt der Abbindereaktion hängt vom pH-Wert und der Temperatur während der Reaktion ab. Bei physiologischer Temperatur entsteht im Bereich $\text{pH} > 4,2$ nanokristalliner Hydroxylapatit unterschiedlicher Stöchiometrie, für $\text{pH} < 4,2$ wird Brushit erhalten.

Kennzeichen von Calciumphosphat-Zementen ist eine mechanische Stabilität der Zementpaste (Festigkeit) nach der Abbindereaktion, die aus einer Verfilzung der bei der Reaktion gefällten Kristallite herrührt. Dieses Verhalten unterscheidet CPC von den als Granulat oder Pulver eingesetzten β -Tricalciumphosphat-Keramiken. Letztere zeigen aufgrund der zu geringen Löslichkeit (keine Übersättigung von Elektrolyt gegenüber HA) keine Abbindereaktion und führen somit zu keiner strukturellen Verfestigung nach Einbringung in den Körper. β -TCP Granulat wird deshalb oftmals mit Eigenblut oder plättchenreichem Plasma (PRP) [103, 104] gemischt, um durch eine organische Vernetzung der Partikel durch Koagulation wenigstens ein Auswaschen nach Implantation zu vermeiden. Das Vorgehen führt allerdings zu keiner nennenswerten mechanischen Widerstandsfähigkeit des Knochenersatzwerkstoffs, aus diesem Grund werden β -TCP Granulate ausschließlich in mehrflächig gedeckten Knochendefekten, beispielsweise im Bereich des Kieferknochens, angewandt, in denen keine

funktionelle oder externe Krafteinleitung in den Werkstoff zu befürchten ist. Demgegenüber finden CPC klinische Anwendung in exponierten Bereichen des Skelettsystems, beispielsweise der Schädelkalotte oder der Orbitaregion. Obwohl diese Anwendungsorte im nicht-(funktionell) kraftbelasteten Bereichen des Skelettsystems liegen, ist hier eine mechanische Stabilität des Implantats notwendig, um bei externer, temporärer Krafteinwirkung genügend Widerstandskraft zum Schutz des darunter liegenden Weichgewebes zu bieten.

Die mechanischen Eigenschaften von Calciumphosphat-Zementformulierungen waren Gegenstand einer Vielzahl von Arbeiten. Die beschriebenen Druckfestigkeiten der Zemente bewegten sich zwischen 10-83 MPa für apatitbildende aus TTCP / DCPA Pulvern [105-107] und zwischen 1-60 MPa für bruschitbildende [108] Zemente. Die Festigkeit von kompaktem Knochen wird zum Vergleich mit 90-209 MPa angegeben [109]. Allerdings ist ein Vergleich der von unterschiedlichen Arbeitsgruppen erhaltenen Zement-Festigkeiten nur bedingt möglich, da die Herstellung der zur Testung verwendeten Prüfkörper deren Festigkeit entscheidend beeinflusst. Ebenso sind, im Gegensatz zur Abbindezeit, die angegebenen Festigkeiten durch den Anwender nur bedingt zu erreichen, da die Herstellungsbedingungen im Labor (Kompression der Zementpaste, Oberflächengüte der Probenform, definierte Temperatur und Luftfeuchte) bei der klinischen Anwendung nicht eingestellt werden können. Festigkeitsbeeinflussende Faktoren in Zementen sind maßgeblich die Umsetzungsrate, die Defekthäufigkeit und -größe sowie die durch die flüssige Zementphase verursachte Porosität des Zementgefüges [79, 81].

Die vorliegende Arbeit verfolgte den Ansatz, durch Dotierung von Zementkomponenten mit biokompatiblen Metalloxiden die mechanische Stabilität zu steigern, ohne andere klinisch wichtige Eigenschaften, wie die Abbindezeit oder den pH-Wert in physiologischer Umgebung zu verändern. Zum Einsatz kam ein zweikomponentiges Zementssystem aus saurem Calciumhydrogenphosphat (DCPA, Monetit) und basischem Tetracalciumphosphat (TTCP), das in wässriger Phase nach Gleichung 13 zu Hydroxylapatit geringer Kristallinität reagiert:



TTCP

DCPA

Hydroxylapatit

Die Modifikation des Zements mit den Metalloxiden TiO_2 , ZrO_2 und SiO_2 erfolgte anhand der basischen Tetracalciumphosphat-Komponente während des Herstellungsvorgangs. Hierzu wurden die Metalloxid-Pulver der zur Synthese nötigen Mischung aus Calciumcarbonat und Calciumhydrogenphosphat in Konzentrationen von 5-20Gew.% zugegeben. Die Pulver sind während der TTCP Synthese reaktiv und werden nach röntgendiffraktometrischer Analyse mit Calciumcarbonat zu den entsprechenden Calciummetallaten umgesetzt. Die Reaktion ist für die Bildung von Calciumtitanat aus TiO_2 in Gleichung 14 beschrieben:



Die Sinterkuchen wurden anschließend manuell mit dem Mörser zerkleinert. Auffallend war, dass speziell für die Dotierung mit TiO_2 , die Härte und Dichte des Sinterkuchens deutlich größer war als die des reinen TTCP-Werkstoffs oder der mit SiO_2 und ZrO_2 dotierten Materialien. Die hiernach folgende Mahlung in einer Planetenkugelmühle lieferte bei gleichen Mahlparametern mittlere Korngrößen von ca. 10.05 - 12.08 μm , die vergleichbar mit reinem TTCP (11.7 μm) waren.

Ermittlung des Protolysegrades

Der Protolysegrad wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit sowohl in der Zement-Paste als auch in physiologischer Umgebung (Hepes-Puffer) eines abgebundenen Prüfkörpers untersucht. Erstere Methode ermöglicht Aussagen über die Abbindereaktion, während die zweite zur Abschätzung des biologischen Verhaltens dient. Die vorliegenden Versuchsergebnisse zeigen, dass bei einer Zugabe der Metalloxide TiO_2 , ZrO_2 und SiO_2 zu CPC ein Abfall des pH-Werts der Zementpaste von ca. 9,3 (nicht dotiert) auf etwa 8,8-9,0 Einheiten bei 5% Metalloxid-Zusatz stattfindet. Höhere Konzentrationen an Metalloxid führen zu

einer weiteren Verringerung des pH-Werts. Der Effekt ist erklärbar durch die geringe Basizität und Löslichkeit der gebildeten Calciummetallate, die einen Teil des stark basischen TTCPs substituieren und somit den Protolysegrad im Zement absenken, da der Masseanteil von TTCP sinkt. Werden die pH-Messung in physiologischer Umgebung durchgeführt, dann sind durch die Pufferwirkung der HEPES-Lösung die Unterschiede deutlich geringer ausgeprägt, alle Zemente zeigten hier einen nahezu neutralen pH-Wert im Bereich von 7,5-8,0 Einheiten, so dass analog zum nicht dotierten Zement keine alkalische Schädigung von Hart- oder Weichgewebe zu erwarten ist. Keinen Einfluss auf den pH-Wert zeigte die An- oder Abwesenheit von NaPh in der Anmischflüssigkeit oder die Tatsache, ob die Metalloxide dem TTCP nass oder trocken zugesetzt wurden.

Ermittlung der initialen Abbindezeit

Die initialen Abbindezeiten von CPC sind für die klinische Anwendung von großer Bedeutung und sind in der Regel der einzige Parameter, der vom Anwender direkt nachvollzogen werden kann. Um eine gute Verarbeitung gewährleisten zu können, sollte die initiale Abbindezeit zwischen 3-8 min liegen und die finale Abbindezeit nicht länger als 15 min sein, um einen zeitnahen Wundverschluss nach Einbringung der Zementpaste zu ermöglichen [110]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Abbindezeit durch den Gilmore-Nadeltest ermittelt, bei dem nach ASTM-Spezifikation eine Nadel mit definiertem Durchmesser und Gewicht periodisch auf die Oberfläche abgesenkt wird und der Eindruck hiernach visuell bewertet wird. Die Methode besticht durch ihre einfache Handhabung und ist zur Bestimmung der Abbindezeiten mineralischer Knochenzemente oder verschiedener Dentalwerkstoffe ein anerkanntes und weit verbreitetes Verfahren [82]. Allerdings handelt es sich um ein sehr subjektives Verfahren, da die Beurteilung der Nadeleindrücke rein visuell erfolgt, so dass unterschiedliche Betrachter zu unterschiedlichen Ergebnissen führen können. Reproduzierbare Ergebnisse werden in der Regel nur im selben Labor und vom selben Anwender erreicht, um vergleichbare Ergebnisse in verschiedenen Laboratorien zu erhalten ist, eine Validierung im Ringversuch notwendig. Einflussnehmende Messparameter wie Temperatur oder Luftfeuchtigkeit müssen bei der Durchführung ebenfalls berücksichtigt werden, Abhilfe wurde in

der vorliegenden Arbeit dadurch geschaffen, dass die Apparatur in einer klimatisierten Feuchtigkeitskammer untergebracht wurde. Alternative und objektive Methoden zur Bestimmung der Abbindezeit sind beispielsweise Wechselstrom-Impedanz-Spektroskopie [84], gepulster Ultraschall-Reflexion [83] oder Differentielle Thermokalorimetrie [111] über die Wärmetönung der Abbindereaktion. Dabei kann mit reproduzierbaren Messparametern gearbeitet werden, so dass die Ergebnisse nicht von der Subjektivität des Durchführenden gekennzeichnet sind. Allerdings ist der apparative Aufwand der Methoden deutlich höher einzustufen als bei der Gilmore-Methode, so dass die beschriebenen Verfahren bisher keinen breiten Einsatz in der Prüfung von CPC gefunden haben.

Im Allgemeinen wurde durch Dotierung von TTCP mit Metalloxiden die initiale Abbindezeit unabhängig vom P/L-Verhältnis zwischen 3,5 und 7 min verkürzt. Ein 5%iger ZrO_2 -Zusatz verkürzte im Vergleich zu 5% SiO_2 und TiO_2 -Zusätzen die initiale Abbindezeit um etwa 2 min. Weiterhin führte ein 10%iger TiO_2 -Zusatz zu kürzeren initialen Abbindezeiten, als 5 und 20 % TiO_2 . Durch die Reduktion des CC-Anteils zeigt sich tendenziell eher eine Verkürzung der ST. NaPh ist als Abbindebeschleuniger anzusehen und verkürzt somit die ST um etwa 7-10 min. Trocken zugesetzte MO_2 führen im Zusammenhang mit NaPh zu kürzeren ST, als nass zugesetzte MO_2 . CPC welche nicht mit NaPh versetzt sind, erreichen kürzere Abbindezeiten, wenn das Metalloxid nass zugesetzt wird.

Mechanische Eigenschaften Metalloxiddotierter CPC

Wie bereits erwähnt, ist die Erhöhung der mechanischen Festigkeit zur Erweiterung des Anwendungsspektrums von CPC auf gering kraftbelastete Bereiche notwendig. Die mechanischen Eigenschaften der Zemente wurden in der vorliegenden Arbeit anhand eines validierten Prüfverfahrens bestimmt. Die hierzu verwendete Hebelarm-Apparatur wurde erstmals durch Chow im Jahre 2000 [112] beschrieben und ermöglicht die reproduzierbare Herstellung von defektfreien Prüfkörpern mit gleichbleibendem Durchmesser und Länge sowie einer hohen Oberflächengüte des Zements. Der undotierte Zement zeigte nach dem Prüfverfahren eine Druckfestigkeit von ca. 62 MPa und eine Zugfestigkeit

von ca. 7 MPa. Durch Modifikation der basischen TTCP-Komponente mit Metalloxiden konnte in vielen Fällen in Bezug auf die mechanischen Kennwerte eine deutliche Festigkeitssteigerung erreicht werden. Im Besonderen konnte durch die Dotierung mit TiO_2 eine deutliche Festigkeitssteigerung auf Werte über 100 MPa Druckfestigkeit und mehr als 9 MPa Zugfestigkeit erhalten werden, für SiO_2 und ZrO_2 fiel die Verstärkung mit Werten zwischen 69 MPa und 80 MPa bei 5% Dotierung weniger stark aus. Die erhaltenen mechanischen Kennwerte der Zemente sind allerdings nur Laborwerte, da die verwendete Methode der Prüfkörper-Herstellung eine Verdichtung der Zementpaste mit sich bringt. Hierbei wird Zementflüssigkeit aus der Paste gepresst und die Porosität der Zementmatrix verringert, diese wurde in der Vergangenheit als ein maßgeblicher Faktor der Festigkeit von CPC aufgezeigt [79]. Das bedeutet, dass unter realen klinischen Bedingungen niemals die Festigkeiten erreicht werden können, die unter Laborbedingungen erreicht werden konnten. Unter anwendungsnahen Bedingungen sinkt die mechanische Festigkeit um etwa die Hälfte im Vergleich zu Laborbedingungen.

Nicht abschließend geklärt werden konnte der Mechanismus der Verstärkung der Zementmatrix nach Dotierung mit Metalloxiden. Nach röntgendiffraktometrischer Untersuchung kann zumindest für TiO_2 und ZrO_2 als Zusatz ein chemischer Mechanismus ausgeschlossen werden. Beide Verbindungen liegen nach dem Sintervorgang als schwerlösliche Calciummetallate vor und gehen nicht in die Abbindereaktion des Zements mit ein. Dennoch werden beispielsweise bei Zusatz von 5% Oxid eine Druckfestigkeit von 103 MPa (TiO_2) bzw. 68 MPa (ZrO_2) gegenüber dem Reinzement (62 MPa) erhalten. Alternativ könnte auch die veränderte Löslichkeit der Zementreaktanden verantwortlich sein, wie sie von Demski [98] beschrieben wurde. Hierbei ermöglicht die geringere thermodynamische und kinetische Löslichkeit der dotierten Werkstoffe ein langsames Abbinden der Zementmatrix, so dass ein weniger inhomogenes Kristallgefüge resultiert, das aufgrund einer geringeren Defektanzahl eine höhere Festigkeit aufweist. Ein ähnliches Verhalten wurde auch für mechanisch aktivierte α -TCP Zemente gefunden [113], die nach langzeitiger Mahlung wesentlich schneller abbinden

und eine deutlich reduzierte Festigkeit aufweisen. Ein weiterer festigkeitsbeeinflussender Parameter ist die Porosität der ausgehärteten Zementmatrix [79], die durch die zur Pastenformung verwendete Flüssigkeitsmenge bestimmt wird. Da bei der Prüfung der Zemente jeweils das gleiche Pulver/Flüssigkeits-Verhältnis verwendet wurde, ist primär von vergleichbaren Zementporositäten auszugehen. Allerdings könnten durch die Herstellung der Prüfkörper unter Verdichtung unterschiedliche Flüssigkeitsmengen aus der Form ausgepresst worden sein, die die Endporosität unterschiedlich stark beeinflusst. Diese Tatsache bedürfte in weiterführenden Arbeiten Untersuchungen zur Feststoff-Dichte der Zementmatrices, etwa durch Helium-Pyknometrie, um die Porositäten aus der geometrischen Dichte errechenbar zu machen. Für den Einsatz von Werkstoffen in funktionell kraftbelasteten Bereichen des Skelettsystems ist zusätzlich neben deren statischer auch ihre Wechselfestigkeit von zentraler Bedeutung. Aus Untersuchungen an PMMA-Zementen ist bekannt [114], dass die Wechselfestigkeit in der Regel deutlich unter der statischen Festigkeit liegt, Ergebnisse zur Wechselfestigkeit der dotierten CPC sind bisher nicht bekannt.

Auswirkungen auf die Biokompatibilität des Zements durch die Dotierung mit Metalloxiden sind allenfalls in geringem Maße zu erwarten. Durch die röntgendiffraktrometrischen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass nach der Dotierung der Zemente die Metalloxide als Calciummetallate wie Calciumtitanat, Calciumzirkonat und Calciumsilikat vorliegen. Die Verbindungen sind nicht toxisch [115] wie durch Untersuchungen von CaTiO_3 mit Osteoblasten-Zellkulturen belegt wird und aufgrund der geringen Löslichkeit ist keine chemische Auslaugung der ebenfalls schwer löslichen Zementmatrix zu erwarten.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, durch Dotierung der Zementkomponente TTCP mit den biokompatiblen Zusätzen Siliciumoxid (SiO_2), Titanoxid (TiO_2) sowie Zirkonoxid (ZrO_2) die mechanischen Eigenschaften einer Zementmatrix aus basischem Tetracalciumphosphat (TTCP) und saurem Calciumhydrogenphosphat (DCPA) zu verbessern, ohne andere Parameter wie Abbindezeit oder pH-Wert der Zementpaste wesentlich zu beeinflussen. Der Zusatz der Additive erfolgte vor dem Sintervorgang nass oder trocken zur Ausgangsmischung. Die so synthetisierten Zemente wurden bezüglich ihrer anwendungsrelevanten Parameter wie Abbindezeit, pH-Wert während der Abbindezeit, mechanische Festigkeit und Phasenzusammensetzung der Reaktionsprodukte untersucht.

Die Ermittlung des pH-Wertes in physiologischer Umgebung führte generell zu niedrigeren pH-Werten, als die Ermittlung durch die Pastenmessung. Die pH-Werte der Zementpasten waren bedingt durch die geringere Löslichkeit der Metalloxid-dotierten TTCPs um ca. 0.5 Einheiten erniedrigt. Ein Zusatz von 10% TiO_2 führte bei reduziertem CC-Anteil in physiologischer Umgebung zu einem pH-Wert von 7.5 und liegt somit sehr nah am physiologischen pH-Wert. Die Zugabe der Metalloxide verkürzte ebenfalls die initialen Abbindezeiten. Durch Zusatz von höher prozentualen TiO_2 (10-20%) wurde die initiale Abbindezeit um etwa 4-10 min verkürzt im Vergleich zu nicht dotierten Zementen mit Wasser als flüssiger Phase. Die mechanischen Festigkeiten wurden durch Modifikation mit Metalloxiden teilweise deutlich erhöht. TiO_2 führte im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen mit 103 MPa zu einer starken Verbesserung der Druckfestigkeit. Die röntgendiffraktometrische Untersuchung der Phasenzusammensetzung der Reaktionsprodukte zeigte, dass die durch Dotierung gebildeten Calciummetallate nicht an der Abbindereaktion teilnahmen. Der Verstärkungsmechanismus beruht eher auf einer Verlangsamung der Abbindereaktion infolge einer geringeren Löslichkeit der TTCP-Komponente.

Die erfolgversprechenden Ergebnisse legen den klinischen Einsatz speziell der Titandioxid-dotierten Zemente eventuell im Bereich gering kraftbelasteter Defekte nahe. Auswirkungen auf die Biokompatibilität sollten aufgrund der fehlenden Toxizität und geringen Löslichkeit der Werkstoffe nicht zu befürchten sein.

7. Literaturverzeichnis

- ¹ Holmes RE, Hagler HK. Porous hydroxyapatite as a bone graft substitute in cranial reconstruction: A histometric study, *Plast. Reconst Surg.* 1988; 81: 662-71.
- ² Chow LC, Takagi S, "Calcium phosphate cements" in *Cements Research Progress 1994*, Struble LJ (Hersg.), S. 189-201, Westerville, OH; The Am. Ceram Soc, 1996.
- ³ Takagi S, Chow LC, Ishikawa K, Formation of hydroxyapatite in new calcium phosphate cements, *Biomaterials* 1999; 19: 1593-1599.
- ⁴ Chow LC, Markovic M, Takagi S: Calcium phosphate cements; in *Cements Research Progress 1997*, L.J. Struble (Hersg.), Westerville, OH 1997; The Am. Ceram Soc. 1998: 215-238.
- ⁵ Chow LC. Development of selfsetting calcium phosphate cements; *J. Ceram Soc. Japan* 1991; 99: 954-964.
- ⁶ Constantino PD, Friedman CD, Jones K, Chow LC, Sisson GA. Experimental hydroxyapatite cranioplasty. *Plast. Reconst Surg.* 1992; 90 (2): 174-191.
- ⁷ Constantino PD, Friedman CD, Jones K, Chow LC, Pelzer HJ, Sisso GA. hydroxyapatite cement: Part II-Obliteration and reconstruction of the cat frontal sinus, *Arch.Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 1991; 117: 385-389.
- ⁸ Weissman JL, Snyderman CH, Hirsch BE. Hydroxyapatite cement to repair skull base defects: Radiologic appearance, *Am. J. Neuroradiol.* 1996; 17 (8): 1569-1574.
- ⁹ Hench LL. Bioceramics: from Concept to clinic. *J Am Ceram Soc* 1991; 74: 1487-1510.
- ¹⁰ Grote JJ. Reconstruction of the middle-ear with hydroxylapatite implants: long-term results. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 1986; 123: 10-12.
- ¹¹ Flemming TF. *Parodontologie Ein Kompendium*, Thieme, Stuttgart 1993: 91.
- ¹² Elliot JC. *Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates*, Elsevier, Amsterdam 1994: 6-48.
- ¹³ Nicolet M Review of the preparation methods far calcium phosphate bioceramics. Internal. Report, Paul Scherrer Institut, Switzerland, 1991.
- ¹⁴ Ciesla K, Rudnicki R. Synthesis and transformation of tetracalcium phosphate in solid state. Part I. Synthesis of roentgenographically pure tetracalcium phosphate from calcium dibasic phosphate and calcite. *Polish J Chem* 1987; 61: 719-727.

- ¹⁵ Young RA, Brown WE, Biological mineralization and eminerlization, Dahlem Konferenzen 1981, G.H. Nancollas (Hersg.), Springer, Berlin 1982: 101-141.
- ¹⁶ Jensen AT, J. Calcium hydrogen orthophosphate 2-hydrate and calcium hydrogen orthophosphate. *Inorg Synth* 1953; 4: 19-22.
- ¹⁷ McIntosh AO, Jablonski WL. X-ray diffraction powder patterns of calcium phosphates, *Analytical Chem.* 1956; 28: 1424-1427.
- ¹⁸ Neumann WF, Neumann MW. *The Chemical Dynamics of Bone Mineral*, University of Chicago press, Chicago 1958.
- ¹⁹ Lenart G, Bidlo G, Pinter J. Some basic problems in the examination of the calcium hydrogenphosphates of bone, *Clin Orthop Rel Res* 1972; 83: 263-272.
- ²⁰ Aia MA, Goldsmith RL, Mooney RW. Precipitating Stoichiometrie $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, *Ind Eng Chem* 1961; 53: 55-57.
- ²¹ Gregory TM, Moreno EC, Brown WE. Solubility of $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ in the System $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5, 15, 25 and 37,5°C, *Res Nat Bur Stand* 1970; 74 (A): 461-475 .
- ²² Booth DH, Coates RV. Stability of calcium hydrogen phosphate precipitated from solutions of calcium nitrate and phosphoric acid. *J Chem Soc* 1961; 4914-4921.
- ²³ Perez L, Shyu LJ, Nancollas GH. The phase-transformation of calcium-phosphate dihydrate into octacalcium phosphate in aqueous suspensions, *Colloids and Surfaces* 1989; 38: 295-304.
- ²⁴ Tung MS, Chow LC, Brown WE. Hydrolysis of dicalcium phosphate dihydrate in the presence or absence of calcium-fluoride. *J Dent Res* 1985; 64: 2-5.
- ²⁵ Jensen AT, Rowles SL. Lattice constants and magnesium contents of some naturally occurring whitlockites. *Nature* 1957; 179 (4566): 912-913..
- ²⁶ Welch JH, Gutt W. High temperature studies of the system calcuim oxide-phosphorus pentoxide. *J Chem Soc* 1961: 4442-4444.
- ²⁷ Gregory TM, Moreno EC, Brown WE, Patel JM. Solubility of beta- $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ in system $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ at 5, 15, 25, and 37 degrees C. *J Res Nat Bur Stand* 1974; 78 (A): 667-674.
- ²⁸ Lehr JR, Brown WH, Frazier AW, Smith JP, Trasher RD. *Chem Engineering Bulletin No.6 Muscle Shoals, Tennessee Valley Authority* 1967.
- ²⁹ Monma H. Preparation of octacalcium phosphate by the hydrolysis of alpha-tricalcium phosphate. *J Mater Sci* 1980; 15: 2428-2434.

- ³⁰ Monma H, Goto M. Succinate-complexed octacalcium phosphate. Bull Chem Soc Jpn 1983; 56: 3843-3844.
- ³¹ Mooney RW, Aia MA. Alkaline earth phosphates. Chem Rev 1961; 61: 433-462.
- ³² Brown WE, Epstein EF. Crystallography of tetracalcium phosphate, J Res Nat Bur Stand 1965; 69 (A): 547
- ³³ H. Monma, M. Nagai, Inorg. Phosph. Mater. Sci. Monogr. 52, Elsevier-Verlag, Amsterdam 1989, 4, 79-103.
- ³⁴ Martin RI, Brown PW. Hydration of Tetracalcium phosphate, Adv Cem Res 1993; 5: 115-25.
- ³⁵ Xie L, Monroe EA. CRC handbook of bioactive Ceramics, Vol.2, Calcium Phosphate and Hydroxylapatite Ceramics, Yamamuro T, Hench LL, Wilson J (Hersg.), Boca. Ranton, CRC Press 1990, 29-34.
- ³⁶ Chow LC: Calciumphosphat-Zemente: Eigenschaften und Verwendung. BIOMaterialien 2001; 2:11-18.
- ³⁷ Sanin N, Takagi S, Chow LC, Matsuya S. Particle size effects on pH and strength of calcium phosphate cement. IADR 1991, Abstract No. 2411.
- ³⁸ Otsuka M, Matsuda Y, Suwa Y, Fox JL, Higuchi WI. Effect of particle size of metastable calcium phosphates on mechanical strength of a novel self-setting bioactive calcium phosphate cement. J Biomed Mater Res 1995, 29: 25-32.
- ³⁹ Fulmer MT, Brown PW. Effects of Na_2HPO_4 and NaH_2PO_4 on hydroxyapatite formation, J Biomed Mater Res 1993; 27: 1095-1102.
- ⁴⁰ Ishikawa K, Miyamoto Y, Takechi M, Ueyama Y, Suzuki Je, Nagayama M, Matsumura T. Effects of neutral sodium hydrogen phosphate on setting reaction and mechanical strength of hydroxyapatite putty. J Biomed Mater Res 1999; 44: 322-29.
- ⁴¹ Chow LC, Markovic M, Talcagi S. Formation of hydroxyapatite in cement systems: Effects of phosphate. Phosphorous. Sulfur and Silicon and the related Elements 1999; 146: 129-132.
- ⁴² Gbureck U, Grolms O, Barralet JE, Grover LM, Thull R. Mechanical Activation and Cement Formation of β -Tricalcium Phosphate, Biomaterials 2003; 24: 4123-4131.
- ⁴³ Gbureck U, Barralet JE, Hofmann M, Thull R, Mechanical activation of tetracalcium phosphate. J Am Ceram Soc 2004; 87 (2): 311-13.

- ⁴⁴ Gbureck U, Barralet JE, Radu L, Klinger HG, Thull R. Amorphous α -tricalcium phosphate: Preparation and aqueous setting. *J Am Ceram Soc* 2004; 87(6): 1126-1132.
- ⁴⁵ Gbureck U, Barralet JE, Hofmann M, Thull R. Nanocrystalline TICP Cement. *J Dent Res* 2004, 83(5): 425-428.
- ⁴⁶ Gbureck U, Radu L, Klinger HG, Thull R. Mechanische Aktivierung von α -Tricalciumphosphat und Reaktivität in flüssiger Phase. *BIOMaterialien* 2003; 4(1): 19-26.
- ⁴⁷ Brown WB, Chow LC. Dental restorative cement pastes. US Pat 4518430, 1985.
- ⁴⁸ Chow LC. Development of Self-setting Calcium Phosphate Cements. *J Ceramic Soc Japan* 1991; 99: 954-964.
- ⁴⁹ Chow LC, Takagi S. Calcium phosphate cements. In: *Cements Research Progress 1994*, ed. L. 1. Struble, S. 189-201, Westerville, OH; The Am Ceram Soc, 1996.
- ⁵⁰ Ishikawa K, Takagi S, Chow LC, Ishikawa Y. Properties and mechanisms of fast-setting calcium phosphate cements, *J Mater Sei: Mater Med* 1995; 6: 528-533.
- ⁵¹ Fukase Y, Eanes ED, Takagi S, Chow LC, Brown WE. Setting reactions and compressive strength of calcium phosphate cements. *J Dent Res* 1990; 69(12): 1852-56.
- ⁵² Lui C, Shen W, Ou Y, Hu L. Mechanism of hardening process for a hydroxyapatite cement. *J Biomed Mater Res* 1997; 35: 75-80.
- ⁵³ Posset U, Löcklin E, Thull R, Kiefer W. Vibrational spectroscopic study of tetracalcium phosphate in pure polycrystalline form and as a constituent of a self-setting bone cement. *J Biomed Mater Res* 1998; 40: 640-645.
- ⁵⁴ Kouassi M, Michalesco P, Lacoste-Annynot A, Boudeville P. Antibacterial effect of a hydraulic calcium phosphate cement for dental applications. *J. Endodont* 2003; 29 (2): 100-103.
- ⁵⁵ El Briak H, Durand D, Nurit J, Munier S, Pauvert B, Boudeville P. Study of a hydraulic dicalcium phosphate dihydrate/calcium oxide-based cement for dental applications. *J Biomed Mater Res* 2002; 63 (4): 447-453.
- ⁵⁶ Matsuya S, Takagi S, Chow LC. Effect of mixing ratio and pH on the reaction between $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ and CaHPO_4 . *J Mater Sci: Mater Med* 2000; 11: 305-311.
- ⁵⁷ Ishikawa K, Takagi S, Chow LC, Suzuki K. Reaction of calcium phosphate cements with different amounts of tetracalcium phosphate and dicalcium

phosphate anhydrous. *J Biomed Mater Res* 1999; 46: 504-510.

⁵⁸ Liu CS, Shao HF, Chen FY, Zheng HY. Effects of the granularity of raw materials on the hydration and hardening process of calcium phosphate cement. *Biomaterials* 2003; 24 (23): 4103-4113.

⁵⁹ Driessens FCM, Boltong MG, Planell JA, Bermudez O, Ginebra MP, Fernandez E. A new apatitic calcium phosphate bone cement: Preliminary results. *Bioceramics* 6, pp. 469-72, edited by Ducheyne P, Christiansen D, London, UK: Butterworth-Heinemann, 1993.

⁶⁰ Ginebra MP, Fernandez E, Boltong MG, Driessens FCM, Planell JA. Influence of the particle size of the powder phase in the setting and hardening behaviour of a calcium phosphate cement. in: *Bioceramics* 10, pp481-84, edited by Sedel L, Rey C, New York, Elsevier Science, 1997.

⁶¹ Ginebra MP, Fernandez E, Driessens FCM, Boltong MG, Muntasell J, Font J, Planell JA. The effects of temperature on the behaviour of an apatitic calcium phosphate cement. *J Mater Sci: Mater Med* 1995; 6: 857-860.

⁶² Ginebra MP, Fernandez E, De Maeyer EAP, Verbeeck RMH, Boltong MG, Driessens FCM, Ginebra MP, Planell JA. Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement. *J Dent Res* 1997; 7E 905-912.

⁶³ Lee DD, Rey C, Aiolo M, Tofighi A. Methods and products related to the physical conversion of reactive amorphous calcium phosphate. US Patent No. 6117456, 1996.

⁶⁴ Lee DD, Rey C, Aiolo M. Synthesis of reactive amorphous calcium phosphates. US Patent No 5683461, 1995.

⁶⁵ Mirtchi AA, Lemaitre J, Terao N. Calcium phosphate cements: study of the beta-tricalcium phosphate -monocalcium phosphate system. *Biomaterials* 1989; 10: 475-480.

⁶⁶ Mirtichi AA, Lemaitre J, Munting E. Calcium phosphate cements: action of setting regulators on the properties of the beta-tricalcium phosphate - monocalcium phosphate cements, *Biomaterials* 1989; 10(9): 634-638.

⁶⁷ Lemaitre J, Munting E, Mirtichi AA. Setting, hardening and resorption of calcium phosphate hydraulic cements. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1992; 93: 163-65.

⁶⁸ Boudeville P, Serraj S, Leloup M, Margerit J, Pauvert B, Terol A. Physical properties and self-setting mechanism of calcium phosphate cements from calcium bis-dihydrogenophosphate monohydrate and calcium oxide. *J Mater Sei: Mater Med* 1999; 10 (2): 99- 109.

- ⁶⁹ Bohner M, Lemaître J, Ring TA. Effect of sulfate, pyrophosphate, and citrate ions on the physicochemical properties of cements made of beta-tricalcium phosphate-phosphoric acid-water mixtures. *J Am Ceram Soc* 1996; 79 (6): 1427-1434.
- ⁷⁰ Bohner M, Merkle HP, Van Landuyt P, Trophard G, Lemaître J. Effect of several additives and their admixtures on the physico-chemical properties of a calcium phosphate cement. *J Mater Sci: Mater Med* 2000; 11: 111-116.
- ⁷¹ Reilly DT, Burstein AR. The elastic and ultimate properties of compact bone tissue. *J Biomechanics* 1975; 8: 393-405.
- ⁷² Charrière E, Terrazzone S, Pittet C, Mordasini P, Dutoit M, Lemaître J, Zysset P. Mechanical characterization of brushite and hydroxyapatite cements. *Biomaterials* 2001; 22 (21): 2937-2945.
- ⁷³ Xu HHK, Quinn JB, Takagi S, Chow LC, Eichmiller FC, Strong and macroporous calcium phosphate cement: Effects of porosity and fiber reinforcement on mechanical properties, *J Biomed Mater Res* 2001; 57 (3): 457-466.
- ⁷⁴ Dos Santos LA, de Oliveira LC, Rigo ECD, Carrodegua RG, Boschi AO, de Arruda ACF. Fiber reinforced calcium phosphate cement, *Artificial Org* 2000; 24 (3): 212-216.
- ⁷⁵ Xu HHK, Eichmiller FC, Giuseppetti AA. Calcium-phosphate cement reinforcement: Effect of fiber type, length and fraction. *J Dent Res* 2000; 79: 1708.
- ⁷⁶ dos Santos LA, Carrodegua RG, Boschi AO, de Arruda ACF. Fiber-enriched double-setting calcium phosphate bone cement. *J Biomed Mater Res* 2003; 65A (2): 244-250.
- ⁷⁷ Xu HHK., Eichmiller FC, Barndt PR. Effects of fiber length and volume fraction on the reinforcement of calcium phosphate cement. *J Mater Sci: Mater Med* 2000; 12 (1): 57-65.
- ⁷⁸ Von Gonten AS, Kelly JR, Antonucci M. Load-bearing behavior of a simulated Craniofacial structure fabricated from a hydroxyapatite cement and bioresorbable fiber-mesh. *J Mater Sci: Mater Med* 1999; 11 (2): 95-100.
- ⁷⁹ Gbureck U, Barralet JE, Grover LM, Hofmann M, Thull R. Mechanische Eigenschaften und Porosität von Calciumphosphat-Zementen, *BIOMaterialien*, 2003; 4(4): 258-264.
- ⁸⁰ Gbureck U, Grolms O, Grover LM, Barralet JE, Thull R. Mechanical activation of β -Tricalcium phosphate and cement formation with Na_2HPO_4 solution; *Biomaterials* 2003; 24(23): 4123-4131.

- ⁸¹ Barralet JE, Hofmann M, Grover LM, Gbureck U. High Strength Apatitic Cement by Modification with α -hydroxy acid salts. *Advanced Materials* 2003; 15(24): 2091.
- ⁸² ASTM-Standard C266-99: Standard test method for time of setting of hydraulic cement paste by Gilmore needles, ASTM International 2002.
- ⁸³ Nilson M, Carlson J, Fernandez E, Planell JA. Monitoring the setting of calcium based bone cements using pulse-echo ultrasound. *J Mater Sci: Mater Med* 2002; 13(12): 1135-1141.
- ⁸⁴ Lui C, Huang y, Zheng H. Study of the hydration process of calcium phosphate cement by AC impedance spectroscopy. *J Am Cer Soc* 1999; 82(4): 1052-1057.
- ⁸⁵ Bohner M. Theoretical considerations on the injectability of calcium phosphate cements. Proceedings on the 17th European Conference on Biomaterials 2002, Barcelona, Spain, 124.
- ⁸⁶ Müller RH, Zeta-Potential und Partikelladung in der Laborpraxis, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1996.
- ⁸⁷ Suzuki T, Yamamoto T, Toriyama M, Nishizawa K, Yokogawa Y, Mucalo MR, Kawamoto Y, Nagata F, Kameyama T. Surface instability of calcium phosphate ceramics in tissue culture medium and the effect on adhesion and growth of anchorage-dependent animal cells. *J Biomed Mater Res* 1997; 34(4): 507-517.
- ⁸⁸ Ducheyne P, Kim CS, Pollack SR. The effect of phase differences on the time-dependent variation of the Zeta-potential of hydroxyapatite. *J Biomed Mater Res* 1992; 26(2): 147-168.
- ⁸⁹ Gbureck U, Barralet JE, Grover LM, Spatz K, Thull R. Ionic modification of calcium phosphate cement viscosity Part I: Hypodermic injection and strength improvement of apatite cements; *Biomaterials* 2004; 25(11): 2187-2195.
- ⁹⁰ Gbureck U, Spatz K, Thull R, Barralet JE. Rheological enhancement of mechanically activated α -tricalcium phosphate cements, *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomat.)*, 2005; 73B: 1-6.
- ⁹¹ Kamerer DB, Friedman CD, Costantino PD, Snyderman CH, Hirsch BF. Hydroxyapatite cement: A new method for achieving watertight closure in transtemporal surgery. *Am J Otol* 1994; 15(1): 47.
- ⁹² Kveton JF, Friedman CD, Piepmeier JM, Constantino PD. Reconstruction of suboccipital craniectomy defects with hydroxyapatite cement: A preliminary report. *Laryngoscope* 1995; 105(2): 156-159.
- ⁹³ Constantz BR, Barr BM, Ison IC, Fulmer MT, Baker J, McKinney L, Goodman SB, Gunasekaran S, Delaney DC, Ross J, Poser RD. Histological, chemical, and crystallographic analysis of four calcium phosphate cements in different rabbit

osseus sites. *J Biomed Mater Res* 1998; 43: 451-461.

⁹⁴ Bohner M, Gbureck U, Barralet JE.: Technological issues for the development of more efficient calcium phosphate bone cements: A critical assessment, *Biomaterials* 26; 6423-6429, 2005.

⁹⁵ Lim TH, Brebach GT, Renner SM, Kim WJ, Kim JG, Lee RE, Andersson GB, An HS. Biomechanical evaluation of an injectable Calcium phosphate cement for vertebroplasty, *Spine* 2002; 27(12): 1297-1302.

⁹⁶ Hillmeier J, Meeder PJ, Nöldge G, Kock HJ, Da Fonseca K, Kasperk HC. Augmentation von Wirbelkörper-Frakturen mit einem neuen Calciumphosphat-Zement nach Ballon-Kyphoplastie, *Orthopäde* 2004; 33: 31-39.

⁹⁷ Cherng A, Takagi S, Chow LC. Effects of hydroxypropyl methylcellulose and other gelling agents on the handling properties of calcium phosphate cement. *J Biomed Mater Res* 1997; 35: 2783-277.

⁹⁸ Demski S. Bericht zum Fortgeschrittenen-Praktikum im Studienfach Chemie, Universität Würzburg 2002.

⁹⁹ Brown WE, Chow LC. A new calcium phosphate setting cement. *J Dent Res* 1983;62:672.

¹⁰⁰ Takechi M, Miyamoto Y, Momota Y, Yuasa T, Tatehara S, Nagayama M, Ishikawa K, Suzuki K. The in vitro antibiotic release from anti-washout apatite cement using chitosan. *J Mater Sci: Mater Med* 2002; 13 (10): 973-978.

¹⁰¹ Hamanishi C, Kitamoto K, Tanaka S, Otsuka M, Doi Y, Kitahashi T. A self-setting TTCP-DCPD apatite cement for release of vancomycin. *J Biomed Mater Res* 1996; 33 (3): 139-143.

¹⁰² Simon CG, Guthrie WF, Wang FW. Cell seeding into calcium phosphate cement. *J Biomed Mater Res* 2004; 68A: 628-639.

¹⁰³ Wiltfang J, Kloss FR, Kessler P, Nkenke E, Schultze-Mosgau S, Zimmermann R, Schlegel KA. Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects - An animal experiment, *Clin Oral Implant Res* 2004; 15 (2): 187-193.

¹⁰⁴ Kovacs K, Velich N, Huszar T, Szabo G, Semjen G, Reiczigel J, Suba Z. Comparative study of beta-tricalcium phosphate mixed with platelet-rich plasma versus beta-tricalcium phosphate, a bone substitute material in dentistry, *Acta Veterinaria Hungarica* 2003; 51 (4): 475-484.

¹⁰⁵ Ishikawa K, Takagi S, Chow LC, Ishikawa Y. Properties and mechanisms of fast-setting calcium phosphate cements, *J Mater Sci: Mater Med* 1995; 6: 528-533.

¹⁰⁶ Brown WE, Chow LC. A new calcium phosphate water-setting cement, in: *Cements Research Progress*, Brown PW (ed), American Ceramic Society, Westerville, Ohio, 1986, pp. 352-379.

¹⁰⁷ Wolke JGC, Ooms EM, Jansen JA, In Vivo resorption behavior of a high

strength injectable calcium-phosphate cement, *Bioceramics Key Engineering Materials* 2000, 192-1: 793-796.

¹⁰⁸ Pittet C, Lemaitre J. Mechanical characterization of brushite cements: A Mohr circles' approach. *J Biomed Mater Res* 2000; 53 (6): 769-780.

¹⁰⁹ Reilly DT, Burstein AH. The elastic and ultimate properties of compact bone tissue, *J Biomechanics* 1975; 8: 393-405.

¹¹⁰ Khairoun I, Boltong MG, Driessens FCM, et al. Effect of calcium carbonate on the compliance of an apatitic calcium phosphate bone cement; *Biomaterials* 1997; 18 (23): 1535-1539.

¹¹¹ Durucan C, Brown PW. Materials Research Laboratory, The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802, USA, 2000.

¹¹² Chow LC, Hirayama S, Takagi S, Parry E. Diametral strength and compressive strength of a calcium phosphate cement- effect of applied pressure; *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)* 2000; 53: 511-517

¹¹³ Gbureck U, Barralet JE, Radu L, Klinger HG, Thull R. Amorphous α -tricalcium phosphate: preparation and aqueous setting reaction; *J Am Ceram Soc* 2004, 87(6): 1126-1132..

¹¹⁴ Harper EJ, Bonfield W. Tensile characteristics of ten commercial acrylic bone cements, *J Biomed Mater Res* 2000; 53: 605-616.

¹¹⁵ Webster TJ, Ergun C, Doremus RH, Lanford WA. Increased osteoblast adhesion on titanium-coated hydroxylapatite that forms CaTiO₃. *J Biomed Mater Res A*. 2003; 67(3): 975-80.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr. Roger Thull danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit in seiner Abteilung arbeiten zu dürfen.

Herrn Dr. Uwe Gbureck und Frau Dr. Kerstin Spatz danke ich aufrichtig für die tatkräftige Unterstützung und Betreuung meiner Arbeit.

Für ihre stetige, freundliche Hilfsbereitschaft bei organisatorischen Fragen danke ich Frau Isabell Biermann, sowie allen Mitarbeiterinnen der Abteilung.

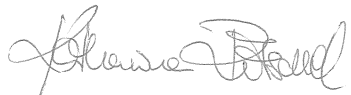
Meiner Familie und meinen Freunden gilt ebenso mein Dank.

Lebenslauf

Katharina Sabine Ritschel, geb. Müller
Geboren am 26.03.1977 in Bensheim a.d. Bergstrasse
Anne-Frank-Str.6
64711 Erbach

1983-1987	Grundschule in Michelstadt
1987-1989	Förderstufe in Michelstadt, Theodor-Litt-Schule
1989-1996	Gymnasium Michelstadt, Abitur
01.09.1996-15.04.1997	Freiwilliges Soziales Jahr beim DRK in Hessen
05.1997-11.2002	Studium der Zahnmedizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
13.11.2002	Staatsexamen an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg
01.01.2003-31.12.2005	Ausübung der assistenz Zahnärztlichen Tätigkeit in Amorbach/ Odw.

Erbach, den 16.6.2006



Katharina Ritschel