

Experimentelle Physik

**Biominalisation von  
Knochengewebe  
unter dem Einfluss von  
Metallionen**

– Modellsysteme und Kristallanalyse –

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften im Fachbereich Physik  
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von  
Claus Moseke  
aus Emsbüren  
2003

Dekan: .....	Prof. Dr. H. Zacharias
Erster Gutachter: .....	Prof. Dr. R. Santo
Zweiter Gutachter: .....	Prof. Dr. D. Frekers
Tag der mündlichen Prüfung:	22.01. und 03.02.2004
Tag der Promotion: ....	03.02.2004

*Für Natalie*



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Theorie</b>	<b>5</b>
2.1	Knochenbiologie . . . . .	5
2.1.1	Aufbau des Knochens . . . . .	5
2.1.1.1	Knochenzellen . . . . .	6
2.1.1.2	Interzellulärsubstanz . . . . .	7
2.1.1.3	Histologischer und funktioneller Bau . . . . .	8
2.1.1.4	Knochenentwicklung . . . . .	8
2.1.1.5	Steuerung des Knochenumbaus . . . . .	9
2.1.1.6	Histophysiologie des Knochens . . . . .	10
2.1.2	Verkalkung von neugebildetem Knochengewebe . . . . .	10
2.1.3	Grundlagen der Hüftprothetik . . . . .	13
2.1.3.1	Aufbau und Implantation einer Hüftprothese . . . . .	13
2.1.3.2	Osteointegration als Frakturheilung . . . . .	17
2.1.3.3	Emission von Metallionen aus Implantaten . . . . .	18
2.2	Kristallographie u. Chemie der Kalziumphosphate . . . . .	19
2.2.1	Hydroxylapatit . . . . .	21
2.2.1.1	Kristallstruktur von OHAp . . . . .	21
2.2.1.2	Chemische Synthese von Hydroxylapatit . . . . .	24
2.2.1.3	Kalziumarme und kalziumreiche Hydroxylapatite . . . . .	25
2.2.1.4	Karbonathaltige Apatite . . . . .	27
2.2.1.5	Thermische Dekomposition von Hydroxylapatit . . . . .	29

2.2.2	Trikalziumphosphat . . . . .	30
2.2.3	Amorphe Kalziumphosphate . . . . .	33
2.2.3.1	Thermische Umwandlung von ACP . . . . .	34
2.2.4	Metallionen in der Mineralisation <i>in-vivo</i> und <i>in-vitro</i> . . . . .	35
2.2.4.1	Zelltoxizität . . . . .	35
2.2.4.2	Einflüsse auf die Kristallisation von Hydroxylapatit . . . . .	36
<b>3</b>	<b>Experimentelle Methoden</b>	<b>41</b>
3.1	Modellsysteme zur Simulation der Mineralisation . . . . .	41
3.1.1	<i>in-vitro</i> -Mineralisation bei basischem pH-Wert . . . . .	41
3.1.1.1	Rezeptur für die Hydroxylapatitsynthese . . . . .	42
3.1.1.2	Zugabe von Metallionen . . . . .	43
3.1.2	<i>in-vitro</i> -Mineralisation in SBF . . . . .	45
3.1.3	Experimente unter Einfluss von Proteinen . . . . .	48
3.1.3.1	Synthese von Hydroxylapatit in SBF mit Albumin . . . . .	48
3.1.3.2	Synthese von Hydroxylapatit in SBF mit Gly-Pro-Gly-Gly und Gly-Gly-Gly . . . . .	49
3.2	Kristallstrukturuntersuchungen mit XRD . . . . .	49
3.2.1	Aufbau des Röntgendiffraktometers . . . . .	50
3.2.2	Probenpräparation . . . . .	52
<b>4</b>	<b>Resultate und Diskussion</b>	<b>53</b>
4.1	Synthese von Hydroxylapatit bei basischem pH-Wert . . . . .	53
4.1.1	Ergebnisse der Phasenanalyse metallhaltiger Proben . . . . .	56
4.1.1.1	Titan . . . . .	59
4.1.1.2	Vanadium . . . . .	70
4.1.1.3	Kobalt . . . . .	76
4.1.1.4	Chrom . . . . .	82
4.1.1.5	Aluminium . . . . .	88
4.1.2	Zusammenfassende Diskussion . . . . .	93
4.2	Biomineralisation im physiologischen Milieu . . . . .	102

4.2.1	Synthese von Hydroxylapatit in SBF . . . . .	102
4.2.1.1	Titan . . . . .	104
4.2.1.2	Vanadium . . . . .	107
4.2.1.3	Kobalt . . . . .	110
4.2.2	Zusatz von Proteinen . . . . .	113
4.2.2.1	Synthese v. OHAp in SBF unter Zusatz v. Albumin .	113
4.2.2.2	Synthese von OHAp in SBF unter Zusatz von Gly–Gly–Gly und Gly–Pro–Gly–Gly . . . . .	118
4.3	Die Bedeutung d. Ergebnisse für d. Biomineralisation . . . . .	122
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>127</b>
<b>A</b>	<b>Thermodynamische Daten d. Kalziumorthophosphate</b>	<b>131</b>
<b>B</b>	<b>Zur Biochemie der Peptide</b>	<b>133</b>
<b>C</b>	<b>Röntgendiffraktogramme</b>	<b>135</b>
C.1	Diffraktogramme der Probenserie H9 . . . . .	135
C.2	Diffraktogramme der Probenserie H9a . . . . .	139
C.3	Diffraktogramme der Probenserie H30 . . . . .	143
C.4	Diffraktogramme der Probenserie H10 . . . . .	146
C.5	Diffraktogramme der Probenserie H14 . . . . .	150
C.6	Diffraktogramme der Probenserie H8 . . . . .	152
C.7	Diffraktogramme der Probenserie H12 . . . . .	156
C.8	Diffraktogramme der Probenserie H11 . . . . .	161
C.9	Diffraktogramme der Probenserie H24 . . . . .	165
C.10	Diffraktogramme der Probenserie H16 . . . . .	167
C.11	Diffraktogramme der Probenserie H17 . . . . .	170
<b>D</b>	<b>Ergänzende Diagramme</b>	<b>173</b>
D.1	HAp–Synthese im basischen Milieu . . . . .	173
D.1.1	Titan . . . . .	173

D.1.2 Vanadium . . . . .	175
D.1.3 Chrom . . . . .	178
D.1.4 Synthese von Hydroxylapatit in SBF . . . . .	181
D.1.5 Synthese v. Hydroxylapatit in SBF unter Zusatz v. Albumin .	182
<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>183</b>



# Abbildungsverzeichnis

1.1	Künstliches Hüftgelenk und Metall/Knochen-Interface . . . . .	2
1.2	Schematische Darstellung der Gewebereaktion auf ein Biomaterial . . .	3
2.1	Lamellensystem . . . . .	7
2.2	Schematische Darstellung des Umbauzyklus . . . . .	10
2.3	Knochenbildung durch Osteoblasten . . . . .	11
2.4	Modell der Kalzifikation . . . . .	12
2.5	Aufbau des menschlichen Hüftgelenks . . . . .	14
2.6	Verankerungsprinzipien zementfreier Hüftprothesenschäfte . . . . .	15
2.7	Schnittflächen des abgesägten Femurkopfes . . . . .	16
2.8	Schematische Darstellung der Frakturheilung. . . . .	17
2.9	Hexagonale Einheitszelle des Hydroxylapatits, schematische Darstellung. . . . .	22
2.10	Hexagonale Einheitszelle des Hydroxylapatits, schematische Darstellung entlang der c-Achse. . . . .	22
2.11	Ausschnitt eines Diffraktogramms von synthetischem Hydroxylapatit	23
2.12	Projektion der Struktur von $\alpha$ -TCP auf die (0 0 1)-Ebene . . . . .	31
2.13	Schematischer Aufbau der hexagonalen Einheitszelle von $\beta$ -TCP . . .	31
2.14	Diffraktogramm von kommerziellem Trikalziumphosphat . . . . .	32
2.15	Schematische Darstellung der Inhibition der Bildung von Hydroxylapatit durch ATP . . . . .	37
3.1	Standard $\Theta/2\Theta$ -Messanordnung im Diffraktometer Siemens D5000 . .	50

4.1	Diffraktogramme von Standard-Hydroxylapatit, hergestellt im basischen Modellsystem . . . . .	54
4.2	Diffraktogramme der mit Titanzusatz hergestellten OHAp-Proben . . . . .	58
4.3	Diffraktogramme von im basischen Modellsystem erzeugten OHAp-Proben mit unterschiedlichen Ti-Beimischungen . . . . .	60
4.4	Ausschnitt aus den Diffraktogrammen der Proben H9 mit 3 %, 6 % und 20 % Ti . . . . .	61
4.5	Diffraktogramme der Probe H9 mit 20 % Ti bei verschiedenen Heiztemperaturen . . . . .	62
4.6	Ausprägung der Perowskit-Phase in Abhängigkeit von der Heiztemperatur . . . . .	63
4.7	$Q_{ah}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H9 bei 900 °C, 950 °C und 1000 °C . . . . .	64
4.8	$Q_{bh}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H9 bei 950 °C und 1000 °C . . . . .	65
4.9	$Q_{ph}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H9 bei 950 °C und 1000 °C . . . . .	66
4.10	Diffraktogramme der mit Vanadiumzusatz hergestellten OHAp-Proben . . . . .	69
4.11	Diffraktogramme der Probe H14 mit 10 % V bei verschiedenen Heiztemperaturen . . . . .	70
4.12	$Q_{bh}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H10 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	71
4.13	$Q_{bh}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H14 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	72
4.14	$Q_{ab}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H14 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	73
4.15	Diffraktogramme der mit Kobaltzusatz hergestellten OHAp-Proben . . . . .	75
4.16	Diffraktogramme ungeheizter Apatite mit verschiedenen Kobaltanteilen . . . . .	76
4.17	Diffraktogramme der bei 600 °C geheizten Apatite mit verschiedenen Kobaltanteilen . . . . .	77
4.18	$Q_{ch}$ -Werte für Kobalt im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H8 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	78
4.19	$Q_{ch}$ -Werte für Kobalt im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H13 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	79
4.20	Diffraktogramme der mit Chromzusatz hergestellten OHAp-Proben . . . . .	81
4.21	Diffraktogramme der ungeheizten Apatite mit 1 %, 4 %, 10 % und 20 % Chromanteil . . . . .	82

4.22	Diffraktogramme der bei 600 °C geheizten Apatite mit 1 %, 8 %, 10 % und 20 % Chromanteil . . . . .	83
4.23	$Q_{bh}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchs- reihe H7 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	84
4.24	$Q_{cb}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchs- reihe H7 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	85
4.25	Diffraktogramme der mit Aluminiumzusatz hergestellten OHAp- Proben . . . . .	87
4.26	Diffraktogramme von im basischen Modellsystem erzeugten OHAp- Proben mit unterschiedlichen Al-Beimischungen, ungeheizt . . . . .	88
4.27	Diffraktogramme von im basischen Modellsystem erzeugten OHAp- Proben mit unterschiedlichen Al-Beimischungen, 1 h bei 600 °C geheizt. . . . .	89
4.28	Linienpositionen des (0 2 10)-Peaks der aluminiumhaltigen Kalzi- umphosphatphase in Abhängigkeit vom Aluminiumzusatz . . . . .	90
4.29	$Q_{ah}$ -Werte für Aluminium im basischen OHAp-Modellsystem, Ver- suchsreihen H11 und H24 . . . . .	91
4.30	$Q_{bh}$ -Werte für Aluminium im basischen OHAp-Modellsystem, Ver- suchsreihen H11 und H24 . . . . .	92
4.31	Schematische Darstellung der <i>in-vitro</i> -Mineralisation von OHAp im basischen Modellsystem . . . . .	93
4.32	Schematische Darstellung der möglichen Einflüsse von Metallionen im basischen Modellsystem . . . . .	94
4.33	Kristalline Phasen im basischen Modellsystem mit Ti . . . . .	95
4.34	Kristalline Phasen im basischen Modellsystem mit V . . . . .	96
4.35	Kristalline Phasen im basischen Modellsystem mit Co . . . . .	97
4.36	Kristalline Phasen im basischen Modellsystem mit Cr . . . . .	99
4.37	Kristalline Phasen im basischen Modellsystem mit Al . . . . .	101
4.38	Diffraktogramme von Standard-OHAp aus basischer Synthese und aus SBF . . . . .	103
4.39	Diffraktogramme von in SBF erzeugten Proben mit 1 %, 7 %, 10 % und 15 % Titananteil . . . . .	105
4.40	Diffraktogramm der in SBF erzeugten Probe H17 mit 15 % Titanzu- satz . . . . .	106
4.41	Diffraktogramme der ungeheizten in SBF erzeugten Proben mit Va- nadiumzusatz . . . . .	108
4.42	Diffraktogramme der in SBF erzeugten Proben mit Vanadiumzusatz . . . . .	109

4.43	Diffraktogramme der ungeheizten in SBF produzierten Apatite mit 1 %, 3 % und 10 % Kobaltanteil . . . . .	110
4.44	Diffraktogramme der in SBF produzierten Apatite mit 1 %, 3 % und 10 % Kobaltanteil, geheizt . . . . .	111
4.45	Diffraktogramme der ungeheizten in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Vanadiumanteil . . . . .	113
4.46	Diffraktogramme der in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Kobaltanteil, ungeheizt . . . . .	114
4.47	Diffraktogramme der Proben H20 mit 1 % und 20 % Ti, geheizt . . . . .	115
4.48	Diffraktogramme der in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Vanadiumanteil, geheizt . . . . .	116
4.49	Diffraktogramme der in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Kobaltanteil, geheizt . . . . .	117
4.50	Diffraktogramme der in SBF und Gly–Gly–Gly produzierten Apatite, ungeheizt . . . . .	119
4.51	Diffraktogramme der in SBF und Gly–Gly–Gly produzierten Probe mit 3 % Titananteil, geheizt . . . . .	120
4.52	Diffraktogramme der in SBF und Gly–Gly–Gly produzierten Probe mit 3 % Vanadiumanteil, geheizt . . . . .	120
4.53	Diffraktogramme der in SBF produzierten Proben mit 1 % Vanadiumanteil mit und ohne Gly–Pro–Gly–Gly, geheizt . . . . .	121
B.1	Strukturformeln von Gly–Gly–Gly und Gly–Pro–Gly–Gly . . . . .	133
C.1	Probe H9 mit 1 % Ti . . . . .	136
C.2	Probe H9 mit 2 % Ti . . . . .	136
C.3	Probe H9 mit 3 % Ti . . . . .	136
C.4	Probe H9 mit 4 % Ti . . . . .	137
C.5	Probe H9 mit 5 % Ti . . . . .	137
C.6	Probe H9 mit 6 % Ti . . . . .	137
C.7	Probe H9 mit 8 % Ti . . . . .	138
C.8	Probe H9 mit 10 % Ti . . . . .	138
C.9	Probe H9 mit 20 % Ti . . . . .	138
C.10	Probe H9a mit 0,5 % Ti . . . . .	139
C.11	Probe H9a mit 1 % Ti . . . . .	139

C.12 Probe H9a mit 1,5 % Ti . . . . .	139
C.13 Probe H9a mit 2 % Ti . . . . .	140
C.14 Probe H9a mit 2,5 % Ti . . . . .	140
C.15 Probe H9a mit 3 % Ti . . . . .	140
C.16 Probe H9a mit 3,5 % Ti . . . . .	141
C.17 Probe H9a mit 4 % Ti . . . . .	141
C.18 Probe H9a mit 4,5 % Ti . . . . .	141
C.19 Probe H9a mit 7 % Ti . . . . .	142
C.20 Probe H9a mit 9 % Ti . . . . .	142
C.21 Probe H9a mit 15 % Ti . . . . .	142
C.22 Probe H30 mit 11 % Ti . . . . .	143
C.23 Probe H30 mit 12 % Ti . . . . .	143
C.24 Probe H30 mit 13 % Ti . . . . .	143
C.25 Probe H30 mit 14 % Ti . . . . .	144
C.26 Probe H30 mit 15 % Ti . . . . .	144
C.27 Probe H30 mit 16 % Ti . . . . .	144
C.28 Probe H30 mit 17 % Ti . . . . .	145
C.29 Probe H30 mit 18 % Ti . . . . .	145
C.30 Probe H30 mit 19 % Ti . . . . .	145
C.31 Probe H10 mit 0,5 % V . . . . .	146
C.32 Probe H10 mit 1 % V . . . . .	146
C.33 Probe H10 mit 1,5 % V . . . . .	147
C.34 Probe H10 mit 2 % V . . . . .	147
C.35 Probe H10 mit 2,5 % V . . . . .	147
C.36 Probe H10 mit 3 % V . . . . .	148
C.37 Probe H10 mit 3,5 % V . . . . .	148
C.38 Probe H10 mit 4 % V . . . . .	148
C.39 Probe H10 mit 4,5 % V . . . . .	149
C.40 Probe H10 mit 5 % V . . . . .	149

C.41 Probe H10 mit 6 % V . . . . .	149
C.42 Probe H10 mit 10 % V . . . . .	150
C.43 Probe H14 mit 0,5 % V . . . . .	150
C.44 Probe H14 mit 1 % V . . . . .	150
C.45 Probe H14 mit 1,5 % V . . . . .	151
C.46 Probe H14 mit 2 % V . . . . .	151
C.47 Probe H14 mit 2,5 % V . . . . .	151
C.48 Probe H8 mit 0,5 % Co . . . . .	152
C.49 Probe H8 mit 1 % Co . . . . .	152
C.50 Probe H8 mit 1,5 % Co . . . . .	153
C.51 Probe H8 mit 2 % Co . . . . .	153
C.52 Probe H8 mit 2,5 % Co . . . . .	153
C.53 Probe H8 mit 3 % Co . . . . .	154
C.54 Probe H8 mit 3,5 % Co . . . . .	154
C.55 Probe H8 mit 4 % Co . . . . .	154
C.56 Probe H8 mit 5 % Co . . . . .	155
C.57 Probe H8 mit 8 % Co . . . . .	155
C.58 Probe H8 mit 10 % Co . . . . .	155
C.59 Probe H8 mit 20 % Co . . . . .	156
C.60 Probe H12 mit 0,5 % Cr . . . . .	156
C.61 Probe H12 mit 1 % Cr . . . . .	157
C.62 Probe H12 mit 1,5 % Cr . . . . .	157
C.63 Probe H12 mit 2 % Cr . . . . .	157
C.64 Probe H12 mit 2,5 % Cr . . . . .	158
C.65 Probe H12 mit 3 % Cr . . . . .	158
C.66 Probe H12 mit 3,5 % Cr . . . . .	158
C.67 Probe H12 mit 4 % Cr . . . . .	159
C.68 Probe H12 mit 5 % Cr . . . . .	159
C.69 Probe H12 mit 8 % Cr . . . . .	159

C.70 Probe H12 mit 10 % Cr . . . . .	160
C.71 Probe H12 mit 20 % Cr . . . . .	160
C.72 Probe H11 mit 0,1 % Al . . . . .	161
C.73 Probe H11 mit 0,2 % Al . . . . .	161
C.74 Probe H11 mit 0,3 % Al . . . . .	162
C.75 Probe H11 mit 0,4 % Al . . . . .	162
C.76 Probe H11 mit 0,5 % Al . . . . .	162
C.77 Probe H11 mit 0,6 % Al . . . . .	163
C.78 Probe H11 mit 0,7 % Al . . . . .	163
C.79 Probe H11 mit 0,8 % Al . . . . .	163
C.80 Probe H11 mit 1 % Al . . . . .	164
C.81 Probe H11 mit 1,2 % Al . . . . .	164
C.82 Probe H11 mit 1,6 % Al . . . . .	164
C.83 Probe H11 mit 2 % Al . . . . .	165
C.84 Probe H24 mit 3 % Al . . . . .	165
C.85 Probe H24 mit 5 % Al . . . . .	165
C.86 Probe H24 mit 10 % Al . . . . .	166
C.87 Probe H24 mit 15 % Al . . . . .	166
C.88 Probe H24 mit 20 % Al . . . . .	166
C.89 Probe H24 mit 30 % Al . . . . .	167
C.90 Probe H16 mit 1 % Ti . . . . .	167
C.91 Probe H16 mit 2 % Ti . . . . .	168
C.92 Probe H16 mit 3 % Ti . . . . .	168
C.93 Probe H16 mit 4 % Ti . . . . .	168
C.94 Probe H16 mit 5 % Ti . . . . .	169
C.95 Probe H16 mit 7 % Ti . . . . .	169
C.96 Probe H16 mit 10 % Ti . . . . .	169
C.97 Probe H17 mit 0,5 % Ti . . . . .	170
C.98 Probe H17 mit 1,5 % Ti . . . . .	170

C.99	Probe H17 mit 2,5 % Ti . . . . .	170
C.100	Probe H17 mit 3,5 % Ti . . . . .	171
C.101	Probe H17 mit 4,5 % Ti . . . . .	171
C.102	Probe H17 mit 6 % Ti . . . . .	171
C.103	Probe H17 mit 15 % Ti . . . . .	172
D.1	$Q_{ah}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H9 und H30 bei 900 °C und 1000 °C. . . . .	173
D.2	$Q_{bh}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H9 und H30 bei 900 °C und 1000 °C. . . . .	174
D.3	$Q_{ph}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H9 und H30 bei 1000 °C . . . . .	174
D.4	$Q_{pb}$ -Werte für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H9 und H30 bei 1000 °C . . . . .	175
D.5	Diffraktogramme von ungeheizten Proben der Serie H14 mit verschiedenen Vanadiumanteilen . . . . .	175
D.6	$Q_{bh}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H10 und H14 bei 900 °C . . . . .	176
D.7	$Q_{bh}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H10 und H14 bei 1000 °C . . . . .	176
D.8	$Q_{ah}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H10 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	177
D.9	$Q_{ah}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H14 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	177
D.10	$Q_{ab}$ -Werte für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H10 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	178
D.11	$Q_{bh}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H7 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	178
D.12	$Q_{bh}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H12 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	179
D.13	$Q_{bh}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H12 bei 900 °C und 1000 °C . . . . .	179
D.14	$Q_{bh}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H7 und H12 bei 900 °C . . . . .	180
D.15	$Q_{bh}$ -Werte für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H7 und H12 bei 1000 °C . . . . .	180
D.16	Trockenmassen der Reaktionsprodukte der Serien H16 und H17 . . . . .	181



D.17	Diffraktogramme von ungeheiztem in SBF produziertem Apatit, mit und ohne Albumin . . . . .	182
D.18	Diffraktogramme von in SBF produziertem Apatit, mit und ohne Albumin, geheizt . . . . .	182



# Tabellenverzeichnis

2.1	Abkürzungen und Summenformeln einiger Kalziumorthophosphate . .	20
2.2	Gitterparameter einiger Apatite . . . . .	23
2.3	Modelle für Gittersubstitutionen in Ca-def OHAp . . . . .	26
2.4	Eigenschaften von $\alpha$ -TCP und $\beta$ -TCP . . . . .	32
2.5	Übergangstemperaturen der Kalziumorthophosphate . . . . .	35
3.1	Im Versuch als Metallionenquellen verwendete Salze . . . . .	44
3.2	Zugabemengen für Metallsalze bei basischer OHAp-Synthese . . . . .	45
3.3	Ionenkonzentrationen von SBF-Lösungen und menschlichem Plasma .	46
3.4	Chemische Zusammensetzung von SBF-Lösungen . . . . .	47
3.5	Zugabemengen für Metallsalze bei der Hydroxylapatitsynthese in SBF	47
3.6	Zugabemengen für Metallsalze bei der Hydroxylapatitsynthese in SBF mit Albumin . . . . .	48
3.7	Blendenkombination beim XRD-Verfahren . . . . .	51
4.1	Auflistung der Probenserien . . . . .	57
4.2	Titannachweis in verschiedenen Lösungen . . . . .	59
4.3	Experimentell nachgewiesene Effekte von Titanionen auf geheizte Proben . . . . .	95
4.4	Experimentell nachgewiesene Effekte von Vanadiumionen auf geheizte Proben . . . . .	96
4.5	Experimentell nachgewiesene Effekte von Kobaltionen auf geheizte Proben . . . . .	98
4.6	Experimentell nachgewiesene Effekte von Chromionen auf geheizte Proben . . . . .	100

4.7	Experimentell nachgewiesene Effekte von Chromionen auf geheizte Proben . . . . .	101
4.8	Wirkung der Metallionen auf die Biomineralisation . . . . .	125
A.1	Thermodynamische Standarddaten der Kalziumorthophosphate . . .	131

# Kapitel 1

## Einleitung

Das Ersetzen menschlicher Gliedmaßen durch künstliche Bauteile hat eine lange Tradition. Bereits im 5. Jh. v. Chr. wurden primitive Prothesen von der Geschichtsschreibung erwähnt, aber erst im 16. Jh. wurden komplexe, mechanische Gelenke und Glieder entwickelt.

Das erste künstliche Hüftgelenk, das aus einer Metallkugel und einer Gelenkpfanne aus Plastik bestand, wurde im Jahre 1960 von dem englischen Ingenieur und Chirurg John Charnley eingesetzt (vgl. Older[75] und Charnley[23]). Die Methoden sowie die benutzten Materialien für die Implantation künstlicher Hüftgelenke wurden seitdem deutlich verbessert, dennoch konnte das Problem der Lockerung von Hüftprothesen bis heute nicht endgültig gelöst werden.

Der Aufbau eines Hüftgelenkersatzes ist in Abbildung 1.1 schematisch dargestellt. Grundsätzlich unterscheidet man zwischen zementierten und unzementierten Hüftprothesen, wobei beide Methoden sowohl Vorteile als auch Nachteile haben. Eine zementierte Prothese ermöglicht es dem Patienten, bereits kurz nach der Einsetzung des Implantats wieder normale körperliche Aktivitäten zu verrichten. Kommt es jedoch zu Ermüdungsbrüchen in der Zementschicht, können die frei werdenden Partikel größere Komplikationen verursachen, die schließlich zum völligen Fehlschlag des Implantats führen. Zudem erfordert die Zementierung eine weiträumige Entfernung von gesundem Gewebe aus dem Oberschenkel- bzw. Beckenknochen, was die mögliche Anzahl an Revisionsoperationen begrenzt. Gerade bei jungen Patienten ist daher die Suche nach einer möglichst dauerhaften Verankerung des künstlichen Hüftgelenks ein wichtiger Aspekt der Hüftprothetik.

Der Begriff der *Osteointegration* bezeichnet die Eingliederung eines künstlichen Implantats in das natürliche Umfeld des Körpers, und zwar nach Möglichkeit derart, dass der Fremdkörper ohne drastische mechanische Übergänge vom umliegenden Gewebe aufgenommen wird. In der vorliegenden Arbeit wird ausschließlich der Fall

der unzementierten Osteointegration eines unbeschichteten Metallschaftes in den Oberschenkelknochen betrachtet. Obwohl es auch viele Ansätze für nichtmetallische Prothesenmaterialien gibt, werden bislang in den weitaus meisten Fällen Metalle und Metalllegierungen benutzt, bei denen wiederum Titanlegierungen, Edelstähle und Kobalt–Chrom–Legierungen vorherrschen. Neben den unbeschichteten Metallen

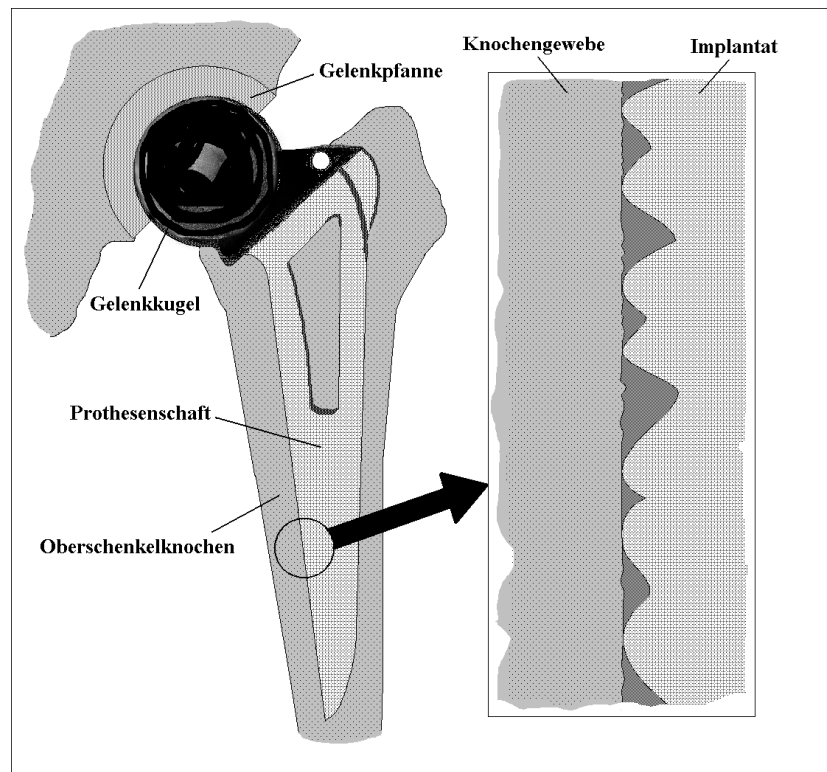


Abbildung 1.1:

Links: Schematische Darstellung eines künstlichen Hüftgelenks, bestehend aus Schaft, Gelenkkugel und Hüftpfanne. Rechts: Grenzfläche zwischen Knochen und (zementlos eingesetztem) Implantat. In den Zwischenräumen sammelt sich Körperflüssigkeit, deren Bestandteile mit der großen Oberfläche des zumeist porösen Implantatmetalls wechselwirken.

werden auch sehr oft sogenannte *bioaktive* Beschichtungen mit keramischen Materialien eingesetzt, die das Knochenwachstum und die Anlagerung von natürlichem Gewebe an die Implantatoberfläche unterstützen sollen<sup>1</sup>. Diese Verfahren führten und führen teilweise zu sehr positiven Ergebnissen, konnten aber bislang auch keine

<sup>1</sup>Ein umfassender Überblick über die verschiedenen Beschichtungsmethoden findet sich bei Sukhodub et al.[98].

dauerhafte Verankerung des Gelenks garantieren, da immer wieder Komplikationen in dem doppelten Interface zwischen Knochen, Beschichtung und Substrat auftreten.

Bei der Implantation unbeschichteter Metalle gewinnt die Oberflächenbeschaffenheit des Materials an Bedeutung. Da zur festen mechanischen Verankerung einer Metalloberfläche in der Knochenhöhle eine poröse Struktur von Vorteil ist, befinden sich Teile der Oberfläche in direktem Kontakt zum umgebenden Knochengewebe,

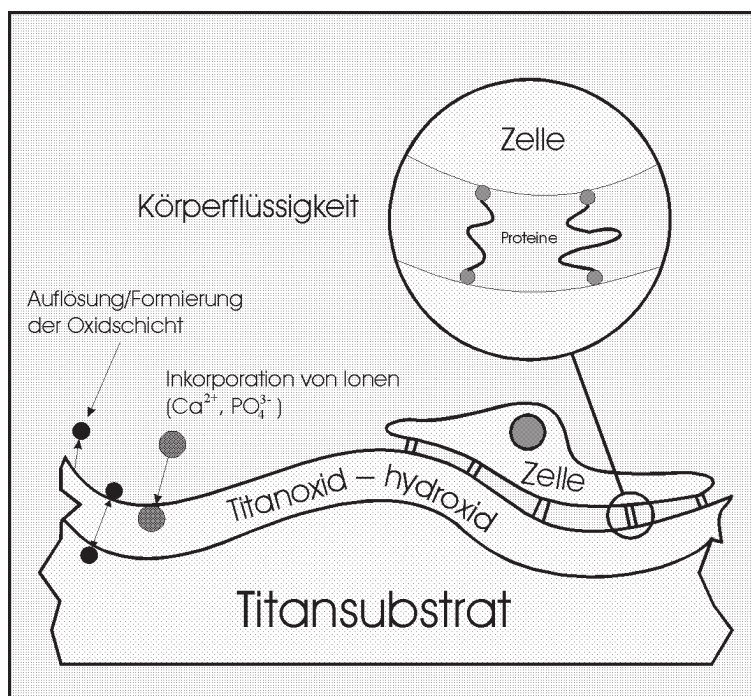


Abbildung 1.2:

Schematische Darstellung der Gewebereaktion auf ein Biomaterial. Die Oxidschicht ist in der Regel 4 – 7 nm dick und enthält Metallionen aus den unterliegenden Legierungsbereichen.

während andererseits Hohlräume auftreten, in denen sich Synovialflüssigkeit sammeln kann (siehe Abbildung 1.1). In diesen Bereichen wechselwirken biologische Komponenten wie Zellen, Proteine und Botenstoffe mit der Metalloberfläche bzw. mit aus dieser Oberfläche austretenden Metallionen (siehe Abb. 1.2). Die natürlichen Bedingungen für die Bildung von neuem Knochengewebe, das den Rest des Knochens mit dem künstlichen Implantat verbinden soll, müssen also als gestört angesehen werden.

Die Knochenneubildung ist ein komplexer Prozess, der die Anlagerung von Zellen an

das Implantat, die Bildung einer organischen Grundsubstanz bzw. unmineralisierten Matrix und die Hartschubstanzbildung durch Verkalkung der Matrix umfasst. In Kapitel 2 werden sowohl die biologischen als auch die physikalischen und chemischen Aspekte der Kalzifikation erläutert.

Der experimentelle Teil dieser Arbeit befasst sich mit den Einflüssen verschiedener, für die Hüftprothetik relevanter Metallionen auf die Kristallisation von Hydroxylapatit (OHAp), dem wichtigsten im Knochen vorkommenden Kalziumphosphat. Zu diesem Zweck werden zwei Modellsysteme für die sogenannte *in-vitro*-Mineralisation vorgestellt, mit deren Hilfe unter verschiedenen Bedingungen und mit unterschiedlichen Metallionenzugaben OHAp-Proben produziert wurden. Durch Kristallstrukturanalyse mit Hilfe der Röntgendiffraktometrie wurde dann die Zusammensetzung der Proben bestimmt und in Relation zu den verwendeten Metallzusätzen gesetzt. Die Betrachtung der bei verschiedenen Temperaturen geheizten Pulverproben soll dazu dienen, die Einflüsse der Metallionen in verschiedenen Phasen der *in-vitro*-Mineralisation von OHAp zu verstehen.

Im Hinblick auf einige neuere Ansätze in der prothetikbezogenen Materialforschung, die auf eine Erhöhung der Bioaktivität durch die Einlagerung organischer Moleküle abzielen, wurden einige Versuche mit Polypeptiden und Proteinen durchgeführt, um zu überprüfen, ob diese Moleküle in der Lage sind, den Effekten von Metallionen entgegenzuwirken.



# Kapitel 2

## Theorie

### 2.1 Knochenbiologie

In diesem Kapitel werden die biologischen, chemischen und physikalischen Aspekte der Osteointegration (d.h. des abstoßungsfreien Einbaus eines künstlichen Implantats in den menschlichen Knochen) erläutert.

#### 2.1.1 Aufbau des Knochens

Als wichtigste Bestandteile des Skeletts haben Knochen in erster Linie Stützfunktion. Sie wirken als Hebel und übertragen die Kontraktionen der Skelettmuskeln und ermöglichen somit jegliche körperliche Bewegung (Junqueira[48]). Aber auch als Teil des Metabolismus kommen dem Knochengewebe wichtige Aufgaben zu, und zwar in erster Linie als Speicherorgan. 99 % des Kalziums im Körper werden im Knochen abgelagert. Die *Substantia Spongiosa*, ein schwammartiges Balkenwerk, das sich im Inneren des Knochens befindet, sowie das feine Netz aus *Canaliculi* bilden zusammen eine Ionenaustauschfläche von 250 m<sup>2</sup> (Thomas[1]). Während sich die *Substantia Spongiosa* bei Röhrenknochen vornehmlich an den Enden (**Epyphysen**) findet, besteht der mittlere Teil (die **Diaphyse**) aus der stabileren und gleichmäßiger aufgebauten *Substantia Compacta*. Die äußere und innere (dem Knochenmark zugewandte) Oberfläche des Knochens ist von Bindegewebe bedeckt, dem **Periost** bzw. **Endost**. Das Periost ist mit Kollagenfasern an der Außenseite des Knochens befestigt und trägt durch seinen Gefäßreichtum wesentlich zur Ernährung des Knochens bei. Endost enthält normalerweise keine Kollagenfasern und bedeckt die innere Knochenoberfläche sowie die Spongiosabälkchen.

Bei den Baumaterialien des Knochens unterscheidet man zwischen den Knochenzellen und der Interzellulärsubstanz.

### 2.1.1.1 Knochenzellen

Es gibt vier verschiedene Formen von Knochenzellen, und zwar Vorläuferzellen, Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten.

**Vorläuferzellen** befinden sich in der Nähe der äußeren und inneren Knochenoberfläche und in den Havers-Kanälen (siehe Abschnitt 2.1.1.3). Sie sind relativ undifferenziert, d.h. sie besitzen keinen ausgeprägten Syntheseapparat. Zum Einsatz kommen sie in erster Linie während des Knochenwachstums und können später (z.B. zur Heilung von Knochenbrüchen) reaktiviert werden[48].

**Osteoblasten** gehen durch Zelldifferentiation aus den Vorläuferzellen hervor. Sie synthetisieren die organischen Bestandteile der Knochengrundsubstanz (Typ-I-Kollagen, Glykoproteine usw.) und wirken durch Sezernierung von alkalischer Phosphatase an der Hartsubstanzbildung mit (siehe Abschnitt 2.1.1.4)[1]. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum kann zur Abschätzung der Osteoblastentätigkeit dienen (Ozawa[77]).

Osteoblasten stehen über feine zytoplasmatische Fortsätze miteinander in Verbindung, die sichtbar werden, wenn die Zellen beginnen, sich mit Knochengrundsubstanz zu umgeben. Diese noch nicht verkalkte Grundsubstanz wird als *Osteoid* oder Vorknochen bezeichnet[48].

Ist eine Knochenzelle vollständig von Knochengrundsubstanz umgeben, so wird sie als **Osteozyt** bezeichnet. Osteozyten sind also aus den Osteoblasten hervorgegangen, besitzen aber im Vergleich zu diesen einen zurückgebildeten Syntheseapparat. Die Fortsätze zwischen den Zellen, die sich in feinen Knochenkanälchen befinden, dienen dem Stoffwechselfaustausch des Knochengewebes und können Ionen und kleinere Moleküle bis zu 15 Zellen weit transportieren.

Osteozyten haben unterschiedliche Funktionen und liegen daher in zwei verschiedenen Formen vor: Als **osteoblastische Osteozyten** dienen sie in erster Linie der Hartsubstanzerhaltung, indem sie offenbar Kalziumphosphat in ihrem Zellplasma konzentrieren. Als **osteolytische Osteozyten** befinden sie sich vornehmlich in tiefen Knochenlagen und können durch Hartsubstanzabbau Kalzium freisetzen.

**Osteoklasten** sind bewegliche Riesenzellen, die 50 und mehr Zellkerne enthalten können. Sie enthalten saure Phosphatase und sind mit proteolytischen

Enzymen (z.B. Kollagenase) in der Lage, mineralisiertes Knochengewebe zu resorbieren. Prinzipiell geschieht dies offenbar durch die Erzeugung eines sauren Milieus an der sogenannten *ruffled border* der Osteoklasten, die der Knochenabbaufäche zugewandt ist[48].

### 2.1.1.2 Interzellulärsubstanz

Die Interzellulärsubstanz (auch Knochengrundsubstanz genannt) besteht zu etwa 50 % aus *Mineralien*, zu 25 % aus *organischen Verbindungen* und zu 25 % aus *Hydrationswasser*.

Die mineralischen Anteile der Knochengrundsubstanz bestehen zu ca. 50 % aus *anorganischem Phosphat* und zu etwa 35 % aus Kalzium. Der Rest verteilt sich auf Zitrat, Karbonat, Nitrat, Natrium, Magnesium, Fluor und Spurenstoffe. Die Mineralien im Knochen liegen in erster Linie in Form von *Apatitkristallen* vor (siehe Abschnitte 2.1.1.3 und 2.2).

Das organische Material besteht zu 90–95 % aus Kollagen, das in Form von *Kol-*

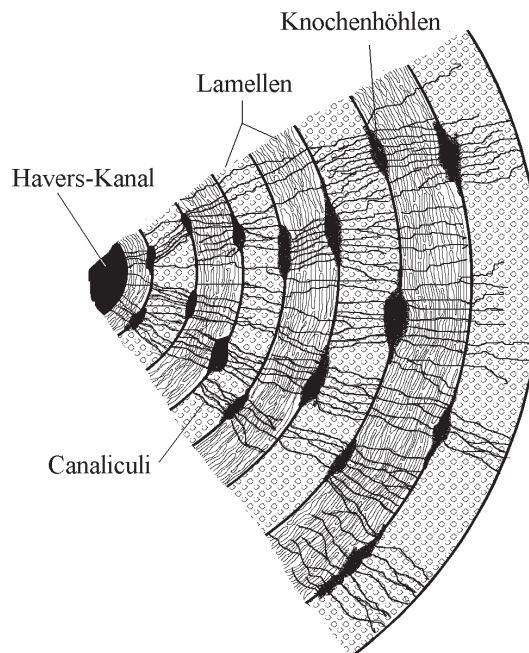


Abbildung 2.1:

Ausschnitt aus einem Osteon. Angedeutet ist der annähernd orthogonale Verlauf der Kollagenfasern in benachbarten Lamellen. Eingezeichnet sind außerdem die Lakunen (Knochenhöhlen), in denen sich die Knochenzellen befinden, die über die Canaliculi mit dem zentralen Havers-Kanal in Verbindung stehen. Umgezeichnet nach [48].

*lagenfasern* vorliegt (s. unten). Den Rest machen verschiedene Proteine aus, z.B. *Osteonektin* und *Osteokalzin*. Einige dieser Stoffe sind für die Stabilität des Knochens wichtig, denn sie verbinden die Knochenminerale mit den Kollagenfasern bzw. den Zellen.

Das *Hydratationswasser* befindet sich im Hydratmantel der Hydroxylapatitkristalle (s. Abschnitt 2.2), der die Voraussetzung für den Ionenaustausch zwischen den Kristallen und der Umgebung schafft. Dieser ist wichtig für die Einlagerung und Mobilisierung des Kalziums im Knochen.

### 2.1.1.3 Histologischer und funktioneller Bau

Histologisch betrachtet gibt es zwei Arten von Knochengewebe, und zwar **Geflecht-knochen** und **Lamellenknochen**. Das Stadium des Geflechtknochens wird bei jeder Knochenneubildung durchlaufen. Die Kollagenfasern in der Grundsubstanz des Geflechtknochens besitzen keine bevorzugte Orientierung. Auch ist im Geflechtknochen der Anteil an Mineralien geringer als im Lamellenknochen.

Lamellenknochen, in dem die Kollagenfasern in der Regel einen schraubenförmigen Verlauf haben, geht aus dem Geflechtknochen durch Umbauprozesse hervor. Die Lamellen sind gegeneinander abgesetzte, etwa 3–7  $\mu\text{m}$  dicke Knochenlagen, die konzentrisch um längsgerichtete Hohlräume (die sogenannten *Havers-Kanäle*) angeordnet sind. In diesen Kanälen verlaufen Nerven und Blutgefäße. Die Havers-Kanäle sind zudem untereinander durch *Volkman-Kanäle* querverbunden. Das Gesamtsystem aus Zentralkanal und umliegenden Knochenlamellen, in die die Knochenhöhlen der Osteozyten eingelagert sind, nennt man **Osteon** (s. Abbildung 2.1). Solche Osteone, die mehrere cm lang werden und bis zu 20 Lamellen enthalten können, finden sich hauptsächlich in Röhrenknochen (z.B. Oberschenkelknochen).

### 2.1.1.4 Knochenentwicklung

Knochen entsteht entweder durch *direkte* Knochenbildung (**desmale Ossifikation**) oder *indirekte Knochenbildung* (**chondrale Ossifikation**).

Am häufigsten tritt die desmale Ossifikation auf, bei der sich der Knochen direkt aus dem *Mesenchym* (dem embryonalen Bindegewebe) entwickelt. Auch der bei Knochenbrüchen auf Knorpelresten entstehende Knochen wird desmal gebildet. Eingeleitet wird der Vorgang durch die Vermehrung von Vorläuferzellen (vgl. Abschnitt 2.1.1.1) im Bindegewebe, die dann zu Osteoblasten differenzieren und als solche Kollagen und Osteoid produzieren. Sie scheiden das Material in die Umgebung ab und mauern sich dabei ein. Die Kollagenfasern in der organischen Matrix des desmal gebildeten Knochens haben eine zufällige Orientierung. Daher liegt

nach der Mineralisierung durch Kalziumphosphatniederschläge Geflechtknochen vor (vgl. Abschnitt 2.1.1.3). Man bezeichnet die Bereiche, in denen die desmale Knochenbildung beginnt, als *primäre Ossifikationszentren*. Jüngste Untersuchungen haben gezeigt, dass die Ossifikationszentren im menschlichen *Femur* (Oberschenkelknochen) sich bevorzugt in Richtung Rumpf ausdehnen (Panattoni[78]).

Die chondrale Ossifikation verläuft über den Umweg der Bildung von Knorpel, der zunächst als grobes Modell des zu entwickelnden Knochens vorliegt. Die weitere Knochenbildung findet dann zum einen an der Schaftoberfläche des Knorpelmodells statt (*perichondrale Ossifikation*), zum anderen wird der vorhandene Knorpel teilweise zu Geflechtknochen umgewandelt (*enchondrale Ossifikation*) und anschließend in Lamellenknochen umgebaut. Die perichondral gebildete Knochenmanschette um den Schaft des Knorpelmodells wird außerdem von Osteoklasten durch Resorption von Knochensubstanz perforiert, so dass Blutgefäße ins Innere des Schafts einwachsen können. Durch die nachfolgenden komplexen Umbauvorgänge bildet sich schließlich die *primäre Markhöhle*, von der aus das weitere Längen- und Dickenwachstum des Knochens ausgeht. Näheres zur Verkalkung des neuen Knochens findet sich in Abschnitt 2.1.2.

#### 2.1.1.5 Steuerung des Knochenumbaus

Knochenwachstum ist ein Vorgang, der praktisch während des gesamten Lebens stattfindet. Nimmt die mechanische Belastung eines Bereichs im Knochen ab, so wird dort Gewebe resorbiert<sup>1</sup>, während in stärker belasteten Zonen die Knochenneubildung zunimmt. Abbildung 2.2 zeigt den Zyklus einer sogenannten *basic multicellular unit* (BMU), die pro Durchlauf etwa 0,05 mm<sup>3</sup> Knochensubstanz umschlägt. Der Umbau beginnt mit der *Aktivierungsphase*, in der osteoblastische Zellen mittels proteolytischer Enzyme die mineralisierte Matrix des Knochens freilegen. In der *Resorptionsphase* bauen Osteoklasten durch die Schaffung eines sauren Milieus die Knochenmineralien ab. Außerdem zersetzen sie die organischen Matrixbestandteile. Danach lagern sich Makrophagen an die erodierte Knochenoberfläche an, die der Gewebereorganisation dienen und die *Umkehrphase* einleiten. Daran schließt sich die *Formationsphase* an, in der die Knochenoberfläche wieder mit Osteoblasten besiedelt wird, die den abgebauten Knochen erneuern. Geschwindigkeit und Umfang der Knochenerneuerung hängen von vielen empfindlichen Faktoren ab. Ein Umbauzyklus dauert etwa vier Monate.

---

<sup>1</sup>Dieser Effekt tritt z.B. während längerer Aufenthalte in der Schwerelosigkeit auf (Földes[35]).

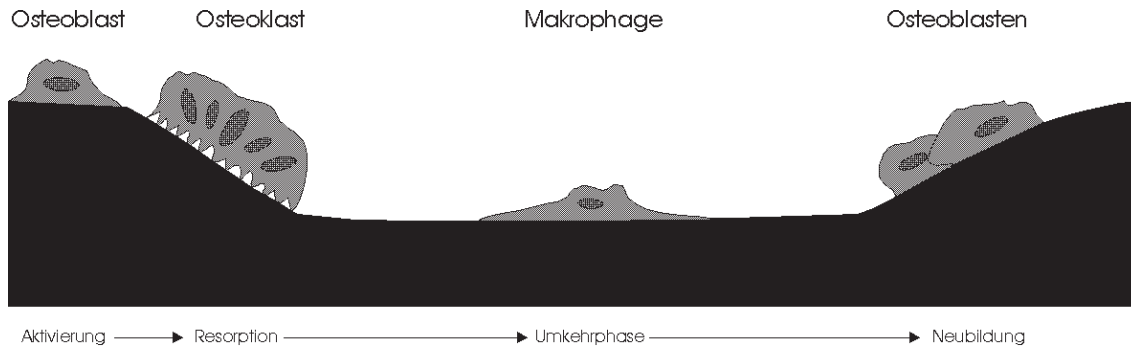


Abbildung 2.2:

Schematische Darstellung des Umbauzyklus in einer multizellulären Basiseinheit. Umgezeichnet nach [1].

### 2.1.1.6 Histophysiologie des Knochens

Der Knochen hat sowohl mechanische Aufgaben als auch metabolische in seiner Funktion als Kalziumspeicher. Durch die leichte Aufnahme von Kalzium durch den Knochen wird die Kalziumkonzentration im Blut sehr konstant gehalten. Hierbei gibt es einen **schnellen Mechanismus** und einen **langsamen Mechanismus**.

Der schnelle Mechanismus ist ein rein physikalischer Diffusionsvorgang und beruht auf der großen Oberfläche der Hydroxylapatitkristalle (siehe Abschnitt 2.2), die den im Hydratmantel der Kristalle liegenden Kalziumionen die Ablösung und Diffusion ins Blut ermöglicht<sup>2</sup>. Diese Vorgänge finden bevorzugt in jungen Lamellen statt, die auch beim Erwachsenen wegen der ständig ablaufenden Umbauprozesse im Knochen vorkommen.

Der langsame Mechanismus basiert auf der hormonellen Regulierung der Knochenresorption. Durch bestimmte Hormone (Nebenschilddrüsenhormon und Kalzitinin) kommt es zur Zunahme bzw. Abnahme der Osteoklastenaktivität. Gesteuert wird die Tätigkeit der entsprechenden Drüsen durch die Kalziumkonzentration im Blut.

### 2.1.2 Verkalkung von neugebildetem Knochengewebe

Der Vorgang der Verkalkung der Knochenmatrix konnte bislang nur ansatzweise geklärt werden[48]. Bekannt ist, dass seine Initiierung in erster Linie durch die Interaktion von **Osteoblasten** und **Kollagenfasern** bestimmt wird. Abbildung 2.3 zeigt, wie sich von den Osteoblasten Matrixbläschen mit einem Durch-

<sup>2</sup>Es wird angenommen, dass in jeder Minute 25 % der Kalziumionen im Blut gegen Kalziumionen des Knochens ausgetauscht werden.

messer von ca. 100 nm abschnüren. In diesen *Vesikeln* befinden sich u.a. Kalziumkomplexe von Phospholipiden, basische Proteine und alkalische Phosphatase. Es kommt zur Bildung von Kalziumphosphatkristallen, die nach dem Platzen

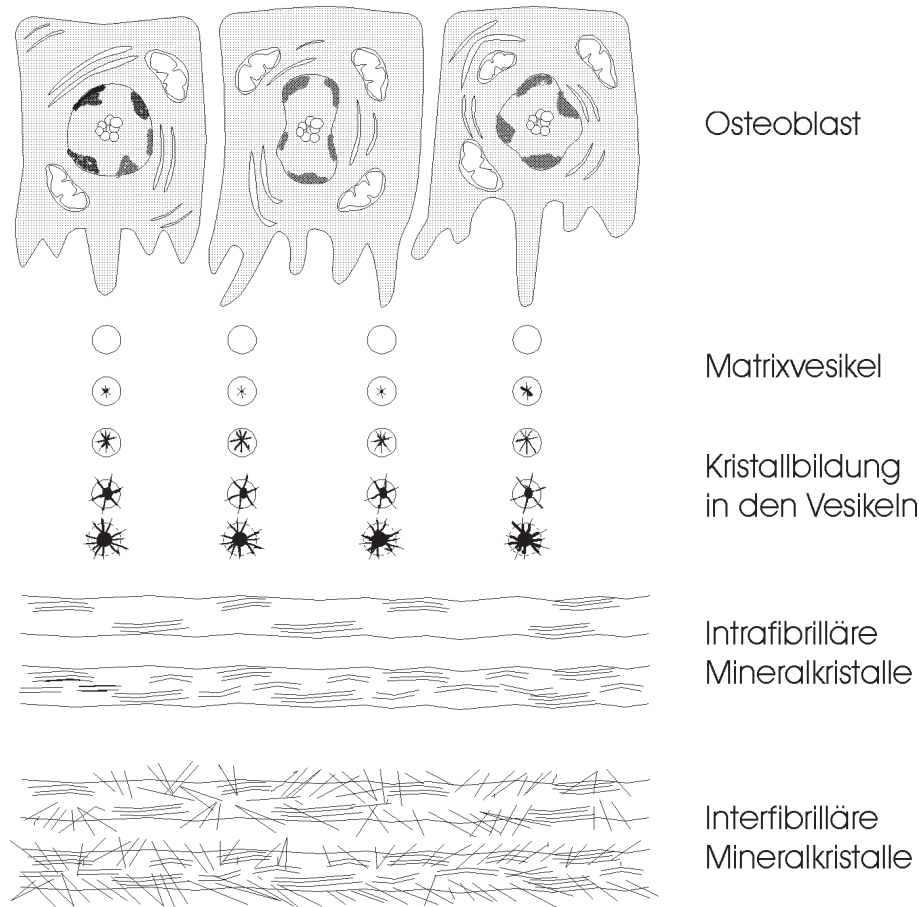


Abbildung 2.3: Knochenbildung durch Osteoblasten. Kalziumphosphatkristalle bilden sich in den von den Osteoblasten abgegebenen Matrixvesikeln. Nach dem Platzen der Vesikel lagern die Kristalle sich an Kollagenfibrillen an. Umgezeichnet nach Marks et al. [65].

der Vesikel als Keimbildner an extrazellulären Nukleationszellen dienen. Die Kalziumphosphatfällung beginnt an den Kollagenfasern, und zwar zunächst unter Ausbildung eines der Oberflächenstruktur der Fasern entsprechenden Streifenmusters, das durch weitere Ausfällungen verloren geht[48]. Dieser Vorgang lässt sich wahrscheinlich hauptsächlich als Kristallisation aus einer lokal mit  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen übersättigten Lösung verstehen. Schließlich wandelt sich das Kalziumphosphat zu Hydroxylapatitkristallen um (s. unten).

Die Kristallbildung innerhalb der Kollagenfibrillen ist der messtechnischen Unter-

suchung noch weniger zugänglich. SAXS<sup>3</sup>-Studien an langen Knochen von Mäusen und Ratten haben gezeigt, dass die Hydroxylapatitkristalle in den Fibrillen offensichtlich parallel zur Knochenachse ausgerichtet sind (Fratzl[36]). Die Positionen der in den Intensitätsspektren auftretenden Maxima wiesen dabei auf eine periodische Anordnung der Kristalle mit einem Abstand von jeweils 67 nm hin, entsprechend der Anordnung der Hohlräume zwischen den Molekülen der Kollagenfibrillen nach dem Modell von Hodge und Petruska[41]. Dies führte zu der Annahme, dass das

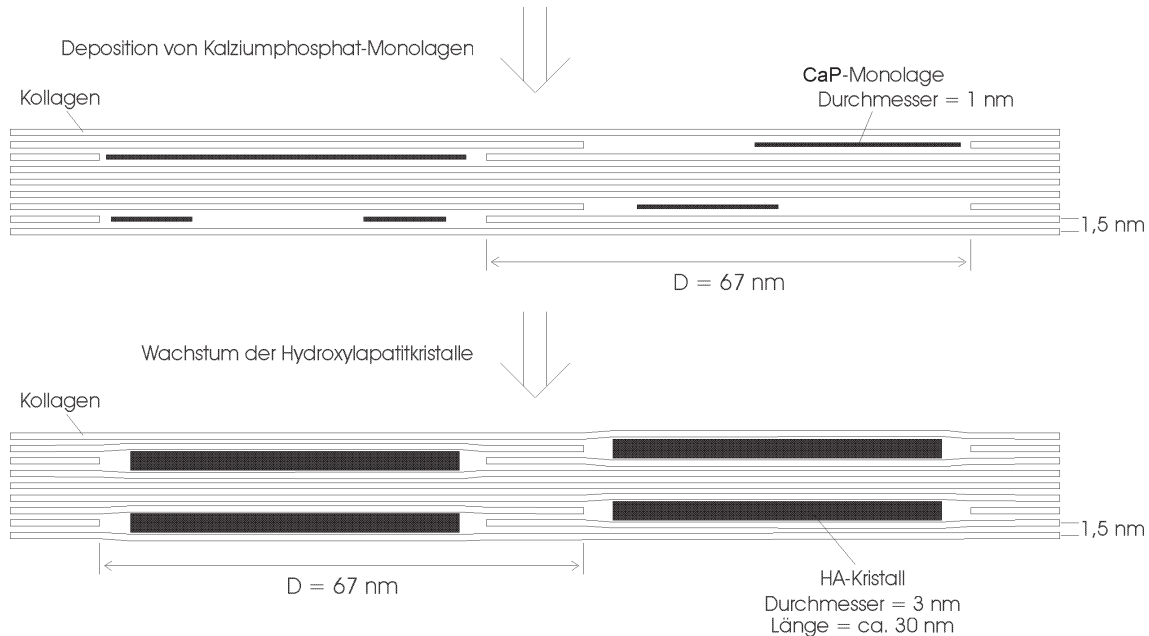


Abbildung 2.4:

Modell der Kalzifikation: Zuerst bilden sich Monolagen von Kalziumphosphat innerhalb der Lochzonen der Kollagenfibrillen. Dann nimmt die Dicke dieser Lagen durch die Formierung von Hydroxylapatitkristallen zu, bis die maximale Dicke von 3 nm erreicht ist. Diese Kristalle üben bereits leichte Kompression auf die Mikrofibrillen aus, die zwischen ihnen liegen (Nach [36]).

Kristallwachstum innerhalb der Fibrillen gemäß dem in Abbildung 2.4 dargestellten Modell erfolgt. Demnach beginnt die Deposition der Kalziumphosphatkristalle innerhalb der Lochzonen in den Kollagenfibrillen, wobei wahrscheinlich das Kollagen selbst oder kollagenassoziierte, kalziumbindende Moleküle als Substrat dienen. Das Wachstum setzt sich dann vornehmlich in axialer Richtung fort, da die längliche Form der Löcher als rein räumliche Inhibition des radialen Wachstums wirkt.

Wie Abbildung 2.4 zeigt, wachsen die Hydroxylapatitkristalle in radialer Richtung

<sup>3</sup>Small-Angle X-Ray Scattering



bis zu einer maximalen Dicke von 3 nm, was allerdings nur möglich ist, wenn man annimmt, dass die Mikrofibrillen komprimiert werden<sup>4</sup>.

### 2.1.3 Grundlagen der Hüftprothetik

Die ersten großangelegten Versuche in der Hüftprothetik fanden zwischen 1950 und 1960 statt. Dabei wurden allerdings zunächst nur Teile von Gelenken ersetzt, die einfach auf oder in den Knochen gesteckt wurden.

In den 60er Jahren wurde Polymethylmetacrylat als Mittel zur Zementierung der Prothesen im Knochen eingeführt. Der Vorteil dieser Methode liegt darin, dass der Knochen bereits kurze Zeit nach der Implantation wieder hohe Belastungsstabilität zeigt, bedingt durch die große Kontaktfläche zwischen Knochen und Implantat (die sogenannte *Kongruenz*). Da man diesen Knochenzement für den Hauptteil der Fehlschläge beim Einwachsen von Hüftendoprothesen verantwortlich machte, wurden in den 70er Jahren neue Verfahren zur zementfreien Verankerung entwickelt. Allerdings ist es aus anatomischen Gründen niemals möglich, mit einer unzementierten Verankerung die nahezu 100 %-ige Kongruenz der zementierten Implantate schon in der Einwachsphase zu erreichen (Plitz[84]). Dies gilt in besonderem Maße für gekrümmte Implantatschäfte.

Eine im Jahre 1994 veröffentlichte Studie, die über 95 % aller Kliniken in der BRD erfasste, zeigte einen Anteil der unzementierten Verankerung von 35–40 % bei den Hüftpfannen und etwa 20–25 % bei den Schaftsystemen (Gierse[38]). Zementierte Titanprothesen sind jedoch wegen schwerwiegender Spätschäden, die durch das Versagen der Zementschicht und die dabei entstandenen Partikel hervorgerufen wurden, in jüngster Zeit heftiger Kritik ausgesetzt gewesen[6]. Angesichts der Vielzahl der in der Literatur beschriebenen Verfahren zur Implantatverankerung und der immer noch schwer zu prognostizierenden Reaktion des Patienten im Einzelfall kann weder die zementierte noch die zementfreie Verankerung als eindeutig zu bevorzugende Methode gelten (Aldinger[3]).

#### 2.1.3.1 Aufbau und Implantation einer Hüftprothese

Abbildung 2.5 zeigt den anatomischen Aufbau eines menschlichen Hüftgelenks. Zu sehen sind die Gelenkflächen, die sich aus der im Beckenknochen befindlichen Gelenkpfanne und dem Kopf des Oberschenkelknochens zusammensetzen. Der Femurkopf ist mit der *Fossa acetabuli* (der nicht überknorpelten Grube am Grunde der

---

<sup>4</sup>Tatsächlich belegen Untersuchungen mit Neutronenstreuung, dass der mittlere Abstand der Mikrofibrillen in demineralisiertem Knochenkollagen deutlich höher ist als in reifem Knochen (Bonar[17]).

Hüftgelenkpfanne) über ein Band verbunden. Das Gelenk wird verstärkt durch vier weitere extrakapsuläre Bänder, von denen das *Ligamentum ileofemorale* das stärkste Band des Körpers ist.

Künstliche Hüftgelenke bestehen aus drei Hauptkomponenten, und zwar aus dem Schaft, dem darauf befestigten Kugelkopf und der Hüftpfanne, die in den Beckenknochen eingesetzt wird. Abbildung 2.6 zeigt zwei Prinzipien, nach denen sich der Implantatschaft im Oberschenkelknochen verankern lässt. Die *intramedulläre* Ver-

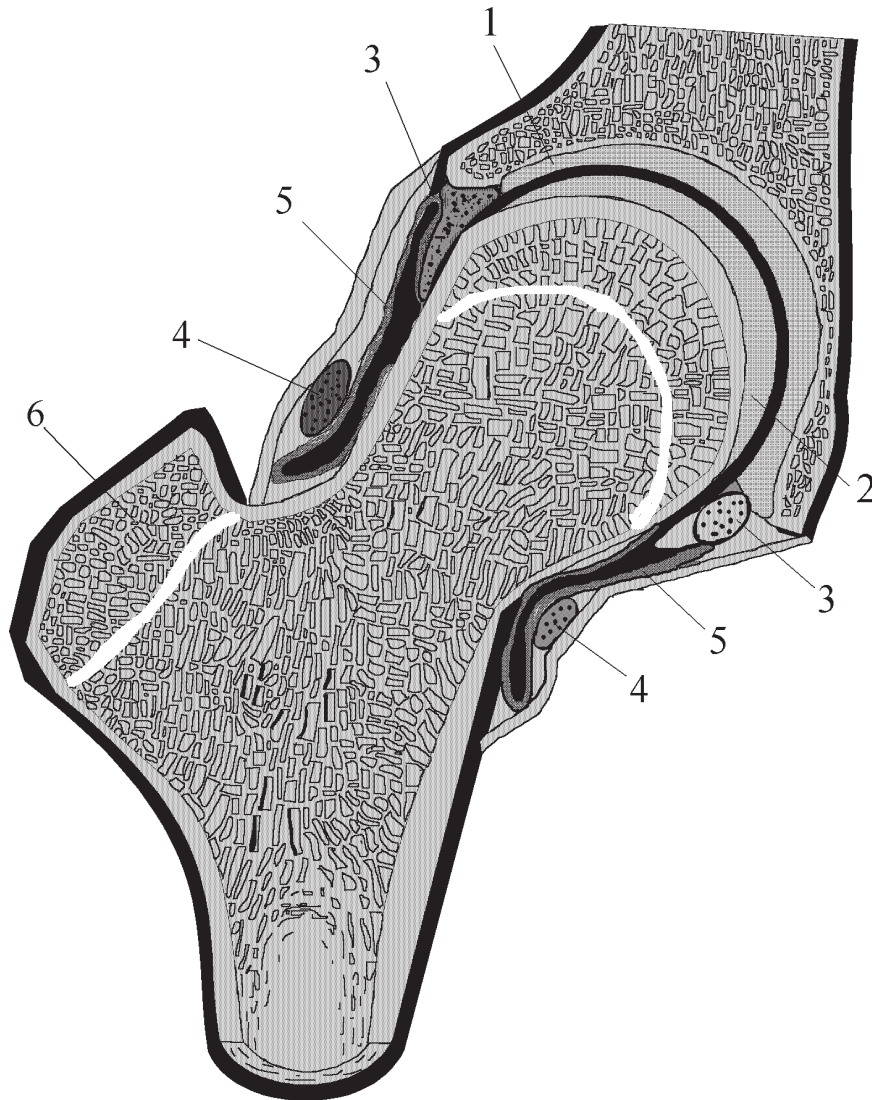


Abbildung 2.5:

Aufbau des menschlichen Hüftgelenks. 1 Gelenkpfanne (Facies lunata acetabuli). 2 Gelenkfläche des Femurkopfes. 3 Knorpelige Erweiterung der Gelenkpfanne (Labrum acetabulare). 4 Gelenkbänder. 5 Gelenkhöhle. 6 Trochanter. Umgezeichnet nach [1].

ankerung wird am häufigsten angewendet (Bäthis[9]). Der Prothesenschaft wird dabei entweder im Markraum des Femurschafts zementiert oder zementfrei durch das sogenannte *Pressfit*-Verfahren verankert. Das *Zugschraubenprinzip* wird besonders bei jüngeren Patienten angewandt, da bei dieser Methode die Markhöhle nicht ausgefräst werden muss, wie Abbildung 2.6 erkennen lässt. Wenn im späteren Verlauf des Lebens eine Revision notwendig wird, gibt es für eine dann wahrscheinlich notwendige intramedulläre Verankerung deutlich bessere Voraussetzungen.

Die Oberfläche des Schaftmaterials ist von großer Wichtigkeit für die Verankerung

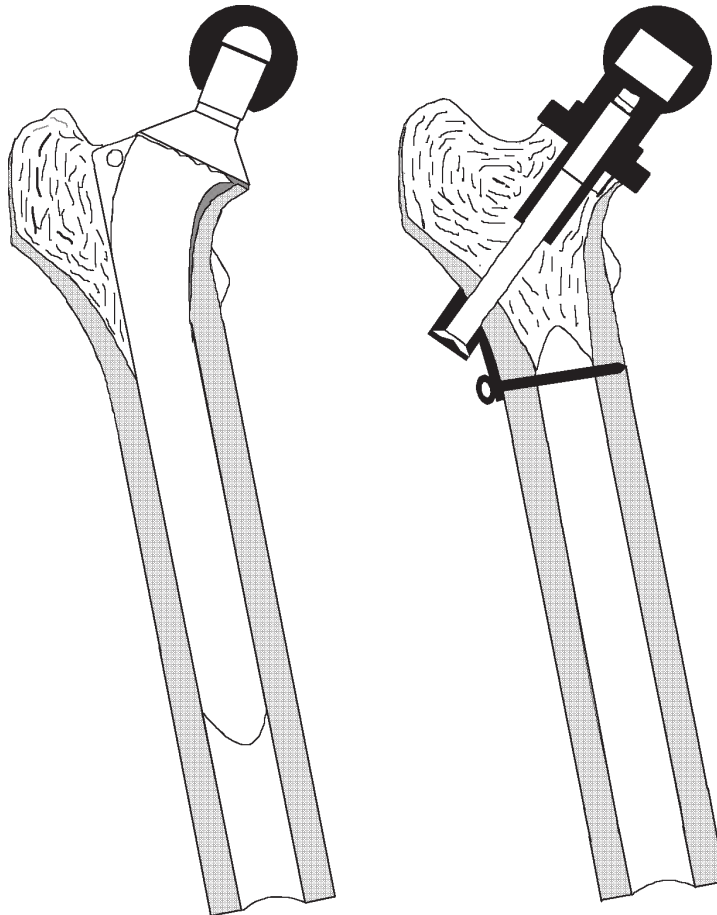


Abbildung 2.6: Verankerungsprinzipien zementfreier Hüftprothesenschäfte. Links die intramedulläre Verankerung, rechts das Zugschraubenprinzip. Umgezeichnet nach Ungethüm[104].

und sollte dem Knochen angepasst sein, um eine möglichst harmonische Kräfteübertragung zu gewährleisten und punktförmige Belastungen des Knochengewebes zu vermeiden (Morscher[72]). Viele Schäfte haben daher eine gerippte Oberfläche. Unzementierte Prothesenschäfte neuerer Bauart weisen an den tiefer im Femurknochen liegenden Anteilen in der Regel keine ausgeprägte Oberflächenstruktur auf, so dass

gegenüber zementierten Prothesen der Vorteil der geringeren Abtragung von Knochenmaterial besteht[84].

Eine besondere Rolle bei der Osteointegration des Prothesenschafts spielt die Steifigkeit des verwendeten Materials. Während beim Pfannenteil der künstlichen Hüfte mechanische Kräfte in erster Linie als Druckkräfte auf das Becken übertragen werden, wirken am Femurschaft erhebliche Biege- und Rotationskräfte[72]. Im Tierversuch wurde gezeigt, dass Materialien mit geringer Steifigkeit zu unvollständiger Knochenneubildung um den Implantatschaft und zu verfrühter Lockerung der Prothese führen (Buma[22]). Besonders im proximalen Bereich, wo der größte Teil der Kräfte zwischen Knochen und Implantat übertragen wird, muss die Deformation des implantierten Materials deutlich kleiner als die des umgebenden Knochens sein.

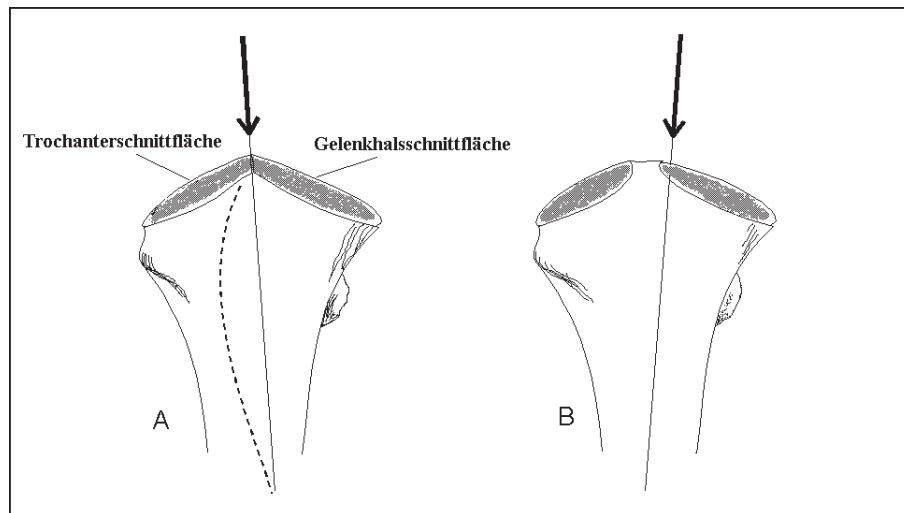


Abbildung 2.7: Schnittflächen des abgesägten Femurkopfes. In A ist die Knochenbrücke zwischen der Schnittfläche des Trochanterbetts und der des Gelenkhalses entfernt worden, so dass der Bohrer in der korrekten Richtung eingeführt werden kann. In B verhindert die Knochenbrücke die korrekte Bohrung. Besonders bei gekrümmten Schäften (in A durch die gestrichelte Linie angedeutet) ermöglicht die in A gezeigte Bohrrichtung eine optimale Fixierung, da sich zwischen dem konkaven Teil des Schafts und der lasttragenden Femurinnenseite eine große Menge an Knochenmaterial befindet. Umgezeichnet nach Eftekhari[30].

Die Implantation eines Prothesenschafts in den Femur erfordert einige chirurgische Vorbereitungsmaßnahmen am Knochen. Für die intramedulläre Verankerung muss zunächst der Femurkopf entfernt werden. Dazu werden sowohl die Gelenkkugel als auch der in Abbildung 2.5 gezeigte Knochenvorsprung (*Trochanter*) abgesägt, so dass zwei schräg zueinander stehende Schnittflächen entstehen (siehe Abbildung 2.7). Mit einem Spezialwerkzeug wird dann beginnend von der Schnittgeraden der

beiden Flächen aus in Richtung Kniegelenk manuell oder maschinell das Knochenmark aufgebohrt[30]. Danach werden sukzessive größere, gerade Stechisen in die vorgegebene Bohrung getrieben. Lässt die Form des Knochens es zu, wird schließlich ein gekrümmtes Stechisen eingesetzt, das dann auch die Form des zu wählenden Implantatschafts vorgibt. Nach dem Einpressen des eigentlichen Hüftschafts wird die Implantation der Hüftpfanne ins Becken durchgeführt.

### 2.1.3.2 Der Osteointegrationsprozess als Frakturheilung

Beim Einsetzen eines Hüftimplantatschafts in den Oberschenkelknochen wird gesundes Knochengewebe aus dem Femurschaft entfernt. Es liegt daher nahe, die Osteointegration als Spezialfall einer Knochenbruchheilung zu betrachten. Die Frakturheilung wird in der Medizin traditionell in vier Stadien der Beschreibung eingeteilt: **Entzündung**, **weicher Kallus**, **harter Kallus** und **Umbauphase**.

In der Entzündungsphase kommt es im Frakturgebiet zu Blutungen aus gerissenen Gefäßen. Es bildet sich ein **Frakturhämatom**. Bei gewöhnlichen Brüchen finden sich in diesem Blutgerinnsel zudem abgestorbene Zellen und Knochenfragmente, die zur Bildung lysosomaler (zellmaterialresorbierender) Enzyme führen.

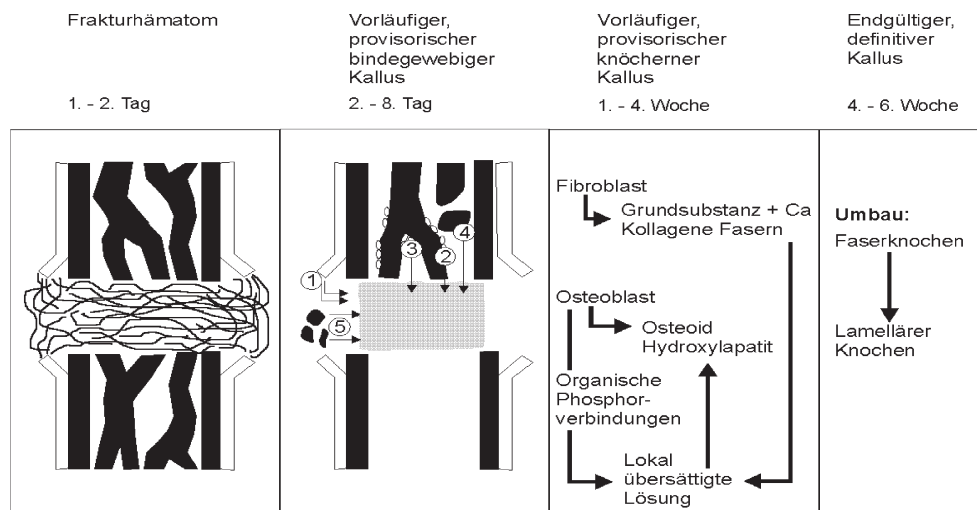


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung der Frakturheilung. Zur Erläuterung der zweiten Phase (2.– 8. Tag): 1: Einwachsen der Blutgefäße aus Periost und Endost. 2 und 3: Bildung von Knorpel. 4 und 5: Proliferation osteogener Zellen in die Bruchzone. Umgezeichnet nach Thomas[1].

Innerhalb einer Woche nach dem Bruch entsteht der weiche, provisorische Kallus, der noch nicht tragfähig ist und sich in den folgenden Wochen durch Minerali-

sierung und Knochenbälkchenbildung zum harten Kallus umwandelt. In dieser Phase muss der Knochenbruch gut fixiert sein, bis sich der Geflechtknochen vollständig entwickelt hat, da es sonst zur Bildung von fibrosem Knorpelgewebe kommen kann (Kalfas[49]). In der 4.– 6. Woche nach der Fraktur entwickelt sich der definitive Kallus durch die Umbauphase, in der der Geflechtknochen langsam durch Lamellenknochen ersetzt wird. Damit ist der Heilungsprozess abgeschlossen.

Betrachtet man die medizinischen Eingriffe, die mit der Implantation eines künstlichen Hüftprothesenschafts einhergehen (siehe Abschnitt 2.1.3.1), so sieht man, dass zumindest im Bereich des Gelenkhalses deutliche Parallelen zum Knochenbruch auftreten, da dort der gesunde Knochen durchgesägt wird. Die Reaktion des Knochengewebes auf das Einpressen des Implantatschafts erfolgt im allgemeinen ähnlich wie bei frakturinduzierter Knochenheilung (Willert[113]). Posthume Untersuchungen an mehreren Patienten zeigten einige Jahre nach der Operation nahezu vollständige Inkorporation des Metallschafts durch lamellaren Knochen, die offensichtlich im distalen Bereich ihren Ursprung hatte und sich von dort in Richtung Rumpf ausgebreitet hatte (Lintner[60]). Dies ist ein deutliches Anzeichen dafür, dass die Bildung des neuen Knochengewebes sowie der lamellare Umbau durch die mechanischen Kräfte hervorgerufen wird, die durch die *Pressfit*-Verankerung ausgeübt werden. Auf diese Weise erfolgt die Einbettung des Implantats ohne die Bildung einer Zwischenschicht aus Bindegewebe oder Fremdkörper-Riesenzellen<sup>5</sup>, es entsteht ein direkter Kontakt zwischen Metall und Knochengewebe.

### 2.1.3.3 Emission von Metallionen aus Implantaten

Im allgemeinen werden für die Fertigung von Hüftimplantatschaften Metalle benutzt, die gute mechanische Eigenschaften mit Korrosionsbeständigkeit und Biokompatibilität vereinen. Neben Edelstahl und Kobalt-Chrom-Legierungen kommen besonders Titan und Titanlegierungen (z.B. Ti6Al4V) zum Einsatz. Die Korrosionsbeständigkeit der Implantate hängt allerdings nicht nur von den verwendeten Materialien, sondern auch von ihrer Oberflächenbeschaffenheit ab.

Dass auch Metalle, die als sehr korrosionsbeständig gelten, im menschlichen Körper zu einer Anreicherung von Metallionen im umliegenden Gewebe führen, wurde schon vor Jahrzehnten in Tierversuchen gezeigt. Dabei wurden verschiedene Metalle für mehrere Monate in Muskelgewebe implantiert. Die Analyse der entnommenen Gewebeproben zeigte signifikante Abweichungen der Metallkonzentrationen im Vergleich zu normalem Gewebe (Ferguson[33]). Jüngere Veröffentlichungen bestätigten die

---

<sup>5</sup>Die Ausbildung solcher Zwischenschichten tritt für gewöhnlich bei Implantaten auf, die mit Zementen auf Acrylatbasis verankert werden.

Emission von Metallionen aus Kobalt–Chrom–Legierungen (Tomas[101]), Ti6Al4V und reinem Titan (Ducheyne[28]). Langzeitstudien zeigten außerdem eine Akkumulation von Ti–Ionen in den Organen von Versuchstieren, denen Titanplättchen zur Fixierung von Knochenbrüchen implantiert worden waren (Bessho[12]) (vgl. auch die umfangreichere Langzeitstudie von Woodman[114]). Im Zuge dieser Studie konnte auch gezeigt werden, dass die Freisetzung von Ionen offensichtlich durch mechanischen Stress begünstigt wird.

Titanimplantate mit einer stark porösen Oberfläche zeigten bei der Implantation in Hundeknochen signifikant höhere Ti–Konzentrationen im umliegenden Gewebe als Vergleichsproben aus Bulkmaterial. 12 Monate nach der Implantation wurden Konzentrationen bis zu 2100  $\mu\text{g/g}$  Trockengewicht gemessen[101].

Ortsauflösende  $\mu\text{-PIXE}^6$ –Messungen der Elementkonzentrationen um in Hasenknochen eingesetzte Ti6Al4V–Schrauben zeigten sowohl Titan als auch Aluminium in Bereichen der Knochenrinde, die mehr als 200  $\mu\text{m}$  von der Implantatoberfläche entfernt waren (Ektessabi[31]).

Diese Studien zeigen, dass bei der Implantation unbeschichteter Metalle deren Ionen sowohl in den Blutkreislauf als auch in angrenzendes Gewebe gelangen. Da im Falle des unzementierten und nichtbeschichteten Hüftendoprothesenschafts zusätzlich eine gewisse Porosität der Oberfläche erforderlich ist, um sicheren Halt zu gewährleisten, ist davon auszugehen, dass hierbei die Metallionen in beträchtlichen Konzentrationen auftreten und sowohl Biologie als auch Kristallographie des Knochengewebes beeinflussen (siehe Abschnitt 2.2.4).

## 2.2 Kristallographie und Chemie der Kalziumorthophosphate

Der Hauptaspekt der vorliegenden Arbeit ist der Einfluss von Metallionen auf den Teil der Hartsubstanzbildung, der als *Kalzifikation* (Verkalkung) bezeichnet wird. In diesem Abschnitt werden daher die chemischen und kristallographischen Eigenschaften der Kalziumphosphate sowie ihre Rolle in der Knochenbildung erläutert. Kalziumorthophosphate sind Salze der Phosphorsäure  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Sie können Verbindungen formen, die  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ –,  $\text{HPO}_4^{2-}$ – oder  $\text{PO}_4^{3-}$ –Ionen enthalten können, wobei erstere nur in sehr saurem Milieu auftreten und daher in biologischen Systemen nicht anzutreffen sind. Die letzten beiden Ionen sind jedoch Bestandteile der Zahn– und Knochenmineralien. Kalziumphosphate, die zudem  $\text{OH}^-$ –Ionen enthalten, gehören zur Familie der Apatite. Allen Verbindungen gemeinsam ist ihre weiße Farbe und ihre schlechte Löslichkeit in Wasser, wobei einige sogar sehr schwer löslich sind. Eini-

---

<sup>6</sup>PIXE=Proton Induced X–ray Emission.

ge biologisch relevante Kalziumorthophosphate (im folgenden mit CaP abgekürzt) sind in Tabelle 2.1 aufgelistet. Die Löslichkeit der CaPs lässt sich prinzipiell aus den experimentell bestimmten Werten für die Standardbildungsenthalpien  $\Delta_f G^0$

Abkürzung	Erläuterung	Summenformel
CaP	Jedes Kalziumorthophosphat	—
OCP	Octacalciumphosphat	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
DCPD	Dikalziumphosphat Dihydrat	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
DCPA	Dikalziumphosphat, wasserfrei	$\text{CaHPO}_4$
$\beta$ -TCP	Trikalziumphosphat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
ACP	amorphes Kalziumphosphat	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ <sup>7</sup>
OHAp	Hydroxylapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$
O,OHAp	Oxyhydroxylapatit, teilweise dehydroxyliertes OHAp	
s-OHAp	stöchiometrisches OHAp	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$
ns-OHAp	nichtstöchiometrisches OHAp ( $\text{CO}_3$ -frei)	—
Ca-def OHAp	OHAp mit Ca/P-Verhältnis $\neq 1,67$	—
FAp	Fluorapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$
ClAp	Chlorapatit	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{Cl}$
BCaP	Apatit mit unbestimmter Zusammensetzung, die möglicherweise $\text{CO}_3^{2-}$ - oder $\text{HCO}_3^-$ -Ionen einschließt	—

Tabelle 2.1: Abkürzungen und Summenformeln einiger Kalziumorthophosphate. Die stöchiometrisch unterschiedlichen Substanzen kommen jeweils noch in diversen kristallographischen Modifikationen vor. Nähere Erläuterungen zu den einzelnen Substanzen finden sich in den entsprechenden Abschnitten.

errechnen. Tabelle A.1 in Anhang A enthält die Werte für einige CaPs und die an ihrer Bildung beteiligten Ionen. Für die Löslichkeitskonstante  $K_s$  gilt:

$$K_s = e^{-\frac{\Delta_s G^0}{RT}} \quad (2.1)$$

<sup>7</sup>Gleiche Summenformel wie Trikalziumphosphat, aber keine definierte Hydratationsstufe. Daher hat das Kristallgitter keine Periodizität und liefert demzufolge keine trennbaren Peaks in XRD-Messungen.



Dabei ist  $R$  die Gaskonstante ( $8,314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ),  $T$  die absolute Temperatur und  $\Delta_s G^0$  die Standardlösungsenthalpie, die sich wiederum wie folgt berechnet:

$$\Delta_s G^0(\text{CaP}) = \left( \sum_{\text{Ionen}} \Delta_f G^0(\text{Ion}) \right) - \Delta_f G^0(\text{CaP}) \quad (2.2)$$

Danach errechnet sich für OHAp eine um etwa 93 Größenordnungen kleinere Löslichkeitskonstante als für  $\beta$ -TCP<sup>8</sup>.

## 2.2.1 Hydroxylapatit

Wie aus Tabelle 2.1 hervorgeht, gibt es verschiedene Kalziumorthophosphate, die als Apatite bezeichnet werden und in ihrer Kristallstruktur sehr ähnlich sind. Der Name Hydroxylapatit(OHAp) bezieht sich auf die OH-Gruppe in der Summenformel  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ . In Fluorapatit (FAP) beispielsweise ist die OH-Gruppe durch ein Fluoratom ersetzt. Die Produkte von Fällungsreaktionen aus Ca- und P-haltigen Lösungen können in variablen Anteilen Wasser, saure Phosphate und Karbonatanteile enthalten, die bei Erhitzen der Präzipitate verloren gehen (siehe Abschnitte 2.2.1.2 und 2.2.1.5). Diese Kalziumphosphate mit Apatitstruktur werden im folgenden als BCaP (basic calcium phosphate) bezeichnet.

OHAp ist von besonderem Interesse als chemisches Modell für die anorganische Knochenkomponente, obwohl natürliches Knochenmineral zahlreiche chemische Verunreinigungen wie z.B.  $\text{CO}_3$ -Gruppen enthält. Ebenso findet OHAp Verwendung in der Orthopädie, sowohl als Knochenersatzmaterial als auch als sogenannte bioaktive Beschichtung für Prothesen.

### 2.2.1.1 Kristallstruktur von OHAp

Das grundlegende Wissen über die Kristallstrukturen der Kalziumphosphate stammt aus XRD-Messungen an Einkristallen und aus Neutronenstreuungsexperimenten. Für viele der wichtigsten Apatite (gefällte und biologische Apatite, Minerale) liegen solche Studien bislang aufgrund der Schwierigkeit der Erzeugung geeigneter Einkristalle nicht vor (Elliott[32]), daher stellt die Kristallstrukturanalyse dieser Substanzen mit alternativen spektroskopischen Methoden ein weites Forschungsgebiet dar.

Die Kristallstruktur des idealen stöchiometrischen OHAp ist monoklin mit der Raumgruppe  $P2_1/b$  und den Gitterparametern  $a=9,4214 \text{ \AA}$ ,  $b=2a$ ,  $c=6,8814 \text{ \AA}$  und  $\gamma=120^\circ$ .

---

<sup>8</sup>Allerdings ist die Differenz, die sich auf der rechten Seite von Gleichung 2.2 ergibt, relativ klein gegen  $\Delta_f G^0(\text{CaP})$ . Daher sind die auf diese Weise ermittelten Werte für  $K_s$  fehlerbehaftet. Im folgenden werden werden nach Möglichkeit experimentell ermittelte Literaturwerte angegeben.

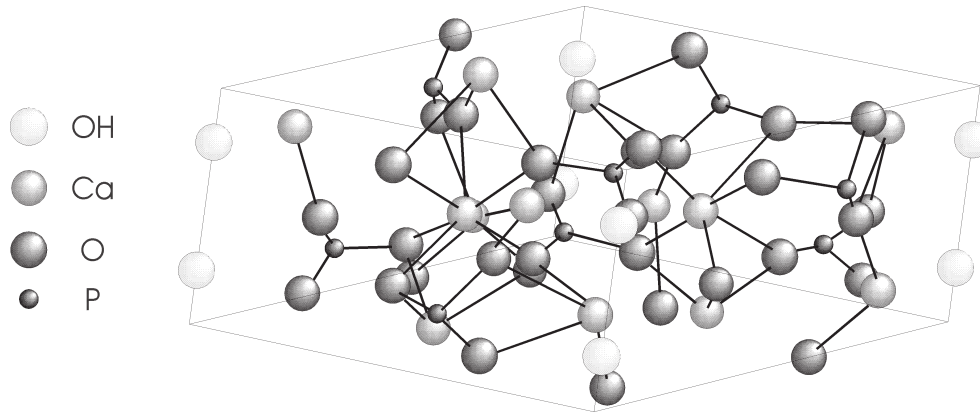


Abbildung 2.9:

Einheitszelle des Hydroxylapatits, schematische Darstellung. Umgezeichnet nach Arnold[5].

Stöchiometrisch absolut reines OHAp mit der Summenformel  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$  (oft auch:  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$ , um zu betonen, dass sich zwei Formeleinheiten in einer Einheitszelle befinden) ist allerdings nur mit großem Aufwand herzustellen, während natürlich vorkommende und in Fällungsreaktionen produzierte Apatite praktisch

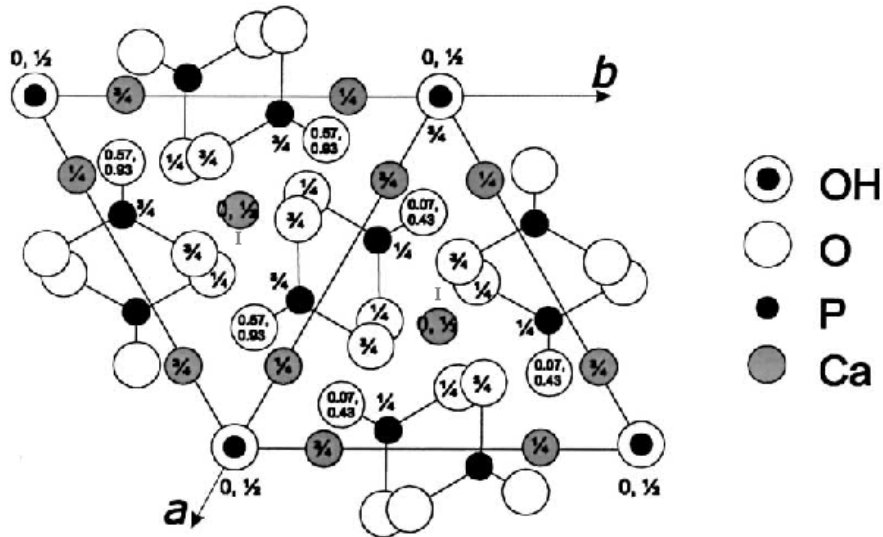


Abbildung 2.10:

Hexagonale Einheitszelle des Hydroxylapatits, schematische Darstellung entlang der  $c$ -Achse. Die beiden mit I markierten Ca-Atome repräsentieren die sogenannten Ca(1)-Positionen, die  $2/5$  des Kalziumanteils der Einheitszelle ausmachen. Die übrigen Ca-Atome befinden sich in den Ca(2)-Positionen, die den OH-Gruppen näher liegen (aus Jones[47]).

immer eine hexagonale Kristallstruktur mit der Raumgruppe  $P_1/b$  (siehe Abb. 2.9) aufweisen. Die  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen nehmen in diesem Gitter zwei kristallographisch aus-

Apatit (Kurzbez.)	a in Å	c in Å
OHAp	9,4176	6,8814
A-CO <sub>3</sub> Ap	9,557(3)	6,872(2)
SrOHAp	9,760	7,284
BaOHAp	10,177	7,731
CdOHAp	9,335	6,664
PbOHAp	9,879	7,434

Tabelle 2.2: Gitterparameter a und c für einige häufig vorkommende Apatite. Bei OHAp ist der Parameter b etwas größer als 2a, man spricht von einer pseudohexagonalen Struktur.

gezeichnete Positionen ein, die als Ca(1)- bzw. Ca(2)-Position bezeichnet werden (siehe Abb. 2.10) und für weiter unten beschriebene Gittersubstitutionen von Bedeutung sind.

Verunreinigungen wie z.B. Karbonationen oder Gittersubstitutionen von Kalzium

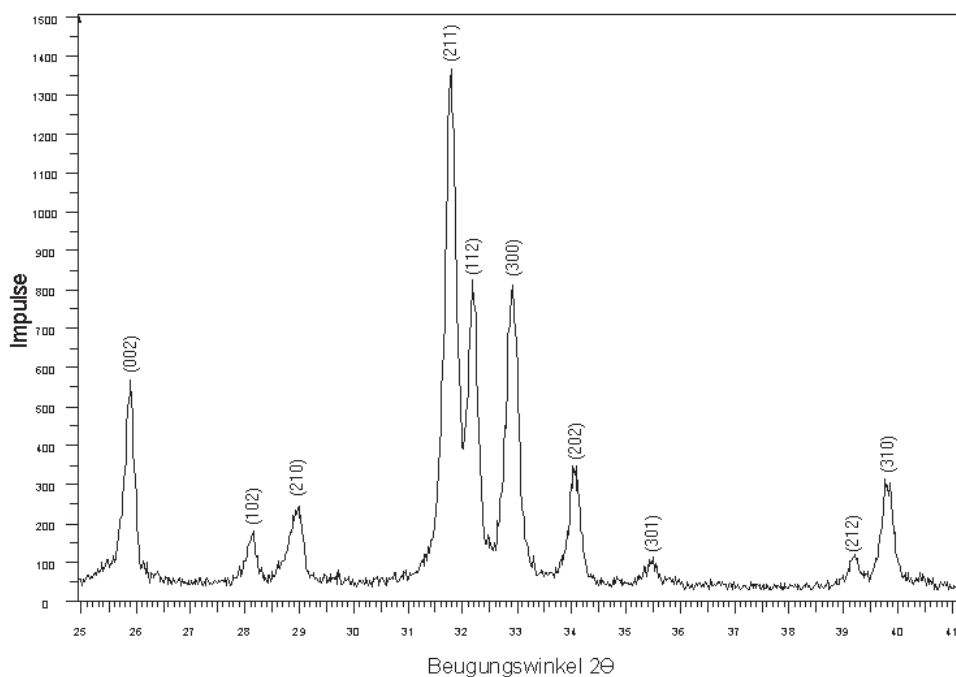


Abbildung 2.11:

Ausschnitt eines Diffraktogramms von synthetischem Hydroxylapatit, geheizt bei 900 °C.

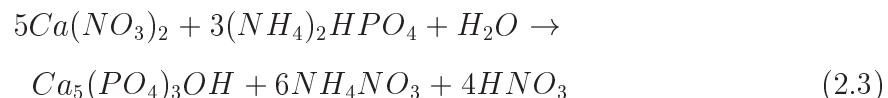
durch zweiwertige Metallionen wie  $Mg^{2+}$  oder  $Sr^{2+}$  können zu Abweichungen von der hexagonalen Struktur und zu Veränderungen der Gitterparameter führen. Tabelle 2.2 zeigt die Gitterparameter einiger Apatite. In Abbildung 2.11 ist ein Ausschnitt aus dem Röntgendiffraktogramm (siehe Abschnitt 3.2) von in hoher Kristallinität vorliegendem Hydroxylapatit zu sehen. Die wichtigsten Röntgenreflexe sind mit den Indizes der ihnen zugehörigen Netzebenen bezeichnet.

### 2.2.1.2 Chemische Synthese von Hydroxylapatit

Eine wichtige Besonderheit von OHAp gegenüber anderen Apatiten wie FAp und ClAp ist, dass bei den Produkten von Fällungsreaktionen Dimensionen unterhalb eines Mikrometers auftreten, so dass infolge der stark vergrößerten Oberfläche Effekte der Oberflächenchemie verstärkt zu beachten sind. Aber auch thermodynamische Gesichtspunkte erschweren die Herstellung von stöchiometrischem OHAp (s-OHAp), da offenbar ein Ca/P-Verhältnis von 1,67 gemäß der idealen Summenformel nicht unbedingt mit dem thermodynamischen Gleichgewicht in Einklang stehen muss[32]. Aufgrund dieser Schwierigkeiten gibt es zahlreiche Methoden zur OHAp-Synthese, sowohl bei hohen Drücken und Temperaturen als auch unter normalen Laborbedingungen. Eine Möglichkeit ist z.B. die Synthese eines nichtstöchiometrischen OHAp (ns-OHAp), die keine exakten Bedingungen erfordert, und die nachfolgende Zersetzung unter hohen Temperaturen in s-OHAp und  $\beta$ -TCP (siehe Abschnitt 2.2.1.5).

Im folgenden soll ausschließlich die Methode der Präzipitation (Fällungsreaktion) betrachtet werden, bei der OHAp aus einer Lösung gewonnen wird, die  $Ca^{2+}$ - und  $PO_4^{3-}$ -Ionen in bekannten Anteilen enthält. Für solche Reaktionen sind als Reaktanden Kalziumhydroxid ( $Ca(OH)_2$ ) und Phosphorsäure ( $H_3PO_4$ ) geeignet, ebenso wie Salze, deren Ionen nicht in das OHAp-Gitter aufgenommen werden. Demzufolge sind Nitrate als Kalziumquelle besser geeignet als Chloride, und als Phosphate sind Ammoniumsalze den Natrium- oder Kaliumsalzen vorzuziehen, da  $NH_4^+$ - und  $NO_3^-$ -Ionen nicht in kristalline Apatite inkorporiert werden (Meyer[67], Lopez-Valero[61]). Aus den gleichen Gründen ist die Regulierung des pH-Wertes durch Ammoniak ( $NH_4OH$ ) geeigneter als durch Natronlauge ( $NaOH$ ).

Eine stöchiometrische Reaktion zur Synthese von OHAp ist durch Gleichung 2.3 gegeben:



Wird die Kalziumnitratlösung langsam der Diammoniumhydrogenphosphatlösung hinzugefügt, so spricht man in der Literatur von der *direkten* Methode und nennt

das Reaktionsprodukt *direktes* Apatit. Bei der Mischung der beiden Lösungen in umgekehrter Richtung spricht man von der *inversen* Methode und von *inversen* Apatiten. Der Unterschied liegt in den verschiedenen Ca/P-Verhältnissen in der Anfangsphase der jeweiligen Reaktion.

Die auf der rechten Seite von Gleichung 2.3 entstehende Säure senkt unmittelbar den pH-Wert, wodurch die Gleichgewichtsreaktion behindert wird. Dies macht die Zugabe von Ammoniak zur Erhaltung eines basischen Milieus erforderlich. Nach der Reaktion und der Trennung des festen und schwer löslichen OHAp von der flüssigen Phase können Reste von  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , die nicht durch Waschen entfernt wurden, leicht ausgeheizt werden.

Alternative Synthesemethoden mit Lösungen, die mit Kalzium übersättigt sind, führen ebenfalls zu positiven Ergebnissen. Song et al. haben gezeigt, dass eine Lösung, in der das Ca/P-Verhältnis den Wert 1,67 überschreitet, die Bildung von stöchiometrischem Hydroxylapatit begünstigt (Song[96]). Auch wurden gute Resultate erzielt, wenn das Reaktionsgemisch bis zum Sieden erhitzt wurde und das Präzipitat sich danach mehrere Stunden lang setzen konnte[32].

Die Methode, die für den Großteil der Experimente der vorliegenden Arbeit Verwendung fand, vereint unter Berücksichtigung der zur Verfügung stehenden technischen Mittel einige Besonderheiten der oben beschriebenen Methoden (siehe Abschnitt 3.1.1). Beim Mischen der Reaktionslösungen wurde nur die inverse Methode angewendet.

### 2.2.1.3 Kalziumarme und kalziumreiche Hydroxylapatite

Bei Hydroxylapatiten können beträchtliche Abweichungen des Ca/P-Verhältnisses vom Wert 1,67 auftreten, ohne dass sich das entsprechende Röntgendiffraktogramm (vgl. Abb. 2.11) signifikant ändert. Für die Erklärungen dieser Variabilität des Ca/P-Verhältnisses von sogenannten kalziumarmen<sup>9</sup> und kalziumreichen Hydroxylapatiten gibt es zahlreiche Ansätze. Eine Möglichkeit stellt die Anwesenheit zusätzlicher Phasen, die durch röntgendiffraktometrische Methoden nicht detektiert werden können, dar.

Eine andere Theorie bezieht sich auf die relativ große Oberfläche präzipitierter Apatite. Bei einer angenommenen Fläche von  $60 \text{ m}^2/\text{g}$  befinden sich etwa 5 % der  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen an der Oberfläche und können protoniert oder substituiert werden, ohne dass sich die Stöchiometrie des Kristallgitters ändert. Ebenso ist bekannt, dass gefällte Apatite in hohem Maße  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  absorbieren können. Je nach Zusammensetzung der an der Oberfläche des (an sich stöchiometrischen) Präzipitats sind daher sowohl Ca/P-Verhältnisse unterhalb 1,67 als auch deutlich oberhalb möglich.

---

<sup>9</sup>Sogenannte *calcium-deficient* apatites bzw. abgekürzt Ca-def OHAs.

Die verbreitetste Annahme für die Ursache der Nichtstöchiometrie basiert auf Modellen für Gittersubstitutionen. Dies wird dadurch gestützt, dass in präzipitierten Apatiten der Gitterparameter  $a$  generell um 0,01 bis 0,02 Å größer ist als in OHAp, das bei hohen Temperaturen erzeugt wurde, was ein eindeutiger Hinweis auf die Substitution einiger Gitteratome ist[32]. Wie Tabelle 2.3 zu entnehmen ist, geht man in den meisten Fällen davon aus, dass ein Teil der  $\text{PO}_4$ -Gruppen protoniert wurde, wodurch sowohl OH-Gruppen als auch Ca-Atome aus dem Gitter verdrängt werden. Experimentell lässt sich der Gehalt an  $\text{HPO}_4^{2-}$  durch die Kondensation zu Pyrophosphat bestimmen:

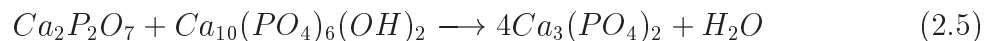


Diese Reaktion findet mit geringer Reaktionsgeschwindigkeit bei Temperaturen

1. $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-2x}(\text{OH})_2$	$0 \leq x \leq \sim 2$
2. $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	$0 \leq x \leq 2$
3. $\text{Ca}_{10-x-y}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x-2y}$	$0 \leq x \leq 2$ und $y \leq (1-x/2)$
4. $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$	$0 \leq x \leq 1$
5. $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}(\text{H}_2\text{O})_x$	$0 \leq x \leq 1$
6. $\text{Ca}_{9-x}(\text{HPO}_4)_{1+2x}(\text{PO}_4)_{5-2x}(\text{OH})$	Ca/P-Verhältnis 1,4 bis 1,5
7. $\text{Ca}_{9+z}(\text{PO}_4)_{5+y+z}(\text{HPO}_4)_{1-y-z}(\text{OH})_{1-y+z}$	-
8. $\text{Ca}_{10-x+u}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_{2-x+u}$	$2-x+2u \leq 2$ und $0 \leq u \leq x/2$

Tabelle 2.3: Modelle für Gittersubstitutionen in Ca-def OHAp (aus [32]).

zwischen 400 und 700 °C statt. Bei höheren Temperaturen reagiert das Pyrophosphat weiter:



Das Verfahren ist aufwändig, da die Langsamkeit der Reaktion 2.4 ein Erhitzen der Probe über etwa 60 Stunden erfordert.

Obwohl direkte Bestimmungen der Struktur von Ca-def OHAp fehlen, weisen viele Studien darauf hin, dass Modell Nr.2 aus Tabelle 2.3 diese Apatite am besten beschreibt. Dabei wird angenommen, dass sich die  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionen neben freien  $\text{OH}^-$  und  $\text{Ca}(2)$ -Ionen (siehe dazu Abbildung 2.10) befinden. Demnach gibt es pro Einheitszelle  $x$  Leerstellencluster der Form  $\square_{\text{OH}}, \square_{\text{Ca}(2)}, \text{HPO}_4$ , wobei  $\square$  eine Leerstelle an der indizierten Position darstellt. Mit kleiner werdendem  $x$  nähert sich die Zusammensetzung des Apatits der von s-OHAp an. Es ist wahrscheinlich, dass das Proton der  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Gruppe die  $\text{Ca}(2)$ -Leerstelle so weit wie möglich besetzt, da ähnliches schon bei Whitlockit (ein Mineral mit der Summenformel  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) beobachtet wurde[32]. Ebenso kann sich in den Leerstellenclustern Kristallwasser ablagern, was zu einer leichten Vergrößerung des Gitterparameters  $a$  führt.

#### 2.2.1.4 Karbonathaltige Apatite

Von besonderer Wichtigkeit bei der Betrachtung biologischer Apatite sind die karbonathaltigen Apatite<sup>10</sup> (kurz:  $\text{CO}_3\text{Ap}$ ). Der Karbonatanteil verändert die chemischen Eigenschaften des Apatits, z.B. erhöht er die Löslichkeit in Säure, während die thermische Stabilität herabgesetzt wird.

Die Art und Weise, auf die Karbonat ins OHAp-Gitter eingebaut wird, war lange Zeit umstritten und Thema zahlreicher Untersuchungen. Basierend auf infrarotspektroskopischen Studien[32] unterscheidet man heute zwei Klassen von  $\text{CO}_3\text{Ap}$ . Beim A-Typ (A- $\text{CO}_3\text{Ap}$ ) ist der Gitterparameter  $a$  gegenüber OHAp vergrößert, und die  $\text{CO}_3^{2-}$ -Ionen verdrängen OH-Gruppen aus dem Gitter. Beim B-Typ (B- $\text{CO}_3\text{Ap}$ ) hingegen ersetzen die  $\text{CO}_3^{2-}$ -Ionen  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen, und der Parameter  $a$  ist kleiner. Außerdem gibt es noch Mischformen, in denen beide Arten von Gittersubstitutionen durch  $\text{CO}_3^{2-}$ -Ionen auftreten (AB- $\text{CO}_3\text{Aps}$ ).

A- $\text{CO}_3\text{Ap}$  bildet sich in Hochtemperaturreaktionen, z.B. beim mehrtägigen Erhitzen von OHAp in sehr trockenem  $\text{CO}_2$  bei etwa 900 °C und Atmosphärendruck gemäß der folgenden Reaktionsgleichung:



Mit zunehmendem Karbonatgehalt wächst der  $a$ -Achsenparameter, während  $c$  abnimmt[32].

Aufgrund der größeren Relevanz für das Studium der Biomineralisation von Apatiten existieren weit mehr Untersuchungen über präzipitierte  $\text{CO}_3\text{Aps}$  als über bei hohen Temperaturen erzeugte. Zudem ist die wässrige Methode weniger aufwändig,

<sup>10</sup>In der englischsprachigen Literatur ist der Begriff *carbonated apatites* gebräuchlich.

da sich  $\text{CO}_3\text{Aps}$  relativ einfach durch Präzipitation von Apatiten oder Hydrolyse entsprechender Vorstufen (ACP, OCP, DCPA) in Anwesenheit von  $\text{CO}_3^{2-}$ - oder  $\text{HCO}_3^-$ -Ionen bilden lassen. Diese Ionen führen unter anderem zu einer Herabsetzung der Kristallinität der Apatite bzw. verhindern ihre Bildung vollständig, so dass amorphe Produkte entstehen. Die Kristallinität lässt sich verbessern, in dem die Reaktionsgemische auf 80 bis 100 °C erhitzt werden. In heißen Lösungen erzeugte, kristalline  $\text{CO}_3\text{Aps}$  enthalten offenbar keine  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionen<sup>11</sup>.

Sind die einzigen Kationen in einer OHAp-Reaktionslösung  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen, so lässt sich die chemische Zusammensetzung von präzipitiertem  $\text{CO}_3\text{Ap}$  durch folgende Formel darstellen:



Die Substitution eines  $\text{PO}_4^{3-}$  durch ein  $\text{CO}_3^{2-}$  führt zum Verlust eines  $\text{OH}^-$ . Der so entstehende Verlust zweier negativer Ladungen wird durch die Bildung einer Leerstelle an einer Ca-Position kompensiert. Einige dieser Leerstellen werden durch  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  aufgefüllt (repräsentiert durch die y Formeleinheiten in Formel 2.7). Dieses Modell wird heute allgemein als korrekt angesehen[32]. Das dabei entstehende  $\text{CO}_3\text{Ap}$  ist offensichtlich dem B-Typ zuzuordnen.

Die Aufnahme von  $\text{CO}_3^{2-}$  durch das OHAp-Gitter wird in Hydrolysereaktionen durch die Anwesenheit von Alkaliionen beeinflusst (Tomazik[102]). Es wurde festgestellt, dass die Inkorporation in der Reihenfolge Lithium > Natrium > Kalium > Rubidium abnimmt, was durch den zunehmenden Ionenradius erklärt wird. Kleinere Ionen haben eine höhere Wahrscheinlichkeit  $\text{Ca}^{2+}$  im Kristallgitter zu ersetzen, und der durch die Einwertigkeit der Alkaliionen verursachte Verlust an positiver Ladung fördert wiederum die Substitution eines  $\text{PO}_4^{3-}$  durch ein  $\text{CO}_3^{2-}$ .

Offenbar können auch kleine Mengen von  $\text{NH}_4^+$ -Ionen vom Apatitgitter aufgenommen werden, wie Experimente mit in entsprechendem Milieu präzipitierten  $\text{CO}_3\text{Aps}$  gezeigt haben. Der Stickstoffgehalt wurde durch die Reaktion von  $\text{NH}_4^+$  und  $\text{CO}_3^{2-}$  zu Zyanat ( $\text{NCO}^-$ ) und Zyanamid ( $\text{NCN}^{2-}$ ) nachgewiesen[32]. Dass die Inkorporation der Ammoniumionen vornehmlich durch Substitution von  $\text{Ca}^{2+}$  erfolgt, lässt sich aus der Tatsache schließen, dass bei gleichem Karbonatanteil der Gitterparameter a bei direkt erhaltenen Apatiten größer ist als bei inversen (vgl. Abschnitt 2.2.1.2)(Vignoles[105])<sup>12</sup>. Befinden sich zudem noch Natrium- oder Kaliumionen in

<sup>11</sup>Dieser Punkt ist allerdings nicht hinreichend geklärt, da die Nachweisreaktion für  $\text{HPO}_4^{2-}$  über Pyrophosphatbildung gerade durch die Anwesenheit von  $\text{CO}_3^{2-}$  gestört wird. Allerdings wurde die Abwesenheit von  $\text{HPO}_4^{2-}$  zusätzlich durch Infrarotspektroskopie zumindest für bei hohen pH-Werten produzierte  $\text{CO}_3\text{Aps}$  bestätigt[32].

<sup>12</sup>Bei der direkten wie auch bei der inversen Methode wurden Diammoniumhydrogenphosphat und Ammoniumcarbonat gemeinsam aufgelöst. Bei der direkten Methode wurde dieser Lösung die Kalziumnitratlösung hinzugefügt, während es bei der inversen Methode umgekehrt war. Direkte Apatite nehmen deutlich mehr  $\text{NH}_4^+$  auf als inverse. Die Erhöhung des Parameters a wird auf den größeren Ionenradius von  $\text{NH}_4^+$  im Vergleich zu  $\text{Ca}^{2+}$  zurückgeführt (1,43 Å bzw. 0,99 Å).

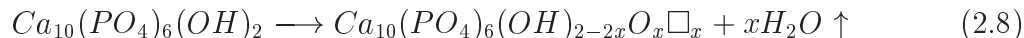


der Lösung, werden diese bevorzugt aufgenommen, so dass kein Stickstoff in den erhaltenen Apatiten nachgewiesen werden kann[105].

### 2.2.1.5 Thermische Dekomposition von Hydroxylapatit

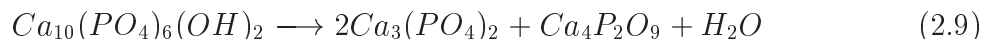
Einige Aspekte des Verhaltens von OHAp (insbesondere ns-OHAp) wurden schon in den vorhergehenden Abschnitten angesprochen. Über die Thermodekomposition von stöchiometrischem OHAp gibt es in der Literatur verschiedene Quellen mit abweichenden Ergebnissen, die vermutlich auf Unterschiede in den physikalischen Parametern der jeweiligen Experimente zurückzuführen sind.

Im Gitter eingelagertes Kristallwasser wird bei Heiztemperaturen um 400 °C abgegeben, begleitet von einer geringfügigen Kontraktion des a-Parameters. Etwa bei der gleichen Temperatur beginnt die Bildung von Pyrophosphat aus  $\text{HPO}_4^{2-}$  (vgl. Abschnitt 2.2.1.3)[32]. Der Temperaturbereich dieser Reaktion (siehe Gleichung 2.4) reicht von 400 °C bis etwa 700 °C. Danach beginnt die Umwandlung des Pyrophosphats zu  $\beta$ -TCP (siehe Gleichung 2.5). Ab 700 °C beginnt auch die Zunahme der Kristallitgrößen präzipitierter Apatite, was sich in den Röntgendiffraktogrammen der Pulverproben durch eine signifikante Abnahme der Peakbreiten niederschlägt. Bei höheren Temperaturen (ab  $\sim$  900 °C) verlieren s-OHAp nach und nach ihre OH-Gruppen gemäß der folgenden Reaktion:



Das an OH-Ionen verarmte Produkt  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_{2-2x}\text{O}_x\Box_x$  ( $\Box$  = Leerstelle,  $x < 1$ ) ist bekannt als Oxyhydroxylapatit (O,OHAp). IR-Messungen zeigten, dass bei etwa 1100 °C das Kristallgitter fast keine OH-Ionen mehr enthält (Zhou[115]). Die Röntgendiffraktogramme von OHAp und O,OHAp sind praktisch nicht zu unterscheiden.

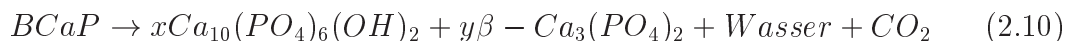
Bei noch höheren Temperaturen beginnt die Dekomposition von OHAp zu  $\alpha$ -TCP und Tetrakalziumphosphat gemäß der folgenden Reaktion:



Diese Reaktionen hängen neben der Temperatur auch vom Wasserdampfpartialdruck ab. Die Bildung von  $\alpha$ -TCP beginnt laut aktueller Literatur oberhalb von etwa 1350 °C (Liao[57], Wang[107], [115]) unter Luftatmosphäre. Allerdings wurde beim Heizen im Vakuum auch schon  $\alpha$ -TCP bei 1000 °C detektiert[107]. An gleicher Stelle zeigte das Heizen von s-OHAp bei 1100 °C unter Luft bereits das Auftreten von  $\beta$ -TCP, während in einer vergleichbaren Studie[115] das Diffraktogramm von s-OHAp bis zu Temperaturen von 1350 °C praktisch unverändert blieb. Offensichtlich ist die Dekomposition von s-OHAp stark von den Heizbedingungen

abhängig<sup>13</sup>.

Werden nichtstöchiometrische Apatite mit einem Ca/P-Verhältnis zwischen 1,5 und 1,67 (BCaP) längere Zeit bei etwa 900 °C geheizt, so führt dies gemäß Reaktion 2.10 zu der Ausbildung von zwei festen Phasen, bestehend aus s-OHAp und  $\beta$ -TCP[32].



Werden x mol s-OHAp und y mol  $\beta$ -TCP gebildet, so beträgt das molare Ca/P-Verhältnis  $(10x/y + 3)/(6x/y + 2)$ . Die Reaktionsrate ist laut neuester Literatur unabhängig von der umgebenden Atmosphäre (Barralet[8]). Das Heizen einer Probe mit unbekanntem Molanteilen an Ca und P kann demzufolge zusammen mit der röntgendiffraktometrischen Phasenanalyse als Methode dienen, die Zusammensetzung des Pulvers zu bestimmen<sup>14</sup>.

### 2.2.2 Trikalziumphosphat

Trikalziumphosphat ( $Ca_3(PO_4)_2$ , kurz: TCP) ist ein polymorphes<sup>15</sup> Phosphat, das in zwei kristallographischen Modifikationen auskristallisiert.

$\alpha$ -TCP gehört zur monoklinen Raumgruppe  $P2_1/a$  (Gitterparameter in Tabelle 2.4). Abbildung 2.12 zeigt schematisch die Kristallstruktur, deren 24 Formeleinheiten enthaltende Einheitszelle eine der Apatitstruktur ähnliche Untereinheitszelle enthält, die sich aus 8 Formeleinheiten zusammensetzt. Die Zeichnung deutet zudem eine Unterstruktur an, die der Einheitszelle von Glaserit ( $K_3Na(SO_4)_2$ ) ähnelt.

$\beta$ -TCP hat die rhombische Raumgruppe  $R3c$  in hexagonaler Kugelpackung mit 21 Formeleinheiten pro hexagonaler Einheitszelle. Die Einheitszelle lässt sich in Analogie zur  $Ba_3(VO_4)_2$ -Struktur beschreiben, in der sich die hexagonale Zelle aus 12 identischen, alternierend gegeneinander in c-Richtung versetzten Spalten der Form  $\cdots VO_4 Ba Ba Ba VO_4 \cdots$  zusammensetzt.

Beim  $\beta$ -TCP besteht die Einheitszelle hingegen aus drei A-Spalten und neun B-Spalten, wie in Abbildung 2.13 dargestellt.

<sup>13</sup>In der erstgenannten Quelle war die Heizdauer wesentlich höher (4 h). In der anderen Studie wurde die Heiztemperatur jeweils in Schritten von 50 °C erhöht und dann für 30 min gehalten.

<sup>14</sup>Für die genaue quantitative Analyse ist eine Kalibrierung mit Hilfe bekannter Mischungen notwendig.

<sup>15</sup>Polymorphe Materialien zeigen bei gleicher chemischer Summenformel verschiedene Kristallstrukturen mit unterschiedlichen Eigenschaften.

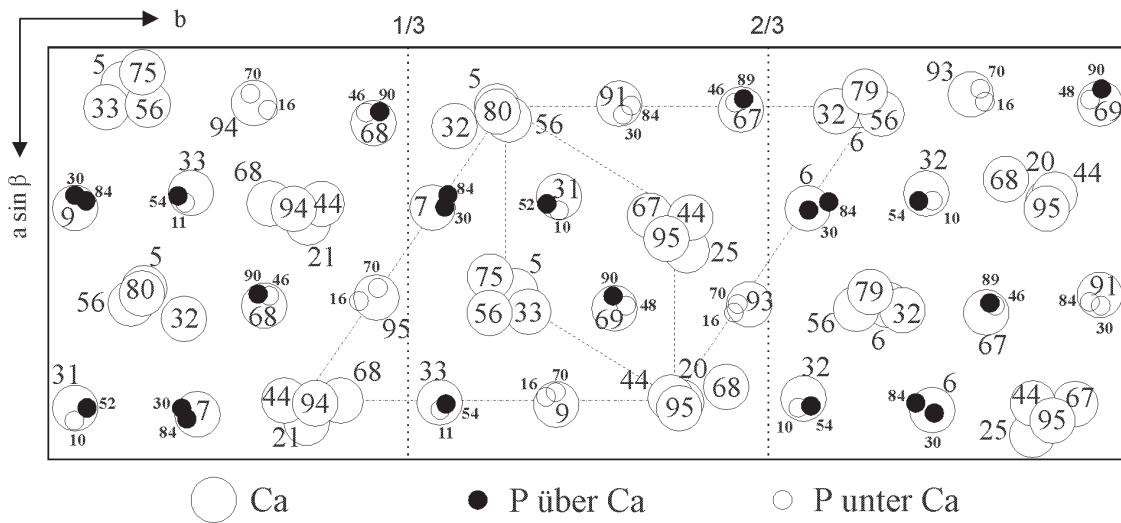


Abbildung 2.12: Projektion der Struktur von  $\alpha$ -TCP auf die (0 0 1)-Ebene. Es sind nur die Kalzium- und Phosphoratome dargestellt. Die gestrichelten und gestrichelt-gepunkteten Linien begrenzen eine Glaserit- bzw. eine Apatit-Einheit. Umgezeichnet nach [32].

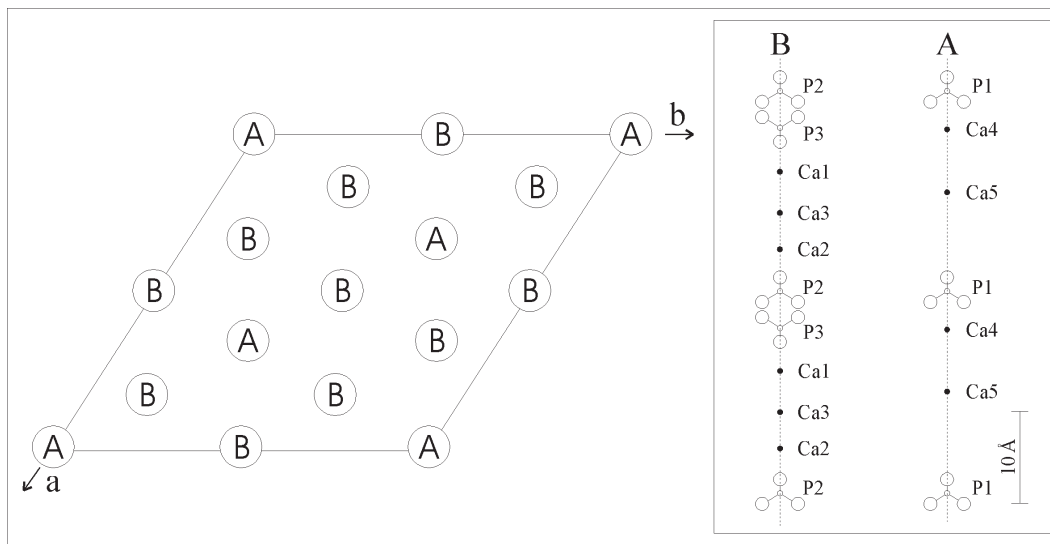


Abbildung 2.13:

Schematischer Aufbau der hexagonalen Einheitszelle von  $\beta$ -TCP. Links: Anordnung der A- und B-Spalten in der Zelle. Rechts: Konfiguration der A- und B-Spalten (gezeigte Länge entspricht einem c-Achsenparameter zuzüglich einer  $PO_4$ -Gruppe). Umgezeichnet nach [32].

	$\alpha$ -TCP	$\beta$ -TCP
Kristallstruktur	monoklin, $P2_1/a$ mit $a=12,887 \text{ \AA}$ , $b=27,280 \text{ \AA}$ , $c=15,219 \text{ \AA}$ , $\beta = 126,20^\circ$	rhombisch, $R3c$ mit $a=10,439 \text{ \AA}$ , $c=37,375 \text{ \AA}$
Dichte <sup>16</sup>	$2,863 \text{ g/cm}^3$	$3,067 \text{ g/cm}^3$
Übergangstemperatur	$1430^\circ\text{C}$	$1125^\circ\text{C}$

Tabelle 2.4: Eigenschaften von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Trikalziumphosphat. Die Angaben wurden aus [32] entnommen.

Derivate des  $\beta$ -TCP (wie z.B. Whitlockit<sup>17</sup> oder Mg-haltiges TCP) lassen sich aus dieser Struktur ableiten, wobei die B-Spalten praktisch unverändert bleiben[32].

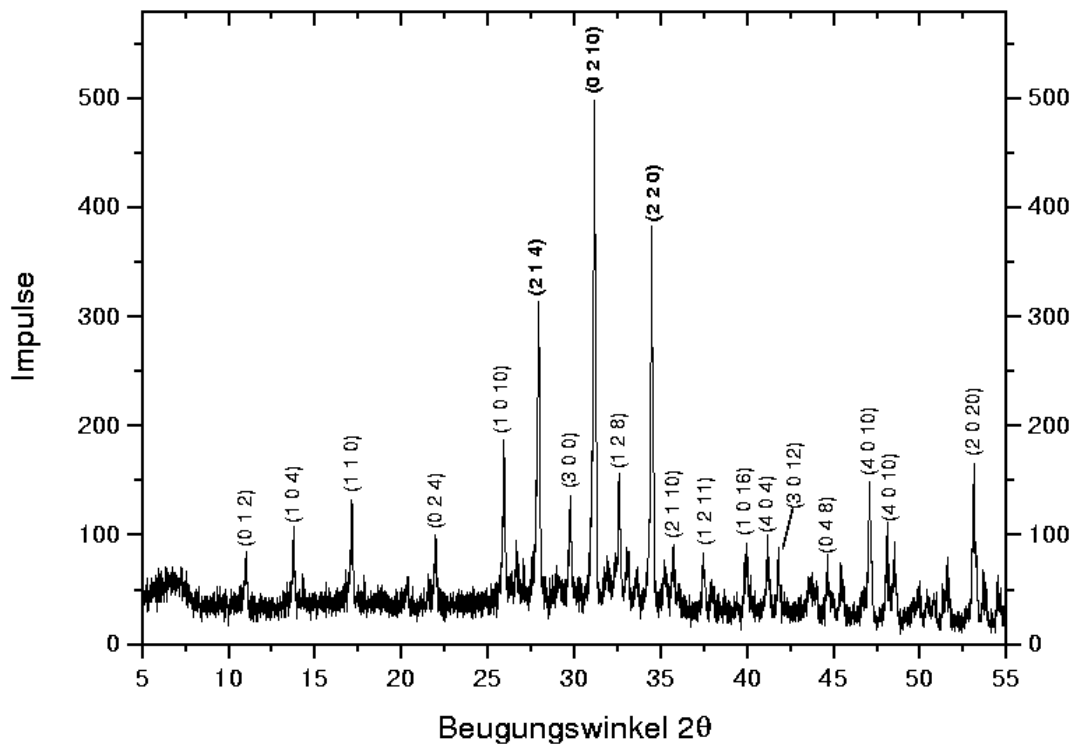


Abbildung 2.14: Diffraktogramm von kommerziellem Trikalziumphosphat (Hersteller: Merck). Die wichtigsten Reflexe sind mit den dazugehörigen Millerschen Indizes ( $h k l$ ) bezeichnet.

<sup>16</sup>Aus der Kristallstruktur berechnete Werte[32].

<sup>17</sup>In der Literatur werden das Mineral Whitlockit und  $\beta$ -TCP oft gleichgesetzt, weil ihre Röntgendiffraktogramme nahezu gleich sind. Tatsächlich unterscheiden sich beide Substanzen aber in der Orientierung der  $\text{PO}_4$ -Gruppen in den A-Spalten gemäß Abbildung 2.13.

Abbildung 2.14 zeigt das Diffraktogramm von kommerziellem Trikalziumphosphat mit den wichtigsten Röntgenreflexen, das nahezu vollständig mit den Angaben der JCPDS-Datei (vgl. Abschnitt 3.2) für  $\beta$ -TCP[45] übereinstimmt.

Jede Formeleinheit im  $\alpha$ -TCP belegt ein Volumen von  $180 \text{ \AA}^3$ , während es beim  $\beta$ -TCP nur  $168 \text{ \AA}^3$  sind.  $\alpha$ -TCP hat demnach eine etwas weniger dichtgepackte Struktur und somit auch eine höhere innere Energie. Dies steht in Übereinstimmung mit der höheren thermischen Stabilität.  $\beta$ -TCP ist stabil bis  $1125 \text{ }^\circ\text{C}$ , darüber und bis zu  $1430 \text{ }^\circ\text{C}$  wird  $\alpha$ -TCP die stabile Phase. Zwischen  $1430 \text{ }^\circ\text{C}$  und dem Schmelzpunkt  $1756 \text{ }^\circ\text{C}$  bildet sich das sogenannte Super- $\alpha$ -TCP ( $\bar{\alpha}$ -TCP)(Welch[110]), dessen Kristallstruktur bislang ungeklärt ist[32].

Unter normalen Laborbedingungen (Raumtemperatur und atmosphärischer Druck) bildet sich die ausgeprägte Kristallstruktur von reinem  $\beta$ -TCP nicht in wässrigen Lösungen. Lediglich Whitlockite können durch Substitution von Ca-Atomen durch  $\text{Mg}^{2+}$  oder  $\text{Fe}^{2+}$  erhalten werden[32]. Mit Hilfe von synthetisch bei hohen Temperaturen produziertem  $\beta$ -TCP wurde jedoch das Löslichkeitsprodukt berechnet (Gregory[39]):

$$\log_{10}K = \frac{-45723,26}{T} + 287,4536 - 0,546763 T \quad (2.11)$$

Damit ergibt sich bei  $T=25 \text{ }^\circ\text{C}$  für K ein Wert von  $1,2 \cdot 10^{-29} \text{ mol}^5 \text{ l}^{-5}$ (<sup>18</sup>). Die Löslichkeit von  $\beta$ -TCP nimmt also wie bei OHAp mit steigender Temperatur ab.

### 2.2.3 Amorphe Kalziumphosphate

Amorphes Kalziumphosphat (ACP) tritt oft als Übergangsphase bei der Bildung von Kalziumphosphaten auf. Zudem soll ACP eine separate Phase in Knochenmineral bilden, allerdings ist dieser Punkt in der Literatur bislang noch umstritten[32]. Laut chemischen Analysen von Vorläuferphasen in Hydroxylapatitsynthesen handelt es sich bei ACP um ein hydriertes Kalziumphosphat mit einem Ca/P-Verhältnis von 1,5 (verglichen mit 1,67 bei OHAp) und der Summenformel  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x \text{ H}_2\text{O}$  (Boskey[19]). Da x verschiedene Werte annehmen kann, ist die Kristallstruktur von ACP nicht periodisch und wird daher als amorph bezeichnet. Derzeit wird angenommen, dass die Struktur sich aus quasisphärischen Clustern von  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$  zusammensetzt, die zufällig angeordnet sind, wobei die Räume zwischen den Clustern mit Wasser gefüllt sind (Betts[13]).

Es sind auch ACPs mit anderen stöchiometrischen Verhältnissen von Ca und P bekannt, die sich durch die allgemeine Summenformel  $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_x$

---

<sup>18</sup>Dieser Wert ist um etwa 3 Größenordnungen höher als der aus den thermodynamischen Daten berechnete (vgl. Anhang A).

beschreiben lassen, wobei  $0 \leq x \leq 1$  ist. Der Parameter  $x$  nimmt mit der Zeit zu und beschreibt die Konversion des ACP zu einer kristallinen apatitartigen Phase (bei  $x \approx 0,5$ )[32].

ACP bildet sich in wässrigen Reaktionen von Kalziumsalzen (Nitrate oder Chloride) und dibasischen Phosphaten (vgl. Abschnitt 2.2.1.2), wobei die Lösungen der Salze unmittelbar und unter Rühren miteinander gemischt werden. Die Kinetik der Umwandlung zu OHAp lässt sich wie folgt beschreiben:

$$\frac{dc}{dt} = k_1 + k_2c \quad (2.12)$$

Dabei ist  $c$  der Anteil von ACP, der zu OHAp umgewandelt wurde. Die Konstante  $k_2$  (mit  $k_2 \gg k_1$ ) beschreibt die sogenannte autokatalytische Konversion, alle anderen Parameter (z.B. anfängliche Anzahl von Kristallkeimen) werden durch  $k_1$  ausgedrückt. Weiterhin ist bekannt, dass  $k_2$  mit steigendem pH-Wert abnimmt und mit steigender Temperatur zunimmt[19]. In Anwesenheit eines ausreichenden Anteils an  $Mg^{2+}$ -Ionen kann die Konversion ganz unterbunden werden (Boskey[20]).

### 2.2.3.1 Thermische Umwandlung von ACP

Zur thermischen Stabilität ist bekannt, dass ACP bis zu einer Temperatur von etwa 530 °C amorph bleibt, bei weiterem Erhitzen über 650 °C aber in  $\alpha$ -TCP und (unter bestimmten Bedingungen)  $\beta$ -TCP übergeht (Eanes[29]). In diesem Fall kann also  $\alpha$ -TCP bereits unterhalb der Übergangstemperatur von 1125° (vgl. Abschnitt 2.2.2) vorkommen.

Kanazawa et al.[50] untersuchten mit Hilfe von Thermogravimetrie und Röntgendiffraktometrie die Kristallisation von ACP zu  $Ca_3(PO_4)_2$ . Offenbar geht dem Beginn der eigentlichen Kristallisation die völlige Dehydrierung der amorphen Substanz voraus, was bedeutet, dass Einschlüsse von Kristallwasser in präzipitierten ACPs die Kristallisation behindern können.

Ob nach der Kristallisation von ACP  $\alpha$ -TCP oder  $\beta$ -TCP vorliegt, hängt von verschiedenen Faktoren ab[50]. Da  $\alpha$ -TCP die temperaturstabilere Form von TCP ist, nimmt das Verhältnis des Anteils an  $\alpha$ -TCP zu dem von  $\beta$ -TCP mit steigender Heiztemperatur zu. Allerdings zeigten Eanes et al., dass das Auftreten der beiden Phasen zudem durch den Grad der Übersättigung der Reaktionslösung vor der Präzipitation beeinflusst wird, der durch das Löslichkeitsprodukt von Ca und  $PO_4$  ( $[Ca^{2+}][PO_4^{3-}][mM]^2$ ) gegeben ist[29]. Bei höherer Übersättigung der Lösung ( $>10^5$ ) tritt demnach bevorzugt  $\alpha$ -TCP auf.

In der folgenden Tabelle sind zusammenfassend die wichtigsten Übergangstemperaturen der Kalziumphosphate mit den resultierenden Phasen aufgeführt.

Ausgangsphase	Übergangstemperatur	resultierende Phase(n)
$\beta$ -TCP	1125 °C	$\alpha$ -TCP
BCaP	~ 900 °C	$\beta$ -TCP + OHAp
ACP	> 650 °C	$\alpha$ -TCP, $\beta$ -TCP
DCPD	180 °C	DCPA
DCPA	320–340 °C	$\gamma$ -Ca <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
	700 °C	$\beta$ -Ca <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>
	1200 °C	$\alpha$ -Ca <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub>

Tabelle 2.5: Übergangstemperaturen der Kalziumphosphate.

## 2.2.4 Metallionen in der Mineralisation *in-vivo* und *in-vitro*

Die Verkalkung der Knochenmatrix geschieht sowohl auf biologischer (Zellen, Proteine) als auch auf kristallchemischer Ebene (vgl. Abschnitt 2.1.2). Im folgenden wird ein Überblick über die bislang erforschten Einflüsse von Metallionen auf die unterschiedlichen Stadien der Mineralisierung gegeben.

### 2.2.4.1 Zelltoxizität

Die Untersuchung der Biokompatibilität von orthopädisch relevanten Materialien erfolgt seit einigen Jahren nicht mehr nur durch Tierversuche, sondern vermehrt auch durch *in-vitro*-Zellkulturanalyse. Dabei kommen sowohl Zellen tierischen Ursprungs[77] als auch menschliche Knochenmarkszellen (Wilke[111][112], Rae[87]) zum Einsatz.

Die Reaktion von Zellen auf Kontakt mit Biomaterialien lässt sich mit Adhärenz, Wachstum, Proliferation und Differenzierung beschreiben. Jeder dieser Aspekte wird wiederum durch unterschiedliche Eigenschaften der Materialoberfläche beeinflusst, wie z.B. Oberflächenrauigkeit und chemische Zusammensetzung der Grenzschicht zwischen Implantat und dem umgebenden flüssigen Medium.

Für die Osteointegration eines Implantats ist es wichtig, dass das verwendete Material die Knochenneubildung nicht behindert, sondern sie sogar unterstützt. Das

erfordert zum einen gute Adhäsion von Knochenzellen, zum anderen auch die Förderung der Produktion von extrazellulärer Matrix. Die Knochenmarkszellkulturen von Wilke et al. zeigten, dass diesbezüglich bei den Metallen die Titanverbindungen (insbesondere Reintitan) bessere Resultate liefern als Co-Cr-Legierungen und rostfreier Stahl[111].

Andere Studien befassten sich mit dem Zellverhalten in metallionenhaltigen Medien, um die Einflüsse der Oberflächencharakteristik auszuschalten. Solche Lösungen lassen sich entweder durch elektrochemische Zersetzung der zu untersuchenden Ausgangsmaterialien gewinnen oder vereinfacht mit den entsprechenden Metallsalzen ansetzen. Es wurde gezeigt, dass die unterschiedlichen Lösungen bei gleichen Metallionenkonzentrationen vergleichbare Ergebnisse liefern[101].

Die Experimente führten unter anderem zu der Erkenntnis, dass Ionenlösungen, die Co-Cr-Mo-Legierungen bzw. rostfreiem Stahl entsprechen, toxisch auf osteogene Zellen wirken[87], und zwar schon bei Konzentrationen, wie sie in der fibrosen Kapsel<sup>19</sup> um orthopädische Implantate gemessen wurden (Puleo[86]). Speziell wirken sich diese Ionen schon in subletalen Dosen auf die typischen Eigenschaften der Osteoblasten (z.B. die Produktion alkalischer Phosphatase, die als Indikator für die Knochenneubildung gilt) aus (Morais[70][71]).

Ti-Ionen wirken bei verhältnismäßig niedrigen Konzentrationen (ca. 5 ppm) als Inhibitoren auf die Deposition von Mineralien in den Kalzifikationszentren der Zellkultur, unterdrücken die Zellproliferation aber erst in Dosen ab 10 ppm (Liao[58]). Auch hier liegen die maximalen Konzentrationen von Ti-Ionen, die in der fibrosen Kapsel gemessen wurden, deutlich höher (bis zu 21 ppm (Dorr[27])).

Schwere Auswirkungen haben Ti- und auch Al-Ionen offenbar auf die Bildung von Osteokalzin, einem Protein, das eine wichtige Rolle bei der Verkalkung der extrazellulären Matrix spielt (Thompson[100]). Ähnliche Effekte traten auch bei Kobaltkonzentrationen über 0,17 mmol/mL auf (Anissian[4]).

#### 2.2.4.2 Einflüsse auf die Kristallisation von Hydroxylapatit

Neben dem komplexen Zusammenspiel von Zellen, interzellulären Biomolekülen und anorganischen Knochenbaumaterialien wird die Knochenmineralisation auch noch von rein physikalischen und chemischen Kristallisationsvorgängen bestimmt. Im Vergleich zu den zellbiologischen Vorgängen lassen diese sich im Labor mit deutlich weniger Aufwand simulieren.

Blumenthal et al.[16] untersuchten die Bildung von Hydroxylapatit in verschiedenen Modellsystemen mit Hilfe der automatisierten pH-Wert-Stabilisation. Wie aus Gleichung 2.3 hervorgeht, entsteht bei der Bildung von OHAp Säure. In den

---

<sup>19</sup>Hierbei handelt es sich um eine Schicht unzureichend mineralisierten Knochengewebes, deren Anwesenheit mit Lockerung bzw. Abstoßung des Implantats einhergehen kann.



Untersuchungen wurde der pH-Wert konstant bei 7,4 gehalten, indem der Lösung automatisch Natronlauge zugeführt wurde. Der Verbrauch an Natronlauge ergab damit ein Maß für die Reaktionsrate der Apatitbildung.

Als Modellsysteme kamen verschiedene Fällungsreaktionen zur Synthese von OHAp zum Einsatz. Hierbei wurde zum einen OHAp über den Umweg der Bildung aus ACP erzeugt, zum anderen wurde OHAp direkt aus Lösungen gewonnen, die  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen enthielten. Das zweite System wurde zudem durch das Einbringen von OHAp-Keimen in metastabile Lösungen modifiziert.

Die Experimente sollten in erster Linie zeigen, inwieweit die Biomineralisation

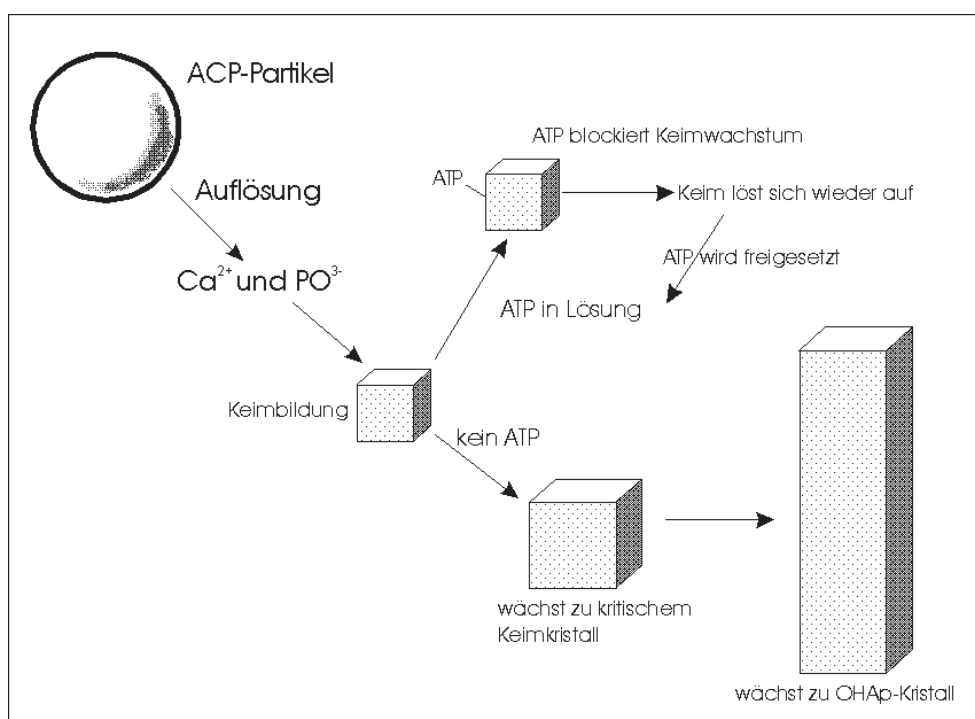


Abbildung 2.15:

Schematische Darstellung der Inhibition der Bildung von Hydroxylapatit bzw. der Umwandlung von ACP zu OHAp durch ATP. Dieser von Blumenthal et al. vorgeschlagene Mechanismus lässt sich auch auf andere Stoffe anwenden, die die OHAp-Bildung behindern. (Umgezeichnet nach Blumenthal[16].)

durch im Blutplasma vorkommende Moleküle reguliert wird[16]. Pyrophosphationen ( $\text{P}_2\text{O}_7$ ) und Adenosintriphosphat ( $\text{ATP}$ )<sup>20</sup> enthalten P–O–P-Bindungen (sog. kondensierte Phosphate) und können die Bildungsrate von OHAp deutlich

<sup>20</sup>ATP dient als Energieüberträger im Intermediärstoffwechsel (Rasig[88]). Biologische Systeme enthalten stets auch Biomoleküle, die ATP spalten können (sog. ATPasen).

herabsetzen. In Abhängigkeit von der Konzentration verhindert ATP den Start der Umwandlung von amorphem Kalziumphosphat zu Hydroxylapatit bzw. verzögert ihn um mehrere Stunden. Es wird angenommen, dass sich die Moleküle mit Hilfe der P–O–P–Bindungen an die Oberflächen der frisch gebildeten OHAp–Keime anlagern und damit das weitere Kristallwachstum behindern (vergleiche Abb. 2.15). Von besonderem Interesse für die vorliegende Arbeit sind Blumenthals Versuche mit Metallionen an Stelle der inhibierenden Biomoleküle[15][16]. Die Resultate zeigten einen hemmenden Einfluss von Aluminiumionen in allen drei Modellsystemen. Zudem wurde nachgewiesen, dass die Oberfläche der OHAp–Präzipitate mit Aluminiumionen in der Größenordnung etwa einer Monolage bedeckt war. Durch die Anlagerung von Aluminium an aktive Wachstumsflächen der zu Beginn der Mineralisation gebildeten Apatitkeime wird somit das weitere Kristallwachstum (analog zu Abb. 2.15) behindert[16]. Die Oberflächenadsorption von  $\text{Al}^{3+}$ -Ionen an OHAp wurde in neueren Untersuchungen (Mayer[66]) bestätigt und durch die Bildung von Aluminiumphosphatkomplexen mit (der OHAp–Oberfläche anhaftenden)  $\text{PO}_4$ -Gruppen (vgl. Abschnitt 2.2.1) erklärt.

Für Titan- und Vanadiumionen wurden die oben beschriebenen Experimente ebenfalls durchgeführt, allerdings nur für die direkte Kristallisation von OHAp<sup>21</sup> mit und ohne Einsatz von Impfkristallen. Auch hier zeigten sich anhand der verminderten NaOH–Aufnahme während der Reaktionsdauer deutliche wachstumshemmende Effekte, die stoffmengenbezogen bei Vanadium deutlich stärker ausgeprägt waren als bei Titan. Allerdings konnte keine Anlagerung von Vanadiumionen an die Oberfläche der Präzipitate beobachtet werden, während Titan sich in dieser Hinsicht ähnlich wie Aluminium verhielt. Die V–haltigen Lösungen zeigten allerdings Entfärbung, daher konnten die Vanadiumionen nicht mehr in freier Form vorliegen. Blumenthal nahm an, dass die Ionen in der Lösung hydrierte V– $\text{PO}_4$ -Komplexe bildeten, die in einer ungeklärten Weise die OHAp–Mineralisation behinderten.

Allen drei Metallen gemeinsam war, dass die OHAp–Bildungsreaktion trotz Anwesenheit der Ionen sofort nach der Mischung der Reaktanden einsetzte. Offenbar wirken die Metalle nur inhibierend auf die Auskristallisation der Präzipitate, nicht aber auf die Bildung der ersten Kristallkeime.

Layani et al.[56] untersuchten ebenfalls mit Hilfe einer Fällungsreaktion die Einflüsse von Titanionen auf die Kristallstruktur von präzipitiertem OHAp und belegten mit den Resultaten die Aufnahme von Ti–Ionen durch die Reaktionsprodukte. Sie fanden zudem eine Abnahme des Gitterparameters  $a$  des OHAp–Gitters in Abhängigkeit von der Temperatur, mit der die Pulverproben geheizt wurden. Dieser Effekt konnte nur teilweise durch die Freisetzung von Kristallwasser erklärt

---

<sup>21</sup>Blumenthal arbeitete mit einer geringen Konzentration von  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$ , so dass kein ACP als Zwischenprodukt entstand. In der vorliegenden Arbeit wurden hingegen übersättigte Lösungen benutzt, da im Falle der Knochenneubildung an der Implantatgrenzfläche ebenfalls lokal übersättigte Lösungen postuliert wurden (vgl. Abschnitt 2.1.3.2).

werden, offensichtlich waren die Ti-Ionen an der kristallographischen Veränderung beteiligt. Aus den Experimenten ging allerdings nicht hervor, ob die  $\text{Ti}^{4+}$ -Ionen in die OHAp-Struktur eingebaut wurden oder nur der Oberfläche anhafteten.

Diese Resultate sind Belege dafür, dass der Einfluss von Metallionen nicht nur unter zellbiologischen Aspekten betrachtet werden darf. Die Effekte auf den rein physikalisch-chemischen Vorgang der Kristallisation aus einer gesättigten Lösung stehen zunehmend im Interesse der Forschung und stellen auch den Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit dar.



# Kapitel 3

## Experimentelle Methoden

### 3.1 Modellsysteme zur Simulation der Knochenmineralisation

Während der Knochenbildung gibt es viele kritische Phasen, in denen äußere Einflüsse Struktur und Eigenschaften des fertigen Knochengewebes mitbestimmen können. In dieser Arbeit sollte speziell der Einfluss von Metallionen auf die Kalzifizierung der Knochenmatrix untersucht werden.

#### 3.1.1 *in-vitro*-Mineralisation bei basischem pH-Wert

Zunächst sollte ein möglichst einfacher und leicht zu parametrisierender Zugang zur Kristallisation von Hydroxylapatit gefunden werden. Zu diesem Zweck erschien es sinnvoll, Kalzium und Phosphat im exakten stöchiometrischen Verhältnis gemäß Gleichung 2.3 reagieren zu lassen. Zudem sollte während der gesamten Reaktionszeit ein basisches Milieu gewährleistet sein, um den Einfluss sinkender pH-Werte auszuschalten.

Da dieses Modellsystem sich als reproduzierbar und leicht in der Handhabung erwies, wurde es für fünf verschiedene Metalle und unterschiedliche Metallionenkonzentrationen angewandt.

### 3.1.1.1 Rezeptur für die Hydroxylapatitsynthese

Als Reaktanden wurden Kalziumnitrat Tetrahydrat<sup>1</sup> und Diammoniumhydrogenphosphat<sup>2</sup> eingesetzt. Die molaren Massen der Substanzen waren  $M(\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}) = 236 \text{ g}$  und  $M((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4) = 132 \text{ g}$ . Von beiden Stoffen wurden Mutterlösungen in Erlenmeyerkolben angesetzt, wobei 5,9 g (0,025 mol) Kalziumnitrat und 1,98 g (0,015 mol) Diammoniumhydrogenphosphat in jeweils 150 ml deionisiertem Wasser<sup>3</sup> aufgelöst wurden. Der Grad der Übersättigung der Reaktionslösung (vgl. Abschnitt 2.2.3.1) ergibt sich durch die Bildung des Löslichkeitsprodukts der beteiligten Ionen  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$ :

$$[\text{Ca}^{2+}][\text{PO}_4^{3-}] = 83,34 \text{ mM} \cdot 50 \text{ mM} \approx 4,17 \cdot 10^4 [\text{mM}]^2 \quad (3.1)$$

Reagieren die Salze gemäß Gleichung 2.3 vollständig miteinander, so ergeben sich 0,005 mol Hydroxylapatit als fester Niederschlag, was einer Masse von 2,51 g entspricht ( $M(\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}) = 502 \text{ g}$ ).

Wenn die Salze vollständig aufgelöst waren, wurde die Phosphat-Mutterlösung zu der Kalzium-Mutterlösung gegeben<sup>4</sup>, und zwar in drei Portionen zu je etwa 50 ml, wobei die erste Zugabe tröpfchenweise erfolgte, die zweite langsam fließend und die dritte innerhalb weniger Sekunden. Zwischen den Zugaben wurde das Gemisch vorsichtig geschüttelt, ohne die ersten Kristallkeime zu zerstören.

Unmittelbar nach der vollständigen Mischung wurden 20 ml 25 %-iger Ammoniaklösung<sup>5</sup> zugegeben, was den pH-Wert auf etwa 12 anhob. Dass diese Menge ausreichte, um den hohen pH-Wert für die gesamte Dauer der Reaktion zu gewährleisten war bereits in zahlreichen Vorversuchen sowohl mit Universalindikatorpapier als auch mit einem elektronischen pH-Messgerät<sup>6</sup> getestet worden.

Nach der pH-Regulierung wurde die Mischung auf der Keramikplatte eines Magnetrührers bei etwa 65 % Leistung 10 Minuten lang geheizt, so dass die Temperatur der Reaktionslösung auf etwa 80 °C angehoben wurde. Danach wurde der Erlenmeyerkolben ohne Schütteln von der Heizplatte genommen und über Nacht zum Abkühlen und Ruhen unter den Abzug gestellt.

Etwa 20 Stunden später wurde der pH-Wert des Reaktionsgemisches geprüft und der Erlenmeyerkolben durch einen Faltenfilter entleert. Das Reaktionsprodukt wurde mehrmals mit Wasser gewaschen, um den schwerlöslichen Niederschlag von

---

<sup>1</sup>Hersteller: Riedel-de Haën.

<sup>2</sup>Hersteller: Aldrich.

<sup>3</sup>Wenn im folgenden in den Versuchsbeschreibungen von Wasser die Rede ist, so handelt es sich in jedem Fall um deionisiertes Wasser aus dem institutseigenen Ionenaustauscher.

<sup>4</sup>Dies entspricht der in Abschnitt 2.2.1.2 beschriebenen inversen Methode.

<sup>5</sup>Hersteller: Grüssing Diagnostika Analytika.

<sup>6</sup>Mikroprozessorgesteuertes pH/mV/°C-Meter HI 9321 mit Glaskörper-pH-Elektrode HI 1131B der Firma HANNA Instruments.

den noch in der Lösung befindlichen Ionen zu trennen. Der Waschvorgang wurde abgeschlossen, wenn kein Ammoniakgeruch mehr wahrnehmbar war.

Wenn die Masse im Filter weitestgehend eingedickt war, wurde das Filterpapier mit dem Niederschlag in einen Wärmeschrank gegeben, um bei 40 °C zu trocknen. Danach wurde das Produkt gewogen und grob im Mörser zerkleinert. Teile der Substanz wurden dann in unglasierte Porzellantiegelchen umgefüllt und in einem Ofen bei verschiedenen Temperaturen (üblicherweise 900 °C und 1000 °C) eine Stunde<sup>7</sup> lang geheizt, um die Kristallitgröße für die XRD-Messungen der Proben zu erhöhen.

Diese Methode zur Synthese von OHAp lehnt sich an mehrere der in Abschnitt 2.2.1.2 beschriebenen Vorgehensweisen an. Zwar wurden die Reaktanden bezüglich Ca und P genau im stöchiometrischen Verhältnis gemäß der Summenformel von OHAp gemischt, jedoch sorgte die tröpfchenweise Zugabe der Phosphatlösung zur Kalziumnitratlösung für eine anfangs starke Übersättigung des Reaktionsgemisches mit  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen. Zudem kann davon ausgegangen werden, dass die Reaktion in der Anfangsphase den pH-Wert zunächst nur in geringfügigem Maße gesenkt hat, so dass sich die ersten Kristallkeime ungehindert bilden konnten (siehe Kapitel 4). Von den Vorteilen der Erhitzung des Gemisches wurde ebenfalls Gebrauch gemacht, wobei allerdings das Präzipitat in der Lösung belassen wurde. Da es in erster Linie auf den Einfluss der Metallionen ankam, wurde es als sinnvoller angesehen, diese über einen längeren Zeitraum auf das Präzipitat einwirken zu lassen, statt die Reaktion vorzeitig abubrechen.

Leider war es mit den zur Verfügung stehenden technischen Mitteln nicht möglich, die Umgebungsbedingungen des Labors (z.B. Raumtemperatur, Luftfeuchtigkeit usw.) zu kontrollieren. Ebensowenig konnte der Kontakt des Reaktionsgemisches mit in der Luft befindlichem Kohlendioxid vermieden werden, so dass die Bildung von karbonathaltigem Apatit nicht ausgeschlossen werden konnte. Allerdings bestand die Aufgabe des Modellsystems nicht in der Produktion eines stöchiometrisch absolut reinen Hydroxylapatits, sondern in der Nachbildung der im menschlichen Körper stattfindenden Mineralisationsprozesse, die ebensowenig unter  $\text{CO}_2$ -Ausschluss stattfinden.

### 3.1.1.2 Zugabe von Metallionen

Tabelle 3.1 zeigt eine Liste der in den Versuchen benutzten Metallsalze. Es wurden ausschließlich Salze mit hoher Löslichkeit verwendet, wobei Titan(III)chlorid und Aluminiumchlorid bereits als Lösungen vorlagen.

Um den Einfluss der Metallionen auf die Hydroxylapatitsynthese zu untersuchen,

---

<sup>7</sup>Die Zeit wurde von dem Moment an gerechnet, in dem die gewünschte Temperatur erreicht war. Das Aufheizen auf 900 °C dauerte 40 min, auf 1000 °C etwa 60 min.

wurde vor dem Mischen der beiden Mutterlösungen (vgl. Abschnitt 3.1.1.1) eine bestimmte Menge des entsprechenden Salzes abgewogen bzw. mit einer Mikropipette abgemessen und der Kalziumnitratlösung hinzugefügt. Die zugegebene Menge wurde dabei prozentual bemessen, und zwar bezogen auf die Masse aller Kalziumatome in der gemäß der stöchiometrischen Reaktion zu erwartenden Produktmenge. Dies

Ion	Salz	Summenformel	molare Masse	Hersteller
$Ti^{3+}$	Titan(III)chlorid 20 % in 3 % HCl	$TiCl_3$	154,5 g	ALFA AESAR <sup>8</sup>
$V^{3+}$	Vanadium(III)chlorid 99 % (metals basis)	$VCl_3$	157,5 g	ALFA AESAR
$Co^{2+}$	Kobalt(II)nitrat Hexahydrat 98 %	$Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	291 g	ALDRICH
$Cr^{3+}$	Chrom(III)nitrat Nonahydrat 99 %	$Cr(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$	400 g	ALDRICH
$Al^{3+}$	Aluminiumchlorid 6,0N Standardlsg.	$AlCl_3$	133,5 g	ALFA AESAR

Tabelle 3.1: Im Versuch als Metallionenquellen verwendete Salze.

geschah unter der Annahme, dass eine Inkorporation von Metallionen ins Hydroxylapatit durch Substitution von Kalziumatomen erfolgte. Die Reaktion von 5,9 g Kalziumnitrat mit 1,98 g Diammoniumhydrogenphosphat sollte bei vollständiger Umsetzung zur Bildung von 2,51 g Hydroxylapatit führen (s.o.). Laut Summenformel von Hydroxylapatit entspricht das exakt 1 g Kalzium. Es wurde dann für jedes Metallsalz gemäß der folgenden Formel die Masse  $m_{Zugabe}$  berechnet, die erforderlich war, um genau ein 1 % der Kalziumatome (also 0,01 g) im erzeugten Hydroxylapatit zu ersetzen:

$$m_{Zugabe} = \frac{M_{Salz}}{n \cdot M_{Ion}} \cdot 0,01 \text{ g} \quad (3.2)$$

Darin sind  $M_{Salz}$  und  $M_{Ion}$  die molaren Massen des Salzes bzw. des betreffenden Metalls und  $n$  die Anzahl der Metallatome in einem Salzmolekül, die für alle verwendeten Metallsalze 1 war. Die Massen, die jeweils einer anteiligen Zugabe von 1 % entsprachen, sind in Tabelle 3.2 angegeben. In den Versuchen zur Hydroxylapatitsynthese im basischen Milieu wurden Zugabemengen von 0,5 % bis 20 % (bei Al bis zu 30 %) verwendet, deren Massenberechnungen sich alle auf die Tabellenwerte

---

<sup>8</sup>Johnson Matthey GmbH



beziehen, allerdings bevor diese gerundet wurden. Alle Massen wurden mit einer mechanischen Analysewaage der Marke Sartorius und einer Genauigkeit von etwa  $\pm 0,2$  mg abgewogen<sup>9</sup>.

Um die Vergleichbarkeit der Versuche mit verschiedenen Metallionenkonzentrationen sicherzustellen, wurde für jede Kalziumnitratmutterlösung die Zugabe des jeweiligen Salzes etwa 10 Minuten vor der Mischung der beiden Mutterlösungen durchgeführt. Dadurch konnte das Vorhandensein noch ungelöster Substanzen bei Beginn

Metall	Ti	V	Co	Cr	Al
Zugabe 1 %	0,164 ml	30,9 mg	49,4 mg	76,9 mg	0,1852 ml

Tabelle 3.2: Zugabemengen für Metallsalze bei basischer Hydroxylapatitsynthese, jeweils bezogen auf 1 % des Kalziums im Reaktionsprodukt.

der Synthese ausgeschlossen werden. Die weitere Behandlung der Reaktionsgemische erfolgte exakt genauso wie im vorherigen Abschnitt für die zusatzfreie Synthese von Hydroxylapatit beschrieben.

### 3.1.2 *in-vitro*-Mineralisation in SBF

Um die Bedingungen des Modellsystems für die Biomineralisation von Hydroxylapatit den physiologischen Gegebenheiten anzupassen, wurde das wässrige, fremdionenfreie Medium ersetzt durch eine Lösung, die in ihrer chemischen Zusammensetzung dem menschlichen Blutplasma nachempfunden war. Eine solche Lösung bezeichnet man als **Synthetic Body Fluid**. In der Literatur findet man verschiedene Zusammensetzungen von SBFs, von denen zwei in Tabelle 3.3 hinsichtlich ihrer Ionenkonzentrationen menschlichem Plasma gegenübergestellt werden. Die in Spalte zwei dargestellte Komposition wurde von Cüneyt Tas et al. entwickelt[24]. Da die Konzentrationen der Chlorid- und der Hydrogenkarbonationen besser den physiologischen Konzentrationen entsprechen als in älteren Rezepturen, wurde diese Zusammensetzung für die vorliegende Arbeit verwendet.

Alle festen Zutaten für die SBF sind in Tabelle 3.4 aufgelistet. Für die Bereitung der Lösung wurde zudem deionisiertes Wasser und Salzsäure mit einer Konzentration von 1 mol/l (1N HCl) zur Titration bereitgestellt.

Das Wasser wurde zunächst im Wärmeschrank auf eine Temperatur von 37 °C gebracht. Dann wurden gemäß der in der Tabelle angegebenen Reihenfolge die Salze nacheinander abgewogen und in 700 ml Wasser aufgelöst. Jede Zutat wurde

---

<sup>9</sup>Der Fehler setzt sich aus der für die Waage angegebenen Genauigkeit von 0,1 mg und einem geschätzten Ablesefehler von  $\pm 0,1$  mg zusammen.

Ion	Kokubo et al.[53] (mM)	vorliegende Arbeit (nach [24]) (mM)	Menschliches Plasma (mM)
Na <sup>+</sup>	142,0	142,0	142,0
Cl <sup>-</sup>	147,8	125,0	103,0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4,2	27,0	27,0
K <sup>-</sup>	5,0	5,0	5,0
Mg <sup>2+</sup>	1,5	1,5	1,5
Ca <sup>2+</sup>	2,5	2,5	2,5
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	1,0	1,0	1,0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	0,5	0,5	0,5

Tabelle 3.3: Ionenkonzentrationen von SBF-Lösungen und menschlichem Plasma (Cüneyt Tas[24]).

erst dann zugegeben, wenn alle vorhergehenden sich vollständig gelöst hatten. Nach der Auflösung der 5. Zutat wurden 15 ml 1N HCl mit einer Messpipette (Genauigkeit  $\pm 0,1$  ml) zugefügt und mit der Lösung verrührt. Nach der Zugabe der 8. Substanz wurde die Lösung verschlossen und im Wärmeschrank zusammen mit dem Rest des Wassers wieder auf 37 °C erwärmt. Schließlich wurden weitere 25 ml 1N HCl zugegeben und die Lösung auf genau 1 l aufgefüllt. Dann wurde der pH-Wert bestimmt und gegebenenfalls mit wenigen Tropfen 1N HCl bis zum physiologischen Wert von 7,4 titriert.

Die Hydroxylapatitsynthese in SBF wurde in mehreren Punkten gegenüber der Reaktion im basischen Milieu abgewandelt. Als Grundlage wurde eine von Cüneyt Tas[24] beschriebene Reaktion verwendet. Es wurden wieder Mutterlösungen hergestellt, wobei 23,615 g Kalziumnitrat Tetrahydrat und 5,154 g Diammoniumhydrogenphosphat in jeweils 125 ml SBF (T=37 °C) aufgelöst wurden. Bis zur vollständigen Auflösung der Salze wurden die Erlenmeyerkolben im Wärmeschrank auf der physiologischen Temperatur gehalten. Schließlich wurden beide Lösungen gemischt, in dem die Phosphatlösung zunächst tröpfchenweise in die Kalziumlösung gegeben wurde, bis etwa die Hälfte der Lösung verbraucht war. Dann wurde der Rest etwas zügiger hinzugefügt und das Gemisch vorsichtig geschüttelt.

Sofort nach der Mischung wurde der pH-Wert korrigiert. Dazu wurde eine zuvor vorbereitete 12,5 %-ige Ammoniaklösung solange zu dem Reaktionsgemisch gegeben, bis der pH-Wert auf etwa 7,4 angehoben war. Dann wurde der Erlenmeyerkolben in den Wärmeschrank gegeben, wo die Reaktion bei 37 °C fortschreiten konnte. Nach etwa 24 Stunden wurde der Inhalt des Kolbens wieder vorsichtig geschüttelt und der

pH-Wert noch einmal auf 7,4 titriert. Nach einem weiteren Tag im Wärmeschrank wurde das Reaktionsprodukt gefiltert und mit etwa 300 ml deionisiertem Wasser gewaschen und schließlich auf dem Filterpapier im Wärmeschrank getrocknet. Die weitere Behandlung der Proben erfolgte analog zu Abschnitt 3.1.1.

Bei der Zugabe von Metallsalzen musste hinsichtlich des prozentualen Anteils

Position	Reagens	Menge (Gramm pro Liter)
1	NaCl	6,547
2	NaHCO <sub>3</sub>	2,268
3	KCl	0,373
4	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,178
5	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0,305
6	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0,368
7	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,071
8	(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub> CNH <sub>2</sub> <sup>10</sup>	6,057

Tabelle 3.4: Chemische Zusammensetzung einer SBF-Lösung (Patent: Turkish Patent Institute, Turkey, *Appl. No.* 99-0037, 11. Januar 1999). Für die vorliegende Arbeit wurde Position 4 durch 0,268 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O ersetzt.

die Vergrößerung der Menge des Reaktionsproduktes gegenüber den in Abschnitt 3.1.1 beschriebenen Experimenten berücksichtigt werden. Da die Reaktion in SBF in einer mit Kalziumionen übersättigten Lösung stattfand, wurde die maximale Ausbeute an Hydroxylapatit durch die verwendete Menge Diammoniumhydrogenphosphat bestimmt. Die in Tabelle 3.2 angegebenen Zugabemengen wurden daher mit dem Faktor 2,603 (5,154 g/1,98 g) multipliziert. Die daraus resultierenden Zugabemengen für die verwendeten Metallsalze sind in Tabelle 3.5 aufgelistet. Chrom- und Aluminiumsalze wurden bei diesem Verfahren der Mineralisation von

Metall	Ti	V	Co
Zugabe 1 %	0,427 ml	80,4 mg	128,6 mg

Tabelle 3.5: Zugabemengen für Metallsalze bei der Hydroxylapatitsynthese in SBF, jeweils bezogen auf 1 % des Kalziums im Reaktionsprodukt.

Hydroxylapatit nicht verwendet. Die Zugabe der Salze wurde auf die gleiche Weise durchgeführt wie bei den Versuchen im basischen Milieu.

<sup>10</sup>TRIZMA BASE, Tris(hydroxymethyl)aminomethan. Hersteller: Sigma.

### 3.1.3 Experimente unter Einfluss von Proteinen

Da menschliches Plasma nicht nur anorganische Salze enthält, sondern auch komplexe organische Moleküle, kann die SBF nur als grobe Simulation der physiologischen Bedingungen angesehen werden. Zusätzlich wurden daher einige Versuche durchgeführt, in denen die verwendete SBF außer den üblichen Ionen auch organische Substanzen enthielt. Einige biochemische Informationen zu den Proteinen und Peptiden finden sich in Anhang B.

#### 3.1.3.1 Synthese von Hydroxylapatit in SBF mit Albumin

Da der Anteil von Albumin im menschlichen Blutplasma bei mehreren Prozent liegt, wurden gegenüber der oben beschriebenen Synthese in SBF das Flüssigkeitsvolumen sowie die verwendeten Stoffmengen auf ein Fünftel reduziert. Außerdem wurde kein Albumin menschlicher Herkunft verwendet, sondern das deutlich preiswertere Rinderalbumin<sup>11</sup>. Das SBF/Albumin-Gemisch wurde hergestellt, indem die erforderliche Menge (35 g Albumin auf 1 l SBF) abgewogen und dann vorsichtig in die auf 37 °C erwärmte SBF eingerührt wurde. Um Schaumbildung zu vermeiden, wurde das Gemisch nicht geschüttelt, sondern in den Wärmeschrank gegeben, so dass sich das Albumin bei physiologischer Temperatur langsam lösen konnte.

Mit der fertigen Lösung wurden dann die Mutterlösungen bereitet. Hierfür wurden 4,723 g Kalziumnitrat Tetrahydrat und 1,0308 g Diammoniumhydrogenphosphat in jeweils 25 ml der SBF/Albumin-Lösung aufgelöst. Bei der Metallsalzzugabe wurden wiederum die prozentualen Anteile an die verringerten Eduktmengen angepasst. Die entsprechenden Werte finden sich in Tabelle 3.6.

Metall	Ti	V	Co
Zugabe 1 %	0,086 ml	16,1 mg	25,7 mg

Tabelle 3.6: Zugabemengen für Metallsalze bei der Hydroxylapatitsynthese in SBF mit Albumin, jeweils bezogen auf 1 % des Kalziums im Reaktionsprodukt.

Nach der Mischung der Mutterlösungen wurde das entstandene Gemisch mit 12,5 %-iger Ammoniaklösung auf den pH-Wert 7,4 titriert und anschließend für etwa einen Tag im Wärmeschrank bei 37 °C aufbewahrt. In verschiedenen Zeitabständen wurden die Proben vorsichtig geschüttelt und der pH-Wert gegebenenfalls korrigiert. Anschließend wurden die Proben wie gewohnt gefiltert und jeweils mit etwa 200 ml Wasser gewaschen.

<sup>11</sup>Hersteller: Merck, Molekulargewicht etwa 66 kDa.

Das getrocknete Reaktionsprodukt wurde im Ofen bei 900 °C eine Stunde lang gebacken. Allerdings erforderte die Anwesenheit von Albumin, dass die Kristalle fein gemörsert wurden, weil sonst die Proben unter starker Raumentwicklung verkohlt wären.

### 3.1.3.2 Synthese von Hydroxylapatit in SBF mit Gly–Pro–Gly–Gly und Gly–Gly–Gly

In letzter Zeit wird immer öfter die Verwendung von Polypeptiden zur Stimulation der Osteointegration orthopädischer Implantate diskutiert. Es erschien daher interessant, die Auswirkungen einiger Peptide auf die Mineralisation von Apatiten in SBF zu testen. Verwendet wurde zum einen das Tetrapeptid Gly–Pro–Gly–Gly<sup>12</sup>, das allerdings nur in einer Menge von 25 mg zur Verfügung stand, was lediglich für ein einziges Experiment ausreichte. Für weitere Versuche wurde das kostengünstigere Tripeptid Gly–Gly–Gly<sup>13</sup> benutzt.

Die Mineralisation unter Zusatz von Gly–Pro–Gly–Gly wurde im gleichen Reaktionsvolumen durchgeführt wie die Versuche mit Albumin, wobei als Metallionenzusatz Vanadiumchlorid mit einem Anteil von 1 % zum Einsatz kam. Die Versuche mit Gly–Gly–Gly wurden im doppelten Reaktionsvolumen und mit jeweils 3 % Titan, Vanadium und Kobalt durchgeführt. Die Reaktionsdauer lag in allen Versuchen bei etwa 4 Stunden. Der pH-Wert der Reaktionsgemische wurde in Abständen von jeweils einer Stunde durch Zugabe von 12,5 %-iger Ammoniaklösung wieder auf den physiologischen Wert 7,4 gebracht. Die weitere Behandlung der Proben erfolgte in der gleichen Weise wie für alle anderen in SBF produzierten Apatite.

## 3.2 Kristallstrukturuntersuchungen und Phasenanalyse mit XRD

Die Röntgendiffraktometrie eignet sich zur Untersuchung aller polykristallinen Substanzen. Das Prinzip beruht auf der bekannten *Bragg*-Reflexion von monochromatischer Röntgenstrahlung an den Netzebenen eines Kristalls. Ist für den Einfallswinkel, die Röntgenwellenlänge und den Netzebenenabstand die Bragg-Bedingung erfüllt, kommt es zur konstruktiven Interferenz. Somit liefern die Peaks in einem Röntgendiffraktogramm, das durch die Variation des Einfallswinkels einer Röntgenstrahlung mit fester Wellenlänge entsteht, Informationen über die Abstände der im

---

<sup>12</sup>C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>, Hersteller: Sigma.

<sup>13</sup>C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, Hersteller: Riedel–de Haën. Literatur: Beilstein[62].

untersuchten Kristall auftretenden Netzebenen. Die relativen Intensitäten der Netzebenenscharen texturfreier Proben entnimmt man der JCPDS-Datei<sup>14</sup>[45], die der für diese Arbeit benutzten Auswertungssoftware[94] angeschlossen war.

### 3.2.1 Aufbau des Röntgendiffraktometers

Sämtliche diffraktometrischen Messungen wurden mit dem Siemens D5000 Pulverdiffraktometer des Instituts für Kernphysik durchgeführt. Abbildung 3.1 zeigt die *Bragg–Brentano*–Anordnung des Goniometers. Auf dem sogenannten Messkreis befand sich fest montiert die Röntgenröhre, der Detektor konnte frei bewegt werden. Im Zentrum des Messkreises befand sich ein um die Messkreisachse drehbarer Probenhalter, der die Probenoberfläche in der zum Messkreis orthogonalen Messebene fixierte.

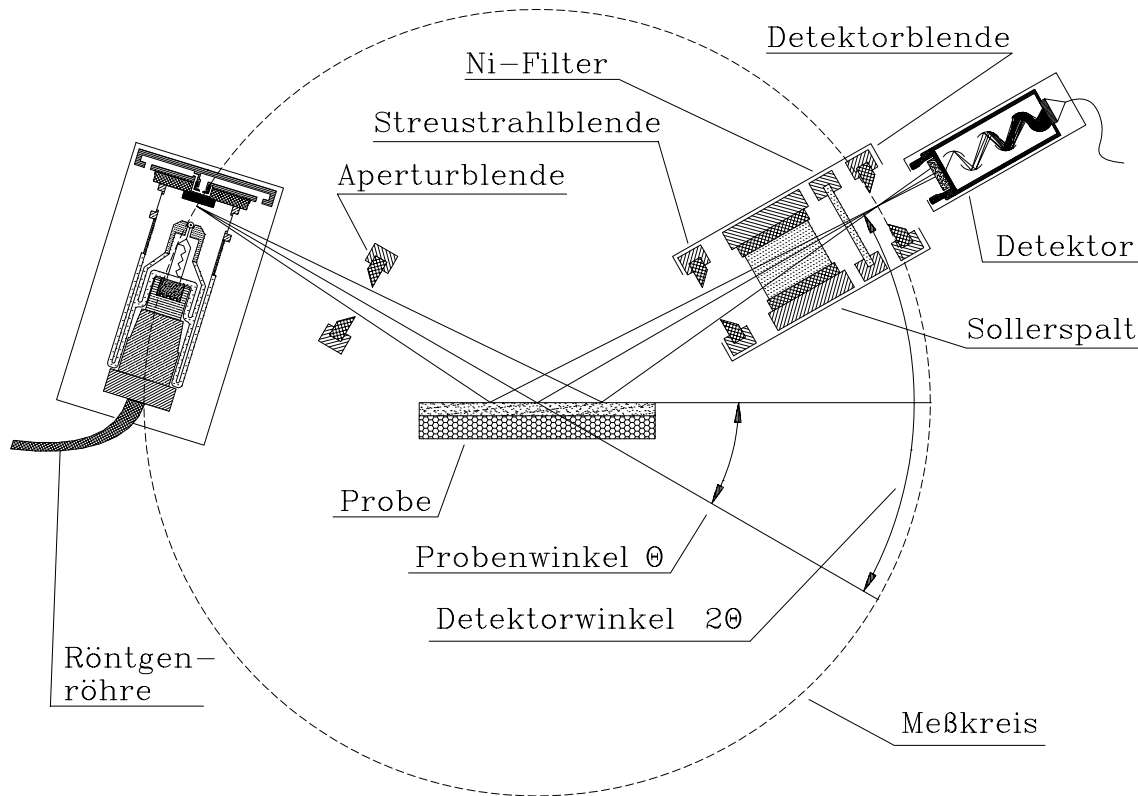


Abbildung 3.1: Prinzipieller Aufbau des Diffraktometers Siemens D5000. Röntgenquelle, Probe und Detektor befinden sich in der Standard- $\Theta/2\Theta$ -Messanordnung (aus: Filies[34]).

<sup>14</sup>JCPDS=Joint Committee on Powder Diffraction Standards.

Im folgenden werden die technischen Spezifikationen des Diffraktometers Siemens D5000 aufgelistet:

- **Röntgenröhre:** Typ FK60–04×12 der Firma AEG mit Kupferanode
- **Leistung:** max. 2.2 kW, im Standardbetrieb 1.2 kW (30 mA Elektronenstrom und 40 kV Beschleunigungsspannung)
- **Röntgenwellenlängen** der von der Röhre erzeugten Strahlung:
  - $K\alpha_1$ :  $\lambda=1.541 \text{ \AA}$  (55.6 %)
  - $K\alpha_2$ :  $\lambda=1.544 \text{ \AA}$  (27.8 %)
  - $K\beta$ :  $\lambda=1.392 \text{ \AA}$  (16.6 %)
- **Brennfleck:** 0.4 mm in Messkreisebene und 12 mm senkrecht dazu
- **Detektor:** Szintillationszähler der Firma Siemens vom Typ C72298–A3138–A2, bestehend aus einem mit Thallium dotierten NaJ–Kristall (25 mm Durchmesser und 1 mm Dicke) und einem Photomultiplier

Alle Messungen an Pulverproben wurden mit dem Standard–**X–Ray–Diffraction–**Verfahren durchgeführt, bei dem der Einfallswinkel des primären Röntgenstrahls immer gleich dem Ausfallswinkel des sekundären Röntgenstrahls ist. Um dies zu erreichen, wurde beim Durchfahren der Probe mit der Winkelgeschwindigkeit  $\dot{\Theta}$  der Detektor mit der Winkelgeschwindigkeit  $2\dot{\Theta}$  auf dem Messkreis bewegt<sup>15</sup>.  $\Theta$  war dabei der Bragg–Winkel. Bei dieser Winkelgeometrie konnte die Bragg–Bedingung nur von Netzebenen erfüllt werden, die parallel zur Probenoberfläche lagen. Wegen der hohen Einfallswinkel erreicht man mit dem XRD–Verfahren relativ hohe Eindringtiefen und damit verbunden auch höhere Informationstiefe, während andere Anordnungen (z.B. AXRD<sup>16</sup> und XRR<sup>17</sup>) Informationen über oberflächennähere Schichten liefern. Tabelle 3.7 zeigt die optimale Kombination des in Abbildung 3.1

Aperturblende	Streustrahlblende	$K_\beta$ –Filter	Detektorblende
1 mm	1 mm	Ja	0,1 mm

Tabelle 3.7: Blendenkombination beim XRD–Verfahren. Die Werte bezeichnen die Ausdehnung der Blendenspalte parallel zur Messkreisebene. Senkrecht zu dieser haben alle Spalte eine Länge von 12 mm.

<sup>15</sup>Daher stammt auch die Bezeichnung  $\Theta/2\Theta$ –Betrieb für dieses Verfahren.

<sup>16</sup>Asymmetrical **X–Ray–Diffraction**

<sup>17</sup>**X–Ray–Reflection**

dargestellten Blendensystems für das XRD-Verfahren. Der Ni-Filter hat die Aufgabe, die  $\text{CuK}_\beta$ -Strahlung der Röntgenröhre zu unterdrücken, die sonst zu zusätzlichen (und störenden) Reflexen im Röntgendiffraktogramm führen würde.

### 3.2.2 Probenpräparation

Damit die Proben, die gemäß der in Abschnitt 3.1 beschriebenen Methoden hergestellt wurden, mit dem Röntgendiffraktometer untersucht werden konnten, mussten sie zunächst mit einem Mörser zu Pulver verarbeitet werden. Dieses Pulver wurde dann mit Hilfe einer planen Glasscheibe in Kunststoffküvetten gepresst, so dass die Oberfläche der entstandenen Pulvertablette genau in der Messebene des Goniometers positioniert werden konnte. Bei ausgefülltem Küvettenvolumen hatte die entstandene Tablette einen Durchmesser von 25 mm und eine Dicke von etwa 1 mm. Da aber nur ein Teil der Oberfläche (entsprechend der Größe des Brennflecks) bestrahlt wurde, konnten auch kleine Probenmengen von weniger als 100 mg untersucht werden.

War die Oberfläche der durch das Pressen erzeugten Pulvertablette größer als die Fläche des Brennflecks, so war aufgrund der großen Probendicke gewährleistet, dass die Röntgenstrahlung praktisch nur von der Probe absorbiert wurde und nicht bis auf den Probenhalter durchstrahlte. Daher konnten in den meisten Fällen die Diffraktogramme hinsichtlich der integralen Intensitäten und Linienbreiten der Röntgenreflexe quantitativ miteinander verglichen werden (vgl. Klug[52]). In den Fällen, in denen keine ausreichende Probenmenge zur vollen Ausnutzung der Brennflecksfläche zur Verfügung stand, konnte nur eine qualitative Analyse der Probe erfolgen. Im folgenden Kapitel wird bei der Auswertung der betreffenden Proben gesondert auf diesen Umstand hingewiesen.

Die integralen Intensitäten und die Linienprofile der Diffraktogramme wurden mit Hilfe der Fitsoftware von Bruker AXS[95] ausgewertet, die Teil des zum Diffraktometer gehörenden Softwarepakets war.



# Kapitel 4

## Resultate und Diskussion

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse präsentiert, die aus der röntgendiffraktometrischen Phasenanalyse der *in-vitro* hergestellten Kalziumphosphatproben mit und ohne Metallionenzusatz gewonnen werden konnten. Zunächst werden die Resultate der Mineralisation im basischen Milieu besprochen, die auch den weitaus größten Teil der Messungen einnahm. Danach werden diese Ergebnisse in Relation gesetzt zu denen aus den Versuchen im modifizierten, den physiologischen Bedingungen stärker nachempfundenen Milieu in synthetischer Körperflüssigkeit. Am Ende schließen sich einige Ergebnisse an, die aus der Mineralisation von Hydroxylapatit in Anwesenheit von Metallionen und Biomolekülen gewonnen wurden.

### 4.1 Synthese von Hydroxylapatit bei basischem pH-Wert

Die Versuche wurden nach dem in Abschnitt 3.1.1 beschriebenen Verfahren durchgeführt. Dabei wurden sämtliche methodischen Schritte mit größtmöglicher Genauigkeit eingehalten, um die Reproduzierbarkeit der Experimente zu gewährleisten. Zunächst wurden einige Versuche zur Produktion von reinem Hydroxylapatit ohne den Zusatz von Metallsalzen durchgeführt. Dies diente zum einen der Herstellung unkontaminierter Standardproben, zum anderen der genauen Abstimmung der Synthesemethode. Beim behutsamen Hinzufügen der Diammoniumhydrogenphosphatlösung zur Kalziumnitratlösung war unmittelbar die Fällung eines schwer löslichen Niederschlags zu beobachten, in dem sich zu Beginn der Präzipitation ein-

zelne Agglomerate von etwa 1 mm Größe ausmachen ließen. Zahlreiche Vorversuche zeigten, dass diese ersten Kristallkeime äußerst empfindlich reagierten. Heftiges Schütteln des Gemisches in der Startphase der Reaktion konnte dazu führen, dass das Reaktionsprodukt (laut XRD-Messungen) von minderer stöchiometrischer Reinheit war. Vorsichtiges Mischen hingegen erzeugte einen Niederschlag, der auch

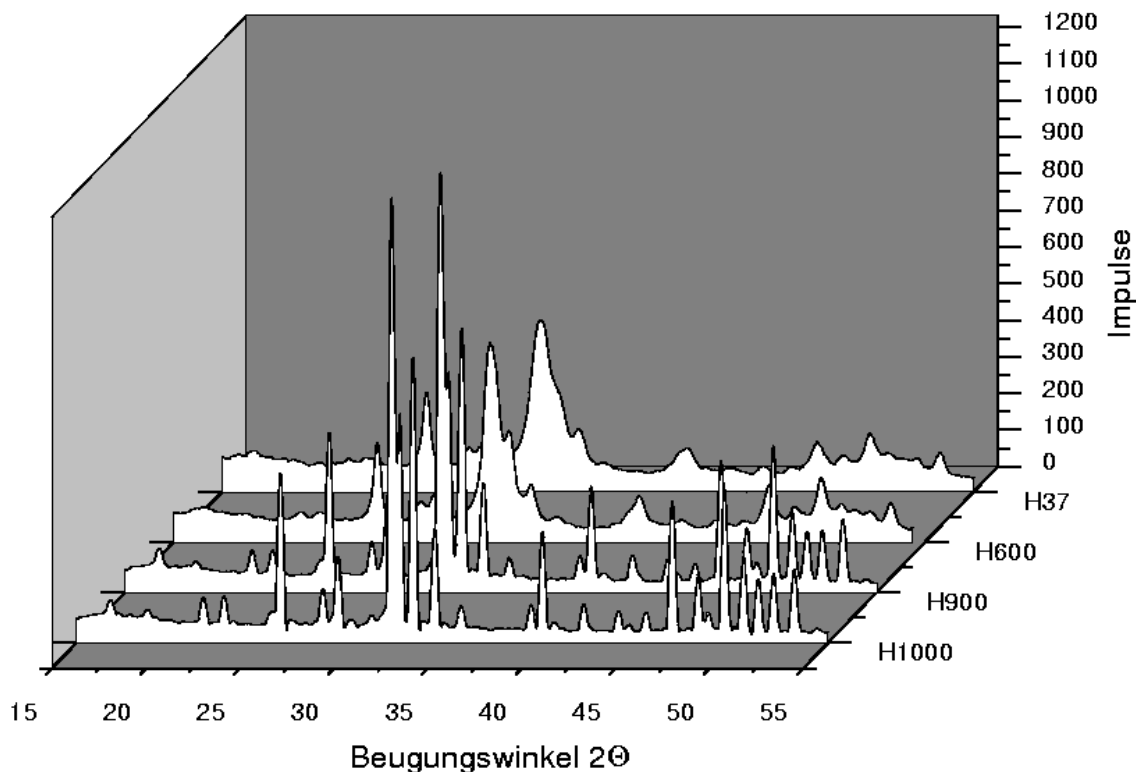


Abbildung 4.1:

Diffraktogramme von Standard-Hydroxylapatit, hergestellt im basischen Modellsystem. Die Probe H37 wurde bei 37 °C im Wärmeschrank getrocknet, die anderen Proben wurden zusätzlich jeweils eine Stunde lang bei 600 °C bzw. 900 °C bzw. 1000 °C geheizt.

nach dem Erhitzen auf nahezu Siedetemperatur in etwa die unteren zwei Drittel des Erlenmeyerkolbens ausfüllte und sich über Nacht nur geringfügig setzte. Stark geschüttelte Proben zeigten dagegen ein rasches Zusammenfallen des Niederschlags schon kurz nach dem Erhitzen.

Abbildung 4.1 zeigt die Ergebnisse der XRD-Messungen einer Pulverprobe, die bei unterschiedlichen Temperaturen geheizt wurde. Die Diffraktogramme zeigen deutlich, wie sehr der Heizvorgang die Kristallitgröße des Materials beeinflusst, die sich

anhand der Linienbreite der einzelnen Reflexe abschätzen lässt. Im Diffraktogramm der ungeheizten Probe, die lediglich bei 37 °C getrocknet wurde, lassen sich die für OHAp typischen primären Peaks zwar prinzipiell bestimmen, jedoch sind benachbarte Reflexe wegen ihrer großen Halbwertsbreite (z.B.  $\Theta/\Delta\Theta \approx 70$  für den Reflex der (2 0 2)-Netzebene) nicht trennbar. Wurde dieselbe Probe eine Stunde lang bei 600 °C geheizt, ergab die XRD-Messung ein Diffraktogramm, in dem sich die Peaks der Netzebenen (2 1 1) und (1 1 2) bereits trennen ließen.

In den Diffraktogrammen der bei 900 °C bzw. 1000 °C geheizten Proben lassen sich die Röntgenreflexe sämtlicher Netzebenen identifizieren, die in der JCPDS-Datei[45] für synthetisches Hydroxylapatit verzeichnet sind. Dass das Erhitzen der Probe auch die Kristallinität erhöht, zeigt sich nicht nur in der Ausprägung einzelner Reflexe, sondern gleichzeitig auch im Rückgang des Untergrundes. Sämtliche Diffraktogramme zeigen im Winkelbereich von  $5^\circ \leq 2\Theta \leq 9^\circ$  einen hohen Wulst, der Beiträge amorpher Anteile der untersuchten Pulver enthält und mit steigender Heiztemperatur abnimmt.

Für die Verbesserung der Kristallinität und Kristallitgröße der Proben (und damit der Auswertbarkeit der dazugehörigen Diffraktogramme) wäre der Heizvorgang bei 900 °C im Grunde ausreichend. Da bei dieser Temperatur allerdings die Dekomposition von nichtstöchiometrischem Hydroxylapatit (vgl. Abschnitt 2.2.1.5) beginnt, war es nötig, sämtliche Proben zusätzlich bei der erhöhten Heiztemperatur von 1000 °C auszuwerten. In einzelnen Fällen (z.B. bei der OHAp-Synthese unter Zusatz von Titan) wurden die Proben schließlich noch bei 950 °C geheizt, da in diesem Temperaturbereich offensichtlich einige wesentliche Phasenumwandlungen stattfanden.

Die Messungen zeigten, dass das Heizen bei 1000 °C bei reinem OHAp, das ohne Zusatz von Metallionen gewonnen wurde, zur Ausbildung zusätzlicher, schwach ausgeprägter Peaks im Diffraktogramm führte. Diese ließen sich nur durch die Anwesenheit eines geringen Anteils von  $\alpha$ -TCP in der kristallinen Phase erklären, welches bei diesen Temperaturen offenbar aus der Kristallisation geringer Mengen amorpher Kalziumphosphats hervorging (vgl. Abschnitt 2.2.3.1). Wurde die Probe bei nur 950 °C geheizt, trat der  $\alpha$ -TCP-Peak nicht auf.

Das völlige Fehlen von  $\beta$ -TCP-Peaks auch bei deutlichem Überschreiten der Schwellentemperatur von 900 °C (vgl. Abschnitt 2.2.1.5) zeigt, dass die apatitische Phase der erzeugten Pulver in hoher stöchiometrischer Reinheit vorlag. Für die Interpretation der unter Metallioneneinfluss durchgeführten Mineralisationsexperimente ist dies ein bedeutsamer Aspekt.

### 4.1.1 Ergebnisse der Phasenanalyse metallhaltiger Proben

Die in Abschnitt 3.1.1 beschriebene OHAp-Synthese wurde unter Zusatz der Metalle Titan, Vanadium, Kobalt, Chrom und Aluminium durchgeführt. Es wurden jeweils zwei Versuchsreihen mit unterschiedlichen Zugabemengen (angegeben in Gewichtsprozent bezogen auf das umgesetzte Kalzium, vgl. Abschnitt 3.1.1.2) angesetzt, die sich nach den in Vorversuchen ermittelten Reaktivitäten der Metallsalze richteten. So wurde z.B. im Falle von Vanadium auf eine Zugabe von mehr als 10 % verzichtet, da bei diesen Mengen keine weitere Veränderung mehr in der Zusammensetzung des Reaktionsproduktes gegenüber geringeren Zugabemengen beobachtet werden konnte.

Die Auswirkungen der zugegebenen Metallsalze auf die Apatitbildung konnten zumindest in qualitativer Hinsicht teilweise schon im Reaktionsgefäß anhand von Farbe und Konsistenz des gebildeten Niederschlags beobachtet werden. Auch die nach dem Filtern getrockneten Niederschläge wiesen in vielen Fällen erhebliche Unterschiede zu den metallfreien Proben auf. Die entsprechenden Beobachtungen werden in den nachfolgenden Abschnitten eingehender behandelt.

Zur quantitativen Auswertung der Experimente wurden zunächst alle durch die XRD-Messungen (siehe Abschnitt 3.2) erhaltenen Röntgendiffraktogramme einer detaillierten Phasenanalyse unterzogen. Mit Hilfe der zur Diffraktometersoftware gehörenden JCPDS-Datei[45] wurden die Peaks in den Diffraktogrammen den entsprechenden kristallinen Phasen zugeordnet.

Die quantitative Auswertung von Diffraktogrammen pulverförmiger Proben ist durch die Tatsache erschwert, dass die Eigenschaften eines Pulvers hinsichtlich der Absorption von Röntgenstrahlen sich nicht beliebig normieren lassen. In den meisten Fällen gelang es allerdings, Pulvertabletten zu pressen, die hinsichtlich ihrer Dichte und bestrahlten Oberfläche weitgehend identisch waren, so dass die zugehörigen Diffraktogramme miteinander verglichen werden konnten<sup>1</sup>. Bei kleineren Probemengen ließ sich nicht immer die volle Fläche des Brennflecks der Röntgenstrahlung ausnutzen, so dass die Gesamtintensität der Diffraktogramme abnahm.

Um dennoch zu Messwerten zu gelangen, die zueinander in Relation gesetzt werden konnten, wurden jeweils die integralen Intensitäten der stärksten Peaks der in den Proben detektierten Phasen bestimmt und deren Quotienten als Maß für den jeweiligen Anteil einer bestimmten Phase an der untersuchten Probe angenommen. Auf diese Weise konnten Gesetzmäßigkeiten im Einfluss verschiedener Metallkonzentrationen auf die Zusammensetzung des Syntheseprodukts ermittelt werden.

Zur Übersicht sind in Tabelle 4.1 alle Probenserien, die für diese Arbeit ausgewertet

---

<sup>1</sup>Alle Proben wurden mit denselben Messparametern (Messzeit, Winkelschrittweite, Röhrenleistung) spektroskopiert. Zudem wurden die ermittelten Intensitäten von der Diffraktometersoftware automatisch auf festgelegte Parameter normiert.

wurden, aufgeführt. Als Bezeichnung für einzelne Proben wurde die Schreibweise [Seriennummer]\_[Metall][Zugabemenge in %] eingeführt (z.B. H14\_V3,5).

Den folgenden fünf Abschnitten wird jeweils ein Diagramm mit den wichtigsten

Serie	System	Metall	zugesezte Mengen (in %)
H6	basisch	Al	0,1/0,2/0,3/0,4/0,5/0,6/0,8/1/2/4
H7	basisch	Cr	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/5/8/10/20
H8	basisch	Co	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/5/8/10/20
H9	basisch	Ti	1/2/3/4/5/6/8/10/20
H9a	basisch	Ti	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/4,5/7/9/15
H10	basisch	V	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/4,5/5/6/10
H11	basisch	Al	0,1/0,2/0,3/0,4/0,5/0,6/0,7/0,8/1/1,2/1,6/2
H12	basisch	Cr	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/5/8/10/20
H13	basisch	Co	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/5/8/10/20
H14	basisch	V	0,5/1/1,5/2/2,5/3/3,5/4/4,5/5/6/10
H16	SBF	Ti	1/2/3/4/5/7/10
H17	SBF	Ti	0,5/1,5/2,5/3,5/4,5/6/15
H20	SBF/Albumin	Ti	1/5/20
		Co	1/5/20
H21	SBF/GPGG	V	1 (mit und ohne GPGG)
H22	SBF/Albumin	V	1/5/20
H23	SBF	Ti	1/3/10
		Co	1/3/10
		V	1/3/10
H24	basisch	Al	3/5/10/15/20/30
H25	SBF/GGG	Ti, Co, V	jeweils 3 (+ eine metallfreie Probe)
H30	basisch	Ti	11/12/13/14/15/16/17/18/19

Tabelle 4.1: Auflistung der Probenserien, sortiert nach der Reihenfolge ihrer Produktion. Die Unterschiede zwischen dem basischen System und dem physiologischen (SBF) werden in den entsprechenden Abschnitten erläutert. GGG = Gly-Gly-Gly, GPGG = Gly-Pro-Gly-Gly (siehe Abschnitt 4.2.2.2).

Diffraktogrammen der jeweiligen Probenserie vorangestellt (Abbildungen 4.2, 4.10, 4.15, 4.20, 4.25). Alle in diesen Diagrammen aufgeführten Pulverproben wurden jeweils 1 h bei 1000 °C geheizt.

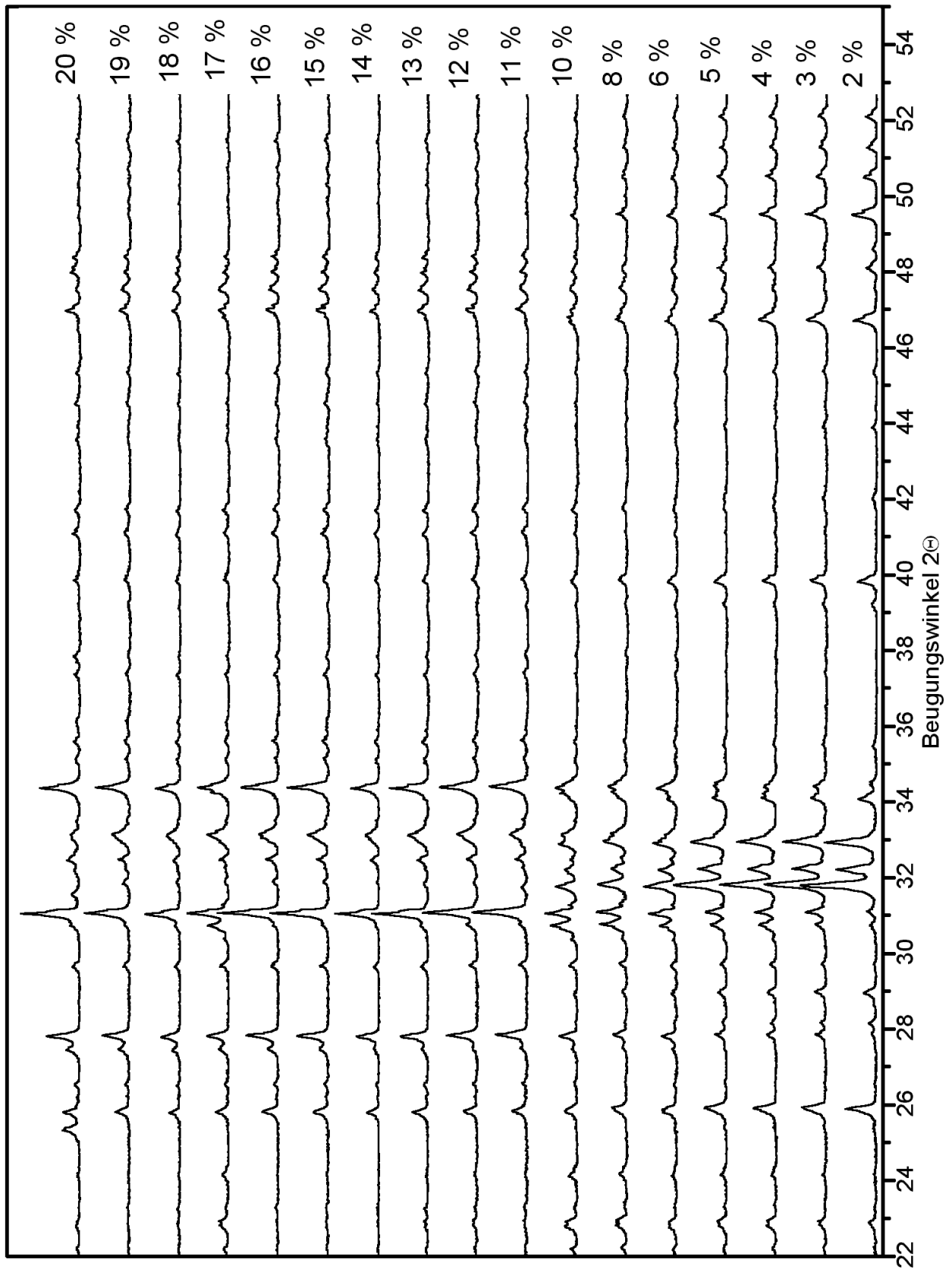


Abbildung 4.2:

Diffraktogramme der mit unterschiedlichen Titanzusätzen hergestellten OHAp-Proben. Die Pulver wurden jeweils eine Stunde lang bei 1000 °C geheizt.

#### 4.1.1.1 Titan

Titan war in allen Versuchsreihen das wichtigste Metall, da es bei der Produktion metallischer Hüftendoprothesen vorwiegend benutzt wird, sei es als Reinmaterial oder als Hauptanteil einer Legierung. Erste Resultate aus Vorversuchen wurden bereits an anderer Stelle publiziert (Sukhodub[83][99]). Der Einfluss auf die Synthese von Hydroxylapatit erwies sich als außerordentlich komplex.

Das im Versuch benutzte Titan(III)chlorid lag in einer 3 %-igen HCl-Lösung vor, deren pH-Wert im sauren Bereich (weit unter 1) lag<sup>2</sup>. Da bei der OHAp-Synthese stets 20 ml 25 %-iger Ammoniak zugegeben wurden, blieb der pH-Wert des Reaktionsgemisches auch bei der höchsten Zugabemenge der sauren TiCl<sub>3</sub>-Lösung (3,28 ml bzw. 20 %) im stark basischen Bereich, so dass zersetzende Effekte der Säure ausgeschlossen werden konnten.

Wenn die dunkelviolette TiCl<sub>3</sub>-Lösung der Kalziumnitratlösung zugesetzt wurde, begann die Farbe schnell zu verblassen (wahrscheinlich durch Oxidation von Ti(III) zu Ti(IV)). Um festzustellen, ob Titanionen aus der Lösung in die Reaktion mit-

Nr.	Beschreibung	Färbung
1	300 ml Wasser + 1,5 ml TiCl <sub>3</sub> -Lsg.	Ja
2	300 ml Wasser + 1,5 ml TiCl <sub>3</sub> -Lsg + 5,9 g Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O	Ja
3	basische OHAp-Synthese + 1,5 ml TiCl <sub>3</sub> -Lsg., ohne Ammoniak, ohne Erhitzen	Nein
4	basische OHAp-Synthese + 1,5 ml TiCl <sub>3</sub> -Lsg., mit 20 ml Ammoniak, mit Erhitzen	Nein

Tabelle 4.2: Titannachweis in vier verschiedenen Lösungen mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Probe 1 diente als Standard.

einbezogen wurden, wurde eine einfache Nachweisreaktion durch Zugabe von je 20 Tropfen Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und 1N Schwefelsäure zu 25 ml der Probelösung durchgeführt. Ti(IV) bildet in schwefelsaurer Lösung bei Zusatz von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> einen gelben Komplex [TiO<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]<sup>2-</sup> (Bendig[11]). Dieser Nachweis ist zwar nicht sehr empfindlich, war aber für die hier benutzten Ti-Konzentrationen völlig ausreichend. Es wurden vier Probelösungen hergestellt, die alle die gleiche Titankonzentration (1,5 ml TiCl<sub>3</sub>-Lösung in 300 ml Wasser) enthielten. Tabelle 4.2 zeigt die Zusammensetzung der Gemische und die Ergebnisse des Titannachweises. Lösung 1 und 2

<sup>2</sup>Gab man 3,2 ml TiCl<sub>3</sub>-Lösung in 300 ml Wasser, was einer Zugabe von 10 % zur OHAp-Syntheseraktion entsprach, so hatte die Lösung einen pH-Wert von etwa 2,1.

zeigten eine vergleichbare Farbintensität nach Zugabe der Indikatoren, also lag Ti auch in Anwesenheit von gelöstem Kalziumnitrat als freies Ion vor. Probe 4 wurde erhalten, in dem die Reaktion von  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  und  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  in der oben beschriebenen Weise und unter Zugabe von 1,5 ml  $\text{TiCl}_3$ -Lösung durchgeführt wurde. Bei Probe 3 wurde lediglich auf die Zugabe von Ammoniak und nachfolgendes Erhitzen verzichtet. Die Nachweisreaktion wurde mit den Filtraten von Probe 3 und 4 durchgeführt und ergab in beiden Fällen keine sichtbare Färbung. Offensichtlich wurden unabhängig von der Ammoniakzugabe nahezu alle Ti-Ionen vom unlöslichen Reaktionsprodukt aufgenommen.

Abbildung 4.3 zeigt einige Diffraktogramme von Apatiten, die mit verschiedenen

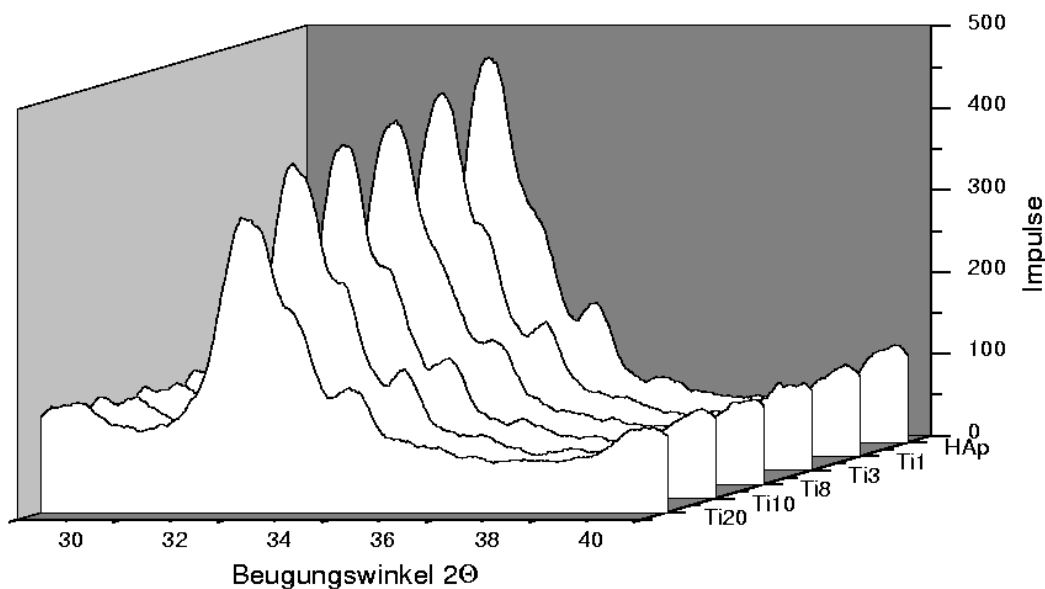


Abbildung 4.3: Diffraktogramme von im basischen Modellsystem erzeugten OHAp-Proben mit unterschiedlichen Ti-Beimischungen (Ausschnitt). Die Proben wurden nach dem Trocknen bei 37 °C im Wärmeschrank nicht mehr zusätzlich geheizt.

Beimengungen von  $\text{TiCl}_3$ -Lösung hergestellt wurden. Der in dem Ausschnitt zu sehende Bereich enthält in erster Linie die Überlagerung der Reflexe zu den Netzebenen (2 1 1), (1 1 2), (3 0 0) und (2 0 2) (vgl. Diffraktogramm in Abb. 2.11). Da diese Proben lediglich bei 37 °C getrocknet und danach nicht geheizt wurden, zeigten die Diffraktogramme die für Proben mit geringer Kristallitgröße typische große Peakbreite. Trotzdem zeigte ein Vergleich der Diffraktogramme bereits Unterschiede in Abhängigkeit von der zugesetzten Titanmenge. Mit steigendem Titananteil nahm die Intensität im Bereich  $32^\circ \leq 2\theta \leq 38^\circ$  deutlich ab. Gleichzeitig nahm die Intensität des bereits oben erwähnten Wulstes im Winkelbereich  $5^\circ \leq 2\theta \leq \sim 9^\circ$  zu,



was auf eine Vergrößerung des amorphen Anteils in den Pulverproben hindeutete. Zur eingehenderen Phasenanalyse wurden die Proben bei höheren Temperaturen geheizt, um die Kristallinität der Pulver sowie die Trennbarkeit der Peaks zu erhöhen. Es zeigte sich, dass einstündiges Heizen bei 600 °C nur zu einer geringfügigen Verringerung der Peakbreite führte. Immerhin zeigte sich auch hier eine Verringerung der Intensität der Hauptpeaks in Abhängigkeit vom Titananteil wie bei den ungeheizten Proben. Außerdem zeigte sich, dass die Unterschiede zwischen den integralen Inten-

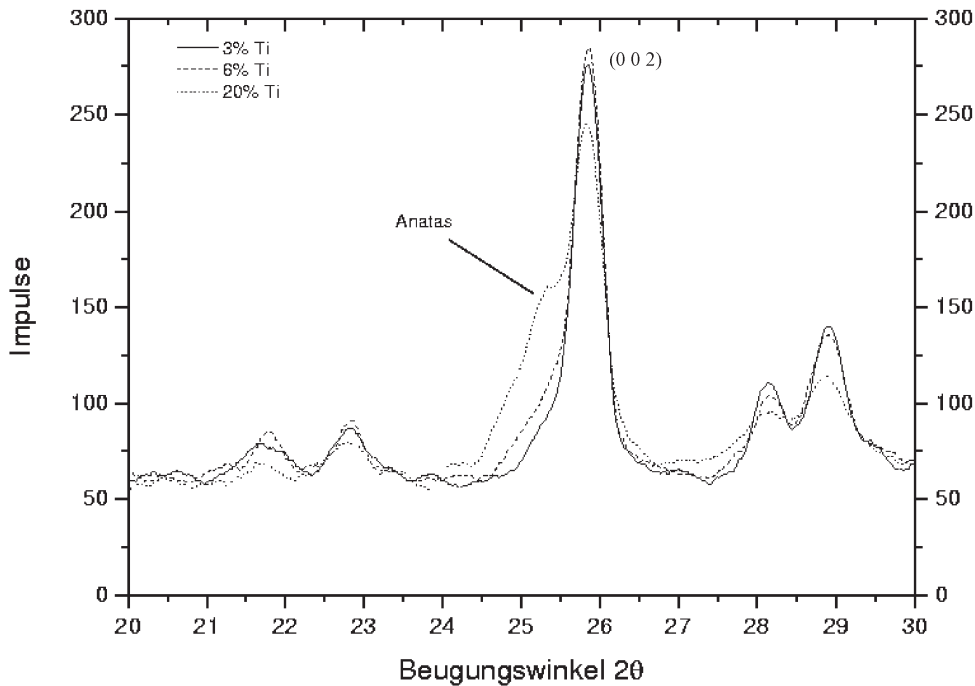


Abbildung 4.4: Ausschnitt aus den Diffraktogrammen der Proben H9\_Ti3, H9\_Ti6 und H9\_Ti20. Die Proben wurden 60 Stunden lang bei 600 °C geheizt.

sitäten im Wulstbereich für die verschiedenen Titananteile geringer ausfiel als bei den ungeheizten Proben. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass die amorphen Anteile in den ungeheizten Proben durch den Heizvorgang in die kristalline Phase überführt wurden.

Die Proben mit höherem Titananteil wiesen in der Nähe des (0 0 2)-Reflexes (vgl. Abb. 2.11) nach dem Heizen bei 600 °C eine lokale Intensitätserhöhung auf, die auf die Bildung einer zusätzlichen Phase hinwies. Durch einen längeren Heizvorgang, bei dem drei ausgewählte Proben der Serie H9 für 60 Stunden bei 600 °C geheizt wurden, wurden die integralen Intensitäten der Peaks erhöht, wodurch die zusätzliche Phase deutlicher sichtbar wurde. Offensichtlich wurde die Kristallitgröße der Pulver durch das Heizen nicht signifikant erhöht, da die Peakbreiten nicht merklich abnahmen.

Abbildung 4.4 zeigt die Umgebung des (0 0 2)–Reflexes von Hydroxylapatit mit dem stark hervortretenden zusätzlichen Peak bei  $2\Theta \approx 25,3^\circ$ . Die Peakbestimmung mit Hilfe der JCPDS–Datei[45] zeigte eine gute Übereinstimmung mit der Position des Hauptpeaks ((1 0 1)–Netzebene) von Anatas, einer farblosen kristallographischen Modifikation von Titandioxid ( $\text{TiO}_2$ ) (Meyer[68]).

Der längere Heizvorgang lieferte zudem den Nachweis, dass sich offenbar in den

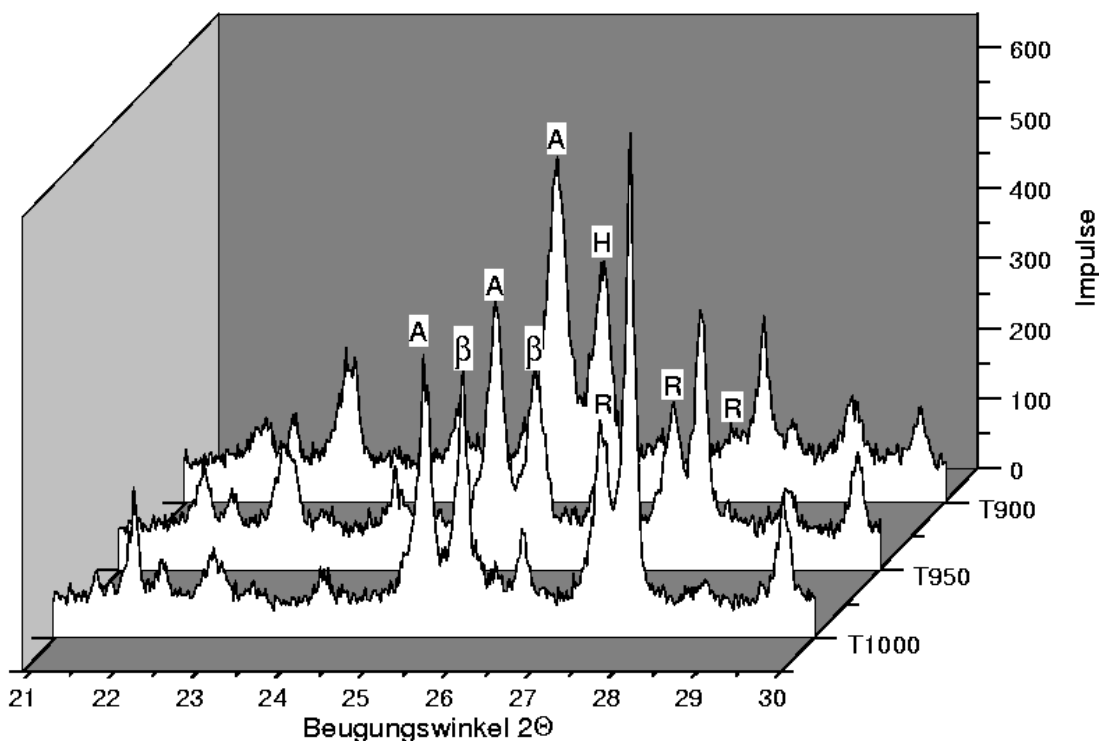


Abbildung 4.5: Diffraktogramme der Probe H9\_Ti20 mit 20 % Ti, geheizt bei 900 °C, 950 °C und 1000 °C. Die Hauptpeaks der wichtigsten Phasen sind markiert: **H**: Hydroxylapatit,  $\beta$ :  $\beta$ -TCP, **A**: Anatas, **R**: Rutil.

Pulverproben keine nennenswerten Anteile an Apatit mit protonierten Phosphatgruppen befanden. Anderenfalls hätte sich durch das Heizen Kalziumpyrophosphat bilden müssen (vgl. Gleichung 2.4 in Abschnitt 2.2.1.3), welches sich aber nicht in den Diffraktogrammen zeigte. Es ist anzunehmen, dass die Bildung von  $\text{HPO}_4^{2-}$  durch das stark basische Milieu des Reaktionsgemisches unterbunden wurde.

Neben Anatas konnte noch eine weitere Modifikation von  $\text{TiO}_2$  nachgewiesen werden, nämlich das thermisch stabilere Rutil, welches sich durch starkes Erhitzen von Anatas herstellen lässt. Ein Vergleich der Diffraktogramme der bei drei unterschiedlichen Temperaturen geheizten Probe H9\_Ti20 mit hohem Titangehalt zeigte deutlich, wie bei Erhöhung der Heiztemperatur der Anteil an Anatas abnahm, während

der Anteil an Rutil erhöht wurde (siehe Abbildung 4.5).

Ab einer Heiztemperatur von 950 °C tauchte eine weitere Phase auf, die nur durch zwei Peaks gekennzeichnet war, von denen sich einer zudem noch mit dem (3 0 0)–Peak von OHAp überlagerte. Diese Phase konnte als Perowskit identifiziert werden, ein Kalziumtitanoxid mit der Summenformel  $\text{CaTiO}_3$  und monoklin-pseudokubischer Kristallstruktur[68]. Der in den Diffraktogrammen mit OHAp überlagerte Peak von Perowskit gehörte zur (1 1 2)–Netzebene des Minerals, während der zweite Peak sich aus den beiden eng benachbarten Reflexen der (2 2 0)– und der

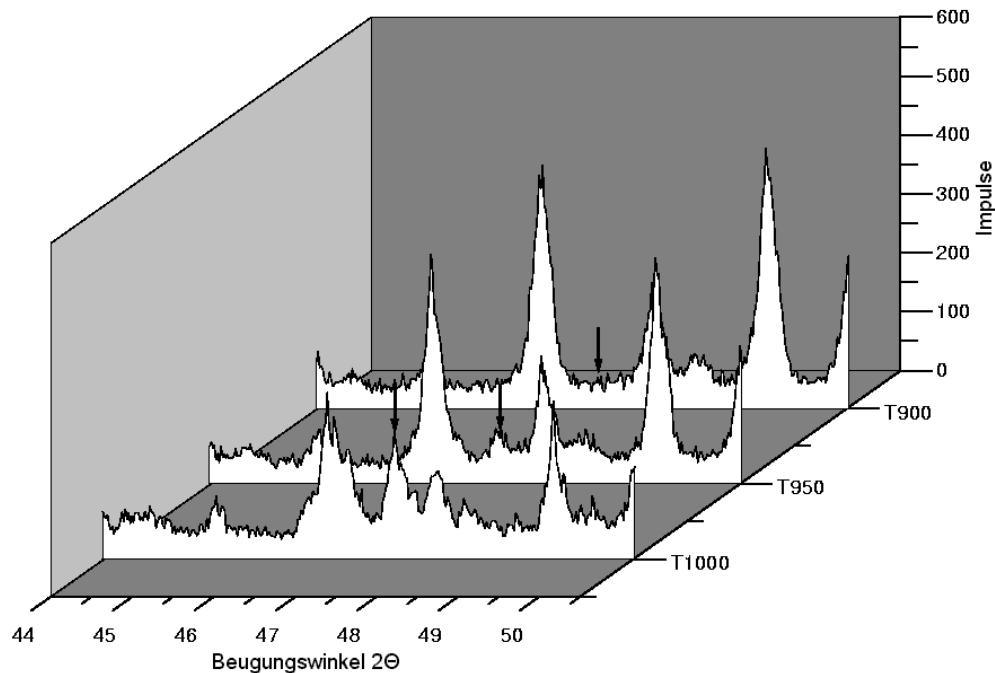


Abbildung 4.6: Ausprägung der Perowskit–Phase in Probe H9\_Ti8 in Abhängigkeit von der Heiztemperatur. Die Pfeile markieren jeweils die beiden überlappenden Peaks der (2 0 0)– und (0 0 4)–Reflexe von Perowskit.

(0 0 4)–Ebene zusammensetzte. Abbildung 4.6 zeigt anhand der Probe H9\_Ti8, wie sich die integrale Intensität der überlappenden Perowskitpeaks durch Steigerung der Heiztemperatur erhöhte.

Laut Literatur bildet sich  $\text{CaTiO}_3$  durch das Erhitzen äquimolarer Mengen  $\text{CaO}$  und  $\text{TiO}_2$ [68].  $\text{TiO}_2$  lag nachweislich in Form von Anatas bzw. Rutil in den Proben vor,  $\text{CaO}$  konnte jedoch in keiner Probe detektiert werden. Es ist durchaus denkbar, dass sich während des Heizvorgangs durch die Reaktion oberflächennaher Ca–Atome mit dem Luftsauerstoff  $\text{CaO}$  gebildet hat, welches dann mit  $\text{TiO}_2$  weiter zu Perowskit

reagierte.

Wie in den Diffraktogrammen in Anhang C.1 zu sehen ist, enthielten die geheizten Proben neben den Titanoxiden noch beträchtliche Anteile an Trikalziumphosphat, das in den bei 900 °C geheizten Proben vornehmlich als  $\alpha$ -TCP vorlag. Bei höheren Temperaturen trat dann zusätzlich  $\beta$ -TCP auf.

Um die unterschiedlichen Anteile der einzelnen Phasen in Bezug zu den jeweils zugegebenen Mengen an Titanchlorid zu bringen, wurden als quantitative Messgrößen drei Intensitätsquotienten eingeführt, die wie folgt definiert wurden:

$$Q_{ah} = \frac{I_{\alpha-TCP,(0\ 3\ 4)}}{I_{OHAp,(2\ 1\ 1)}}, \quad Q_{bh} = \frac{I_{\beta-TCP,(0\ 2\ 10)}}{I_{OHAp,(2\ 1\ 1)}}, \quad Q_{ph} = \frac{I_{Perowskit,(2\ 0\ 0)/(0\ 0\ 4)}}{I_{OHAp,(2\ 1\ 1)}} \quad (4.1)$$

Dabei sind  $I_{\alpha-TCP,(0\ 3\ 4)}$ ,  $I_{\beta-TCP,(0\ 2\ 10)}$  und  $I_{OHAp,(2\ 1\ 1)}$  die integralen Intensitäten, die sich aus der Analyse der jeweils stärksten Reflexe der in den Diffraktogrammen vorkommenden Phasen ergaben. Im Falle von Perowskit wurde nicht der stärkste

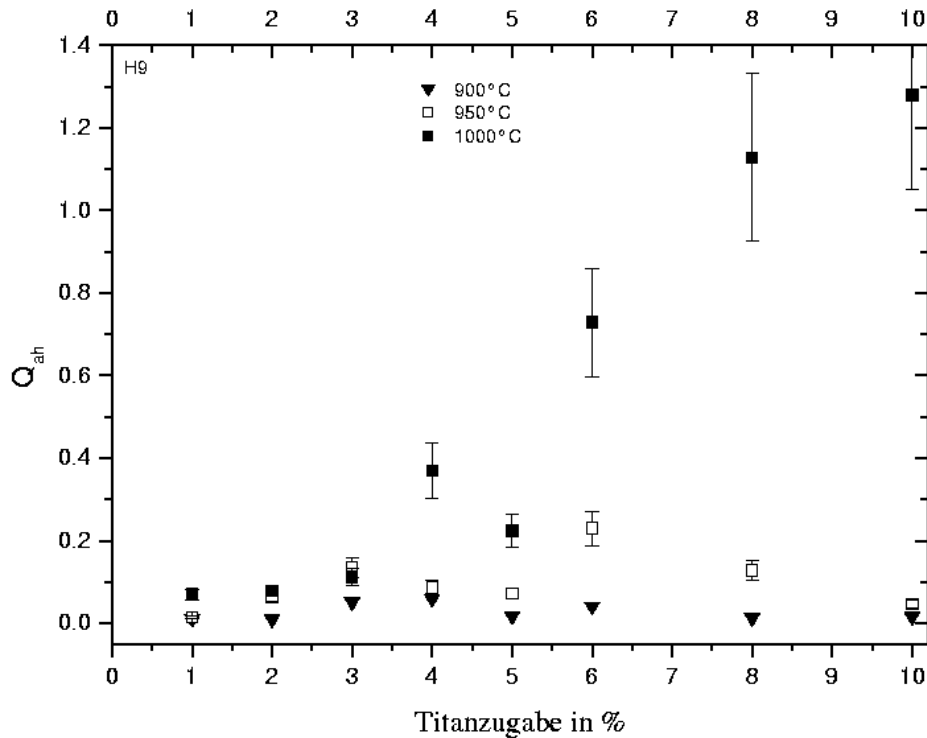


Abbildung 4.7:

$Q_{ah}$ -Werte der  $\alpha$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H9 bei 900 °C, 950 °C und 1000 °C.

Peak ausgewählt, sondern die Überlappung des (2 0 0)- und des (0 0 4)-Reflexes, da diese beiden Peaks sich nicht mit den zu OHAp gehörenden Reflexen überlagerten.

Der bei der Bestimmung der integralen Intensitäten mittels Linienprofilapproximation entstehende relative Fehler lag in der Größenordnung von etwa 9 %, für die daraus errechneten Intensitätsquotienten wurde daher der Größtfehler von 18 % angenommen.

Abbildung 4.7 zeigt die Entwicklung der  $Q_{ah}$ -Werte für die Proben der Versuchs-

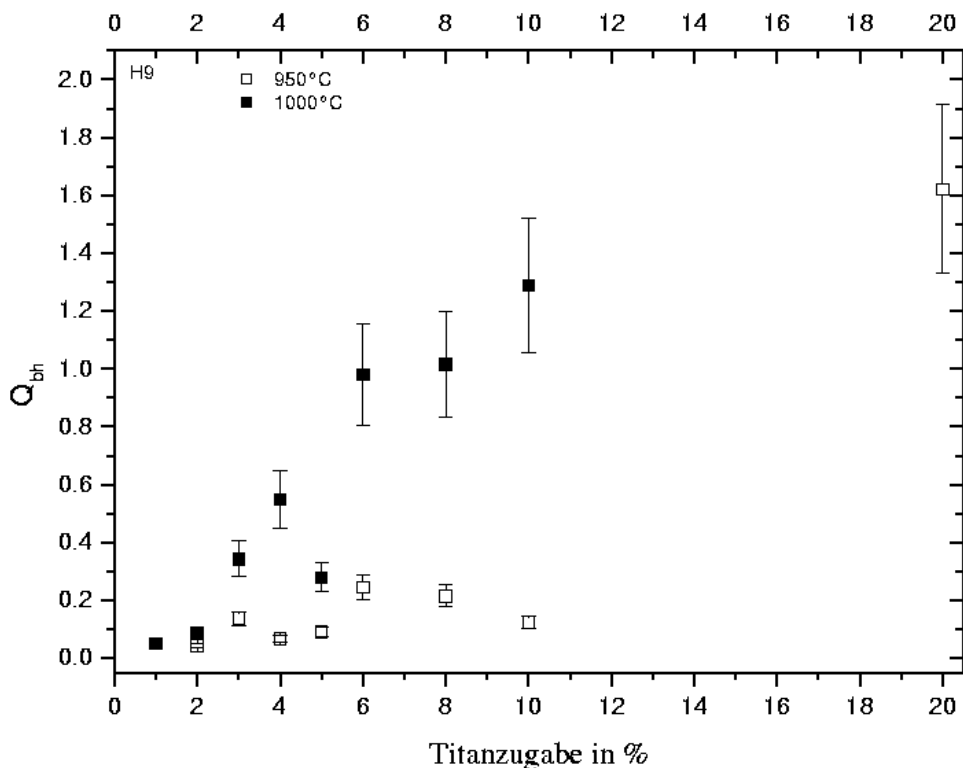


Abbildung 4.8:

$Q_{bh}$ -Werte der  $\beta$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H9 bei 950 °C und 1000 °C. Für den Titananteil von 20 % konnte für 1000 °C kein  $Q_{bh}$ -Wert mehr angegeben werden, da praktisch kein OHAp mehr im Diffraktogramm auszumachen war.

reihe H9 bei verschiedenen Heiztemperaturen. In den Proben, die bei nur 900 °C geheizt wurden, blieb der Anteil an  $\alpha$ -TCP in Abhängigkeit vom Titananteil weitgehend konstant. Lediglich bei der höchsten Zugabemenge von 20 % nahm die Intensität des entsprechenden Peaks stark zu (im Diagramm aus Gründen der Übersicht nicht gezeigt, siehe Abb. C.9 in Anhang C.1). Die bei 950 °C geheizten Proben zeigten teilweise eine Erhöhung von  $Q_{ah}$ , während das Heizen bei 1000 °C offensichtlich einen drastischen Einfluss auf die Ausprägung der  $\alpha$ -TCP-Phase hatte. Die  $Q_{ah}$ -Werte für Heizen bei 1000 °C zeigten im Bereich der Titananteile von 3 % bis 10 % eine nahezu lineare Abhängigkeit von der zugegebenen Titanmenge.

Im Diffraktogramm der Probe H9\_Ti20 war die Intensität des (0 3 4)-Peaks von  $\alpha$ -TCP so gering, dass sie nicht mehr ausgewertet werden konnte (siehe Abb. C.9).  $\beta$ -TCP trat in den bei 900 °C geheizten Proben nur vereinzelt auf (siehe Diffraktogramme in Anhang C.1). Eine Bestimmung der  $Q_{bh}$ -Werte erschien daher nur für die Heiztemperaturen 950 °C und 1000 °C sinnvoll. Das Diagramm in Abb. 4.8 zeigt, dass die Entwicklung der  $Q_{bh}$ -Werte einem ähnlichen Trend in Abhängigkeit von der zugegebenen Titanmenge folgte wie die der  $Q_{ah}$ -Werte. Allerdings wurde  $\beta$ -TCP im Gegensatz zu  $\alpha$ -TCP bei der höchsten Titanzugabe zur dominierenden und stabilen Phase.

Abbildung 4.9 zeigt den Anstieg des Perowskitanteils mit zunehmender Titanzu-

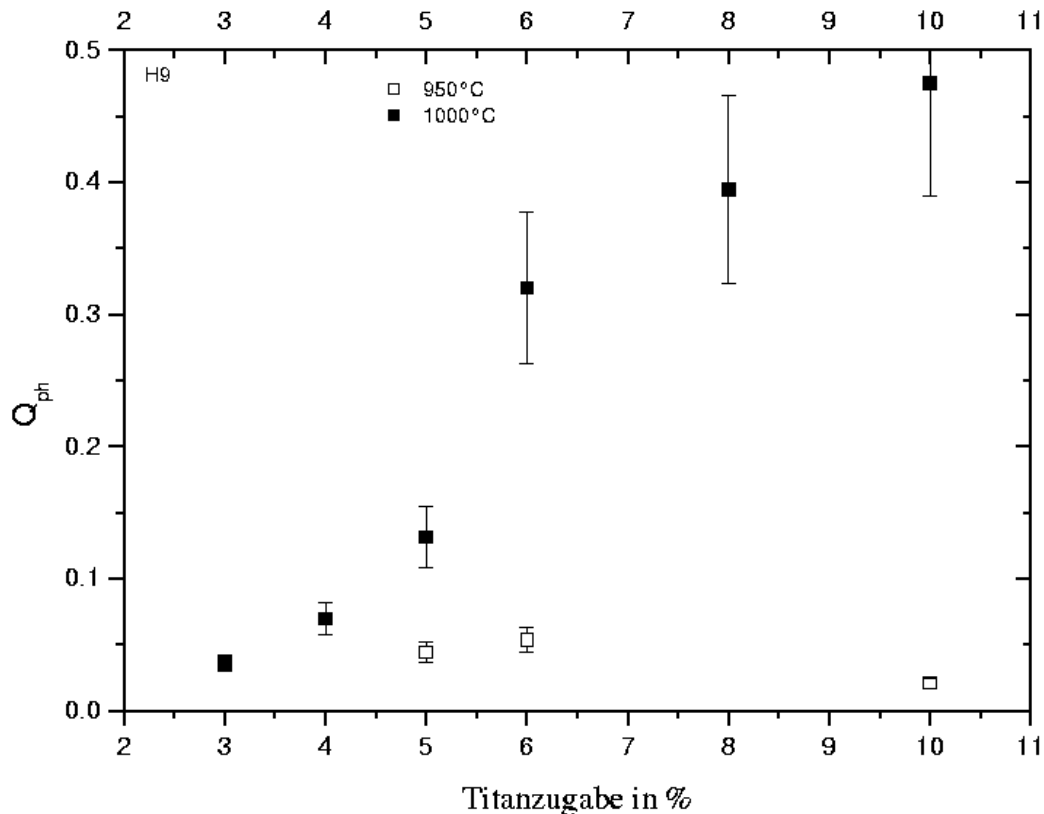


Abbildung 4.9:

$Q_{ph}$ -Werte der Perowskit-Phase (Gl. 4.1) für Titan im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H9 bei 950 °C und 1000 °C. Der Wert für die Probe mit 20 % Titanzugabe fehlt, da in dieser Probe bei 1000 °C kein OHAp mehr detektierbar war.

gabe in den bei 1000 °C geheizten Proben. Bei 950 °C tauchten nur vereinzelte Perowskitpeaks mit geringer Intensität in den Diffraktogrammen auf, und es war

keine Korrelation mit der Titanzugabe erkennbar.

Insgesamt wurden also folgende kristalline Phasen in den bei verschiedenen Temperaturen geheizten und röntgenographisch untersuchten Pulverproben identifiziert:

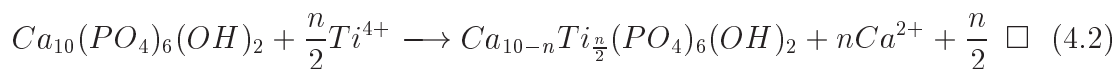
- stöchiometrisches Hydroxylapatit
- $\alpha$ -Trikalziumphosphat
- $\beta$ -Trikalziumphosphat
- Anatas ( $\text{TiO}_2$ )
- Rutil ( $\text{TiO}_2$ )
- Perowskit ( $\text{CaTiO}_3$ )

Eine exakte Interpretation der Resultate wird durch den Umstand erschwert, dass das Auftreten der beiden Trikalziumphosphatphasen auf unterschiedliche Ursachen zurückgeführt werden kann. Wie bereits anhand der Betrachtung der Diffraktogramme der ungeheizten Proben festgestellt wurde, verminderten hohe Titananteile die Kristallinität der Apatite. Unter der Annahme, dass die amorphen Anteile der Pulver aus amorphem Kalziumphosphat (ACP) bestanden, lässt sich die Anwesenheit von  $\alpha$ -TCP in den Proben durch die thermische Kristallisation von ACP erklären (vgl. Abschnitt 2.2.3.1). Die Ausprägung dieser Phase sollte mit steigender Heiztemperatur zunehmen, was durch die ansteigenden Peaks in den Diffraktogrammen (Anhänge C.1 und C.2) bzw. durch die steigenden  $Q_{ah}$ -Werte (Abb. 4.7) deutlich bestätigt wird.

$\beta$ -TCP kann sowohl durch Kristallisation von ACP als auch durch thermische Dekomposition von nichtstöchiometrischem Hydroxylapatit gemäß Gleichung 2.6 (vgl. Abschnitt 2.2.1.4) gebildet werden. Dieser Prozess tritt erst ab einer Temperatur von etwa 900 °C auf (Elliott[32]), was erklärt, warum in den bei 900 °C geheizten Proben nur vereinzelte Reflexe von  $\beta$ -TCP zu beobachten waren, während der Anteil der Phase bei höheren Heiztemperaturen deutlich zunahm (siehe Abb. 4.8).

Unter diesen Gesichtspunkten legen die Versuchsbeobachtungen den Schluss nahe, dass Titanionen in der Lage sind, die Transformation von ACP zu OHAp zu behindern (vgl. Abschnitt 2.2.4.2). Der starke Anstieg des Anteils von  $\beta$ -TCP mit steigenden Titanzusätzen weist außerdem auf eine Senkung des Ca/P-Verhältnisses unter dem Einfluss der Titanionen hin. Eine solche Änderung der Stöchiometrie der Apatitphase kann verschiedene Ursachen haben (vgl. Abschnitt 2.2.1.3), von denen die Substitution von Gitteratomen durch Fremdatome als die wahrscheinlichste angesehen wird[32]. Geht man davon aus, dass während oder nach der Transformation

von amorphem Kalziumphosphat zu Hydroxylapatit Ti-Ionen in das Apatitgitter eingebaut wurden, so könnte dies gemäß folgender Reaktion geschehen sein:



Darin steht  $\square$  für eine Leerstelle im Apatitgitter. Diese Leerstellen entstehen dadurch, dass jedes inkorporierte  $Ti^{4+}$ -Ion aufgrund seiner höheren Ladung notwendigerweise ein  $Ca^{2+}$  verdrängt, was wiederum eine weitere Herabsetzung des Ca/P-Verhältnisses bewirkt. Geht man von der Richtigkeit der in Gleichung 4.2 beschriebenen Reaktion aus, so erscheint die Annahme plausibel, dass die aus der Apatitstruktur verdrängten  $Ca^{2+}$ -Ionen sich an der großen Oberfläche der Kristallite anreichern. Wenn durch die Probenbehandlung nur ein Teil dieser Oberflächenionen herausgewaschen wurde, stünden die nach dem Trocknen auf der Oberfläche verbliebenen Atome zu weiteren Reaktionen zur Verfügung. Bei der durch das Heizen induzierten Dekomposition des nichtstöchiometrischen Apatits (BCaP) würden die inkorporierten  $Ti^{4+}$ -Ionen wieder freigesetzt und könnten mit dem Luftsauerstoff sowie den zuvor verdrängten  $Ca^{2+}$ -Ionen reagieren. Dieses Modell steht sowohl mit der bei hohen Temperaturen stark ausgeprägten  $\beta$ -TCP-Phase in Einklang, als auch mit der Anwesenheit der titanhaltigen Phasen Anatas, Rutil und Perowskit. Theoretisch wäre auch denkbar, dass die  $Ti^{4+}$ -Ionen teilweise in die Struktur des bei der thermischen Dekomposition entstandenen  $\beta$ -TCP inkorporiert wurden (vgl. dazu die Resultate der in den folgenden Abschnitten besprochenen Experimente). Tatsächlich zeigten die in den Diffraktogrammen auftretenden Linienlagen der  $\beta$ -TCP-Phase teilweise geringe Abweichungen von den theoretischen Peakpositionen der in der JCPDS-Datei verzeichneten Whitlockitstruktur<sup>3</sup>, die durch die Substitution einiger  $Ca^{2+}$ -Ionen (Ionenradius  $\approx 1 \text{ \AA}$ ) durch die kleineren  $Ti^{4+}$ -Ionen (Ionenradius  $\approx 0,61 \text{ \AA}$ [108]) erklärbar wäre. Die Linien der OHAp-Struktur zeigten hingegen keinerlei sichtbare Verschiebung, so dass davon ausgegangen werden kann, dass nach dem Heizen in der apatitischen Phase nur noch stöchiometrisches OHAp vorlag.

Die Bildung von  $\alpha$ -TCP in den geheizten Proben lässt sich nur durch die thermische Umwandlung von amorphem Kalziumphosphat erklären (vgl. Abschnitt 4.1). Dessen Anteil am Reaktionsprodukt nahm — wie schon weiter oben anhand der geringen Kristallinität der ungeheizten Pulverproben festgestellt — offensichtlich mit steigendem Titanzusatz deutlich zu.

In Abschnitt 4.1.2 werden einige Punkte noch einmal im Vergleich mit den in den folgenden Abschnitten dokumentierten Ergebnissen diskutiert.

---

<sup>3</sup>PDF-Nummer: 9-0169



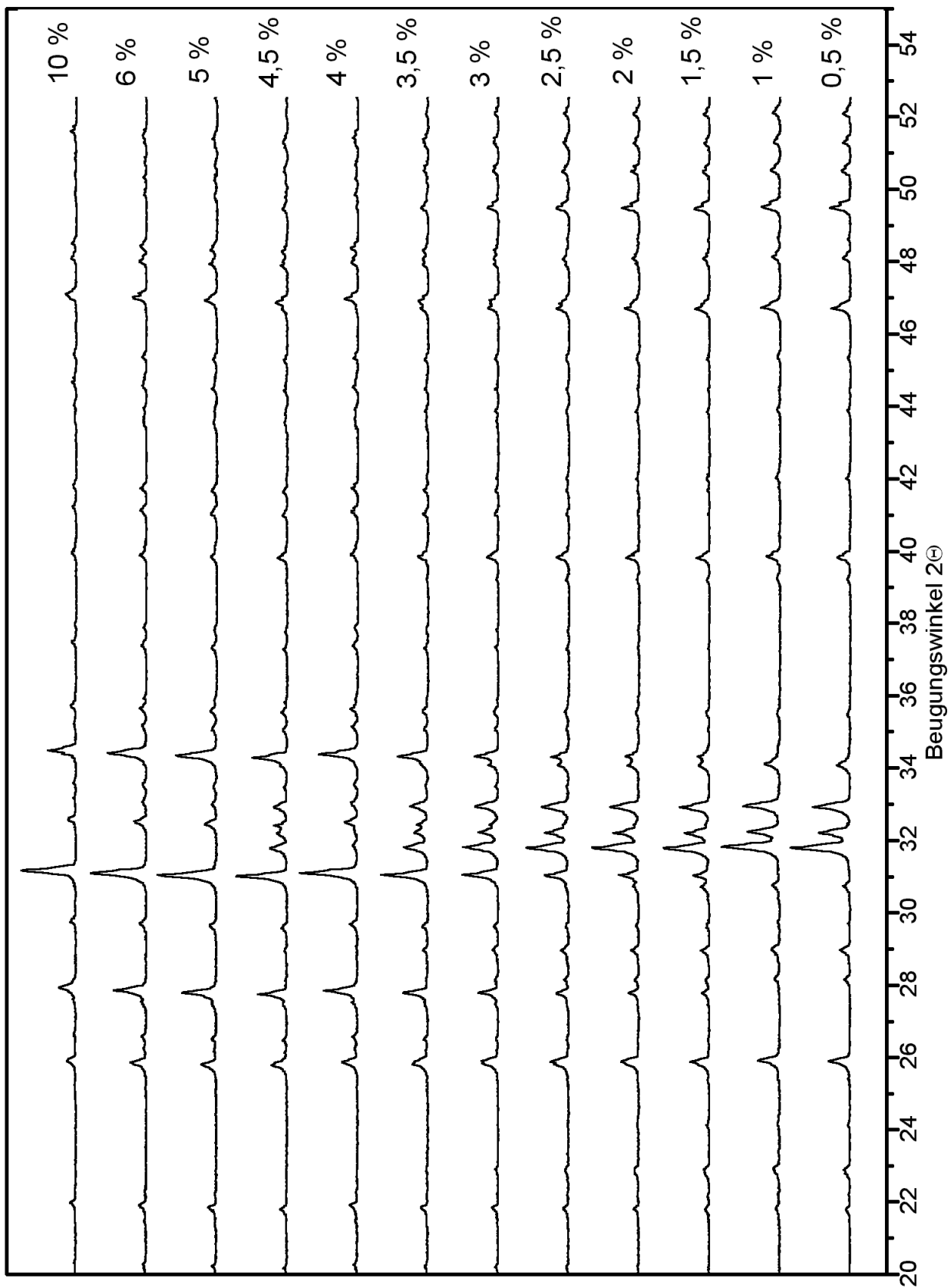


Abbildung 4.10:  
Diffraktogramme der mit unterschiedlichen Vanadiumzusätzen hergestellten OHAp-Proben. Die Pulver wurden jeweils eine Stunde lang bei 1000 °C geheizt.

#### 4.1.1.2 Vanadium

Die Wirkung von Vanadiumchlorid auf die basische OHAp-Synthese zeigte sich bereits während der chemischen Reaktion. Die Reaktionsgemische wiesen eine deutliche bräunliche Färbung auf. Außerdem waren die unlöslichen Niederschläge mit höherem Vanadiumanteil deutlich weniger voluminös als die Präzipitate mit geringerem Vanadiumanteil. Die völlige Entfärbung der wässrigen Phase sowie die Farblosigkeit

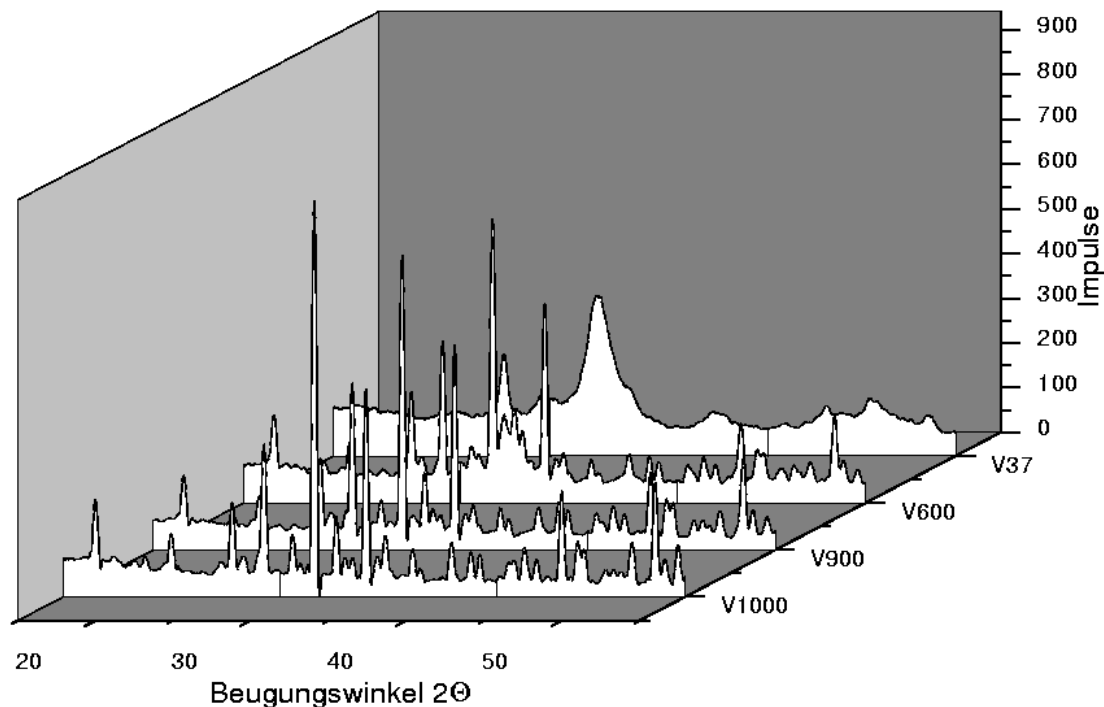


Abbildung 4.11: Diffraktogramme der Probe H14\_V10 mit einem Vanadiumanteil von 10 %. Die Pulver wurden bei 600 °C, 900 °C und 1000 °C geheizt. Die Probe mit der Markierung V37 wurde nur getrocknet, nicht geheizt.

des beim Filtern und Waschen der Proben entstandenen Filtrats deuteten darauf hin, dass die Vanadiumionen vollständig an der Reaktion zum unlöslichen Produkt teilgenommen hatten<sup>4</sup>.

Nach dem Trocknen hatten alle Pulverproben eine hellgraue Farbe, die sich durch Erhitzen der Proben zunächst aufhellte und bei 900 °C für Vanadiumanteile ab etwa 4,5 % in Gelb umwandelte. Ähnlich wie bei den Versuchen mit Titan zeigte sich auch

<sup>4</sup>Einige fünfwertige Vanadiumverbindungen sind zwar bei hohen pH-Werten ebenfalls farblos, jedoch bilden diese sich nicht in wässrigen Lösungen (vgl. Latscha/Klein[55]).

hier, dass die Kristallinität der ungeheizten Proben mit steigendem Vanadiumanteil abnahm. Abbildung D.5 in Anhang D.1.2 zeigt dies besonders deutlich anhand der Abnahme der integralen Intensitäten der Reflexe bei  $2\theta \approx 25,9^\circ$  bzw.  $2\theta \approx 34^\circ$ , die zu der (0 0 2)- bzw. der (2 0 2)-Netzebene von OHAp gehören.

Vier Proben wurden bei  $600^\circ\text{C}$  geheizt, wobei sich bei den Proben mit hohem Vanadiumanteil (6 % bzw. 10 %) bereits deutlich eine zusätzliche Phase zeigte, die als  $\beta$ -TCP identifiziert werden konnte (siehe Abb. 4.11).

Das Erhitzen der Pulver auf  $900^\circ\text{C}$  führte bereits in den Proben, die nur 0,5 % Va-

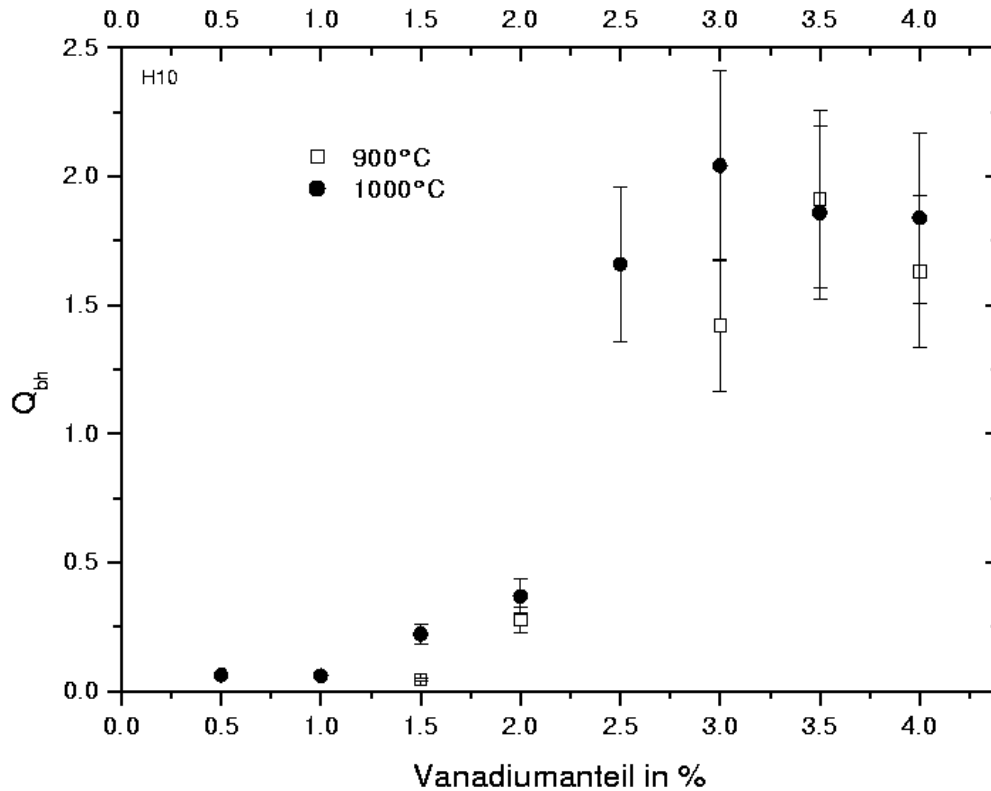


Abbildung 4.12:

$Q_{bh}$ -Werte der  $\beta$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H10 bei  $900^\circ\text{C}$  und  $1000^\circ\text{C}$ .

nadium enthielten, zur Ausbildung zusätzlicher Phasen. In Versuchsreihe H10 trat bei 0,5 % und 1 % Vanadiumanteil zunächst nur  $\alpha$ -TCP auf. Ab 1,5 % kam  $\beta$ -TCP hinzu, dessen Anteil mit steigendem Vanadiumzusatz gegenüber  $\alpha$ -TCP zunahm und ab Anteilen im Bereich von 4–5 % die OHAp-Phase praktisch verdrängte.

Das Erhitzen auf  $1000^\circ\text{C}$  verstärkte diesen Effekt noch etwas, wie die im Anhang C.4 aufgeführten Diffraktogramme zeigen. Die Erhöhung der Kristallitgröße war nicht nur im Diffraktogramm anhand der Zunahme der Schärfe der Peaks von  $\beta$ -TCP

sichtbar, sondern zeigte sich auch in der Änderung der Konsistenz der Pulverproben, die durch die hohe Temperatur spürbar härter wurden. Bei sehr hohen Vanadiumanteilen, besonders bei einem Zusatz von 10 % nahm das Volumen der Pulverprobe durch den Heizvorgang drastisch ab. Außerdem verfärbte sich das Pulver zu einem dunkleren Gelb mit rotbraunen Anteilen, was auf die Bildung einer zusätzlichen Phase hinwies. Tatsächlich zeigten sich in den Diffraktogrammen der mit 10 %

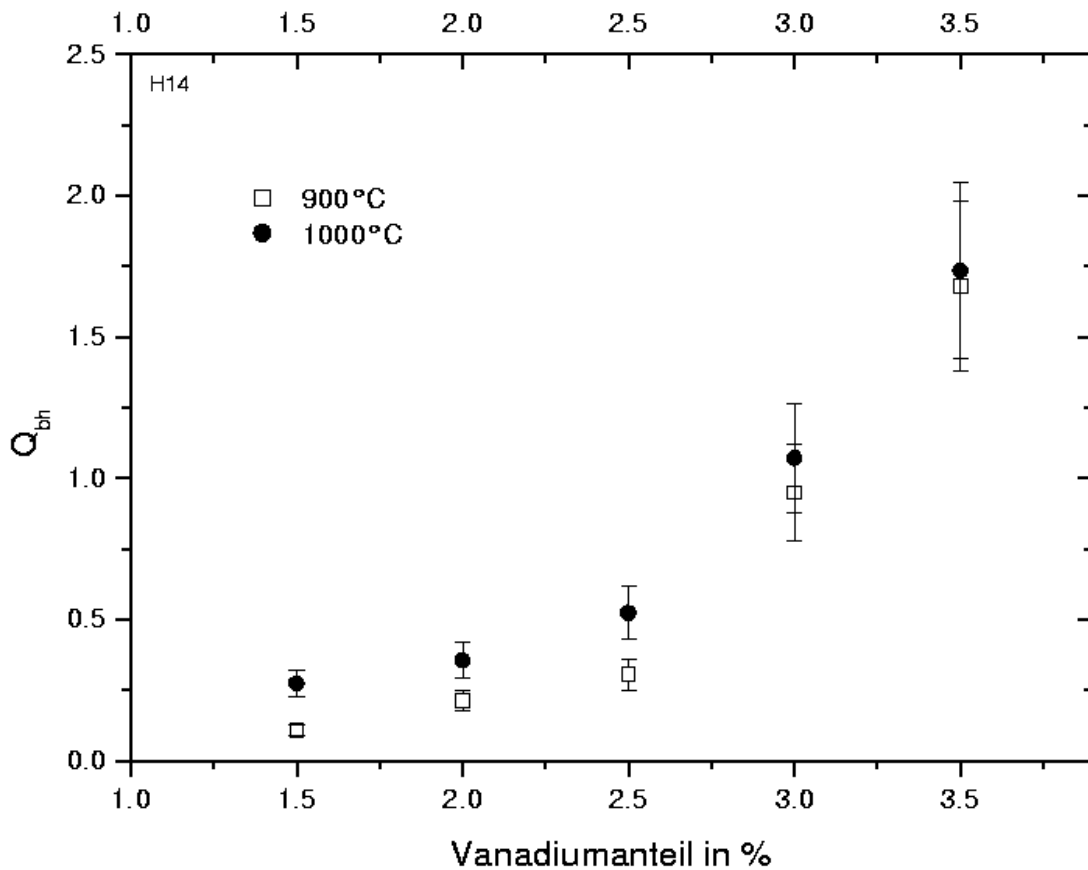


Abbildung 4.13:

$Q_{bh}$ -Werte der  $\beta$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H14 bei 900 °C und 1000 °C.

Vanadiumzusatz produzierten Proben beider Serien nach dem Heizen bei 1000 °C zusätzliche Peaks, die eindeutig als Kalziumvanadiumoxid<sup>5</sup> ( $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$ ) identifiziert werden konnten. Dieses auch als Kalziummetavanadat (Meyer[69]) bekannte Salz ist von rotbrauner Farbe und erklärt damit die dunkelgelbe Färbung der Probe. Liegt

<sup>5</sup>PDF-Nummer: 73-0971[45]

$\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$  als Hydrat vor, ist die Farbe eher blassgelb[69]. Eine mögliche Erklärung wäre, dass sich durch das Erhitzen der Proben auf 900 °C zunächst  $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$  in Hydratform bildet. Beim weiteren Erhitzen wird das Kristallwasser herausgeheizt, so dass die Färbung der Probe sich durch die dunklen Anteile intensiviert.

Zur quantitativen Auswertung der zusätzlichen Kalziumphosphatphasen wurden

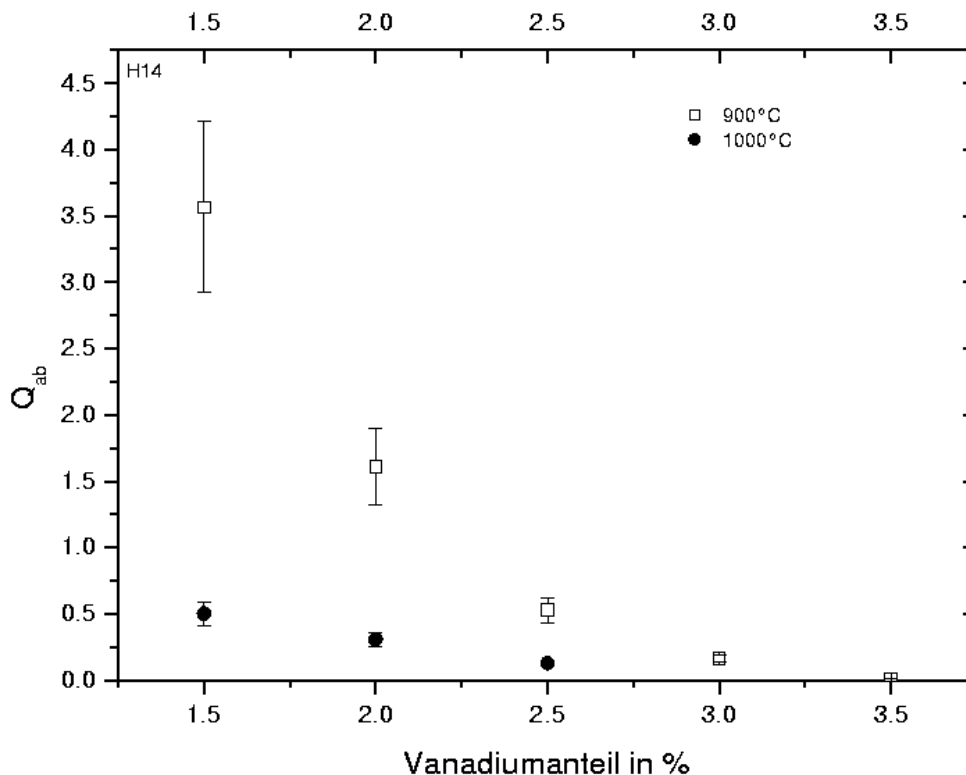


Abbildung 4.14:

$Q_{ab}$ -Werte der  $\alpha$ - und  $\beta$ -TCP-Phasen (Gl. 4.3) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H14 bei 900 °C und 1000 °C.

wieder die in Abschnitt 4.1.1.1 eingeführten Parameter  $Q_{ah}$  und  $Q_{bh}$  (Gl. 4.1) verwendet. Zusätzlich wurde das Verhältnis der Anteile der Phasen  $\alpha$ -TCP und  $\beta$ -TCP zueinander betrachtet:

$$Q_{ab} = \frac{I_{\alpha\text{-TCP},(0\ 3\ 4)}}{I_{\beta\text{-TCP},(0\ 2\ 10)}} \quad (4.3)$$

Ein Vergleich der Abbildungen 4.12 und 4.13 zeigt, dass die die  $Q_{bh}$ -Werte in den Proben der beiden Serien H10 und H14 mit steigendem Vanadiumanteil zunahmen, und zwar nahezu unabhängig von der Heiztemperatur. Allerdings zeigte dieser Anstieg in Serie H14 einen wesentlich gleichmäßigeren Verlauf (siehe Abb. 4.13 und in Anhang D.1.2 den direkten Vergleich beider Versuchsreihen für 900 °C in Abb.

D.6 und für 1000 °C in Abb. D.7). Insgesamt zeigen die Ergebnisse jedoch eine wesentlich bessere Übereinstimmung beider Serien als in den Experimenten mit Titan.

In Abbildung 4.14 sind die  $Q_{ab}$ -Werte der Probenserie H14 gegen den Vanadiumanteil der Reaktionsgemische aufgetragen. Sowohl bei 900 °C als auch bei 1000 °C zeigt sich, dass mit zunehmendem Vanadiumanteil die  $\alpha$ -TCP-Phase durch  $\beta$ -TCP ersetzt wurde.

In Anhang D.1.2 finden sich zusätzliche Diagramme (Abb. D.8 und D.9), in denen separat die  $Q_{ah}$ -Werte gegen den Vanadiumanteil aufgetragen sind. Die Abnahme der Dominanz der  $\alpha$ -TCP-Phase gegenüber  $\beta$ -TCP mit steigendem Vanadiumzusatz wird jedoch durch die Betrachtung der  $Q_{ab}$ -Werte deutlicher belegt.

Nimmt man an, dass in den ungeheizten Proben nur nichttransformiertes ACP und nichtstöchiometrisches Apatit (möglicherweise mit inkorporierten Vanadiumionen) vorlagen, so lässt sich dieses Verhalten nicht verstehen. Zwar lässt sich die zunehmende Präsenz von  $\beta$ -TCP in den geheizten Proben auf die thermische Dekomposition des BCaP (vgl. Tab. 2.1) zurückführen, jedoch sollte auch in den Proben mit höherem Vanadiumgehalt  $\alpha$ -TCP vorhanden sein, welches durch thermische Umwandlung der ACP-Phase gebildet wurde. Offenbar wurde die ACP-Phase selbst hinsichtlich ihrer thermodynamischen Stabilität durch die Anwesenheit der Vanadiumionen beeinflusst. Leider bietet auch die Literatur in Hinsicht auf die Umwandlung von ACP zu kristallinem TCP bislang keine eindeutigen Erkenntnisse (vgl. Abschnitt 2.2.3.1).

Die Betrachtung der Linienlagen der Apatitphase in den geheizten Proben zeigte keine messbaren Abweichungen im Vergleich zu metallfrei erzeugten Apatiten. Falls bei der Transformation von ACP zu OHAp Vanadiumionen in das apatitische Kristallgitter inkorporiert wurden, so wurden sie bei der thermischen Dekomposition vermutlich an die  $\beta$ -TCP-Phase abgegeben. Tatsächlich zeigten die Peakpositionen der  $\beta$ -TCP-Phase in einigen Proben leichte Verschiebungen gegen die in den Titanexperimenten detektierte Whitlockitstruktur, die auf eine geringfügige Deformierung des Kristallgitters hindeuteten. Das Auftreten von  $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$  in den bei 1000 °C geheizten Proben mit 10 % Vanadiumanteil führt zu der Annahme, dass bei dieser Temperatur die eingebauten Vanadiumionen teilweise an die Oberfläche migrierten und mit dem Luftsauerstoff reagierten.

Offensichtlich hat Vanadium einen starken Einfluss auf die Stöchiometrie bzw. das Ca/P-Verhältnis der in Anwesenheit der Metallionen gebildeten Apatite. Zwar enthielten die beobachteten  $\beta$ -TCP-Phasen zumindest bei höheren Vanadiumanteilen auch einen Anteil, der nicht aus der thermischen Dekomposition von nichtstöchiometrischem OHAp stammte, jedoch muss letztere bei geringeren V-Anteilen als der bei weitem überwiegende Effekt betrachtet werden.

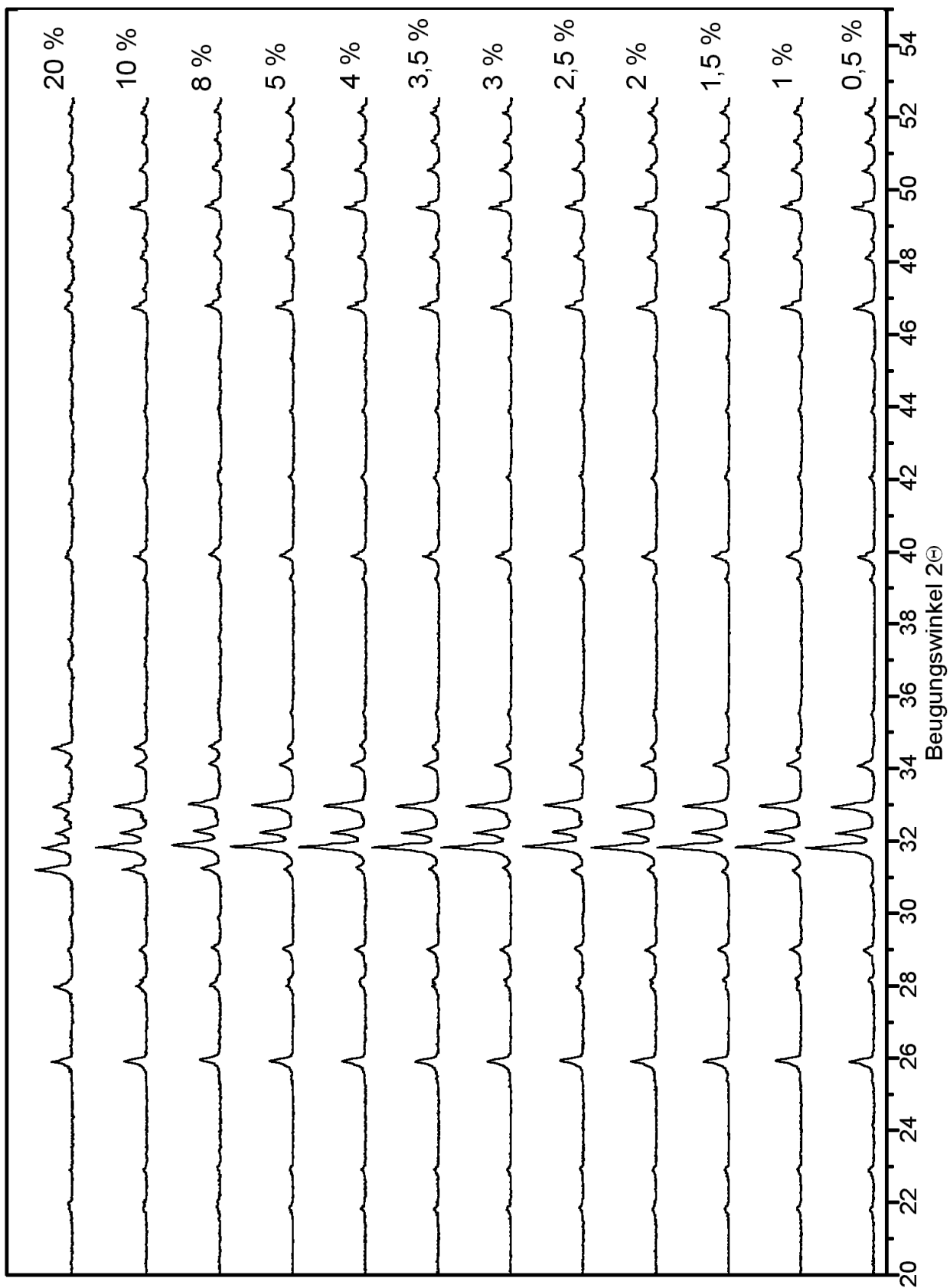


Abbildung 4.15:

Diffraktogramme der mit unterschiedlichen Kobaltzusätzen hergestellten OHAp-Proben. Die Pulver wurden jeweils eine Stunde lang bei 1000 °C geheizt.

#### 4.1.1.3 Kobalt

Bei der Zugabe von Kobaltnitrat zur Kalziumnitratlösung nahm diese eine intensive rote Färbung an. Der durch die Zugabe der Diammoniumhydrogenphosphatlösung entstehende Niederschlag wies im Vergleich zu den Experimenten mit Titan und Vanadium eine flockige Konsistenz auf. Nach dem Abschluss der Reaktion (inklusive Ammoniakzugabe und Erhitzen) hatte der Niederschlag sich violett verfärbt. Die wässrige Phase, die nach dem Abkühlen über dem unlöslichen Reaktionsprodukt verblieb, war bei geringen Kobaltzugaben farblos. Ab etwa 4 % Zugabe blieb eine rote Restfärbung der Lösung zurück. Nach dem Filtern und Trocknen wiesen die

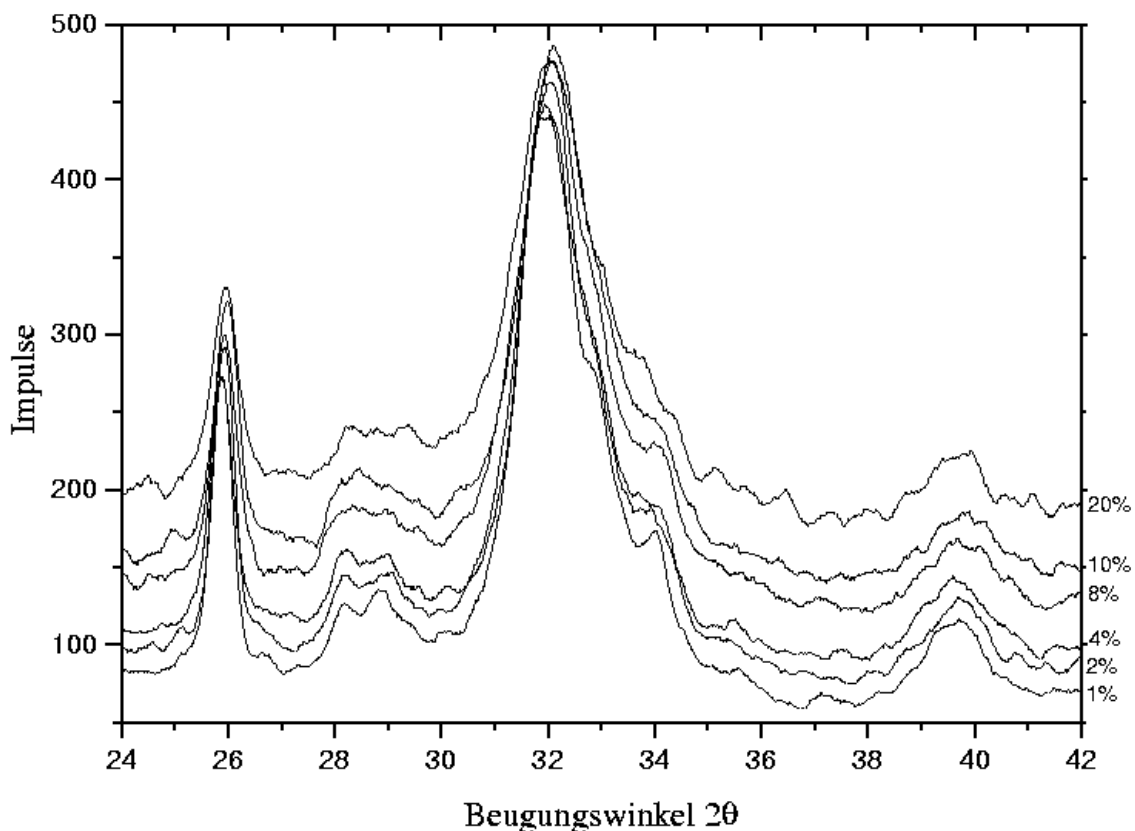


Abbildung 4.16: Diffraktogramme ungeheizter Apatite mit verschiedenen Kobaltanteilen. An der rechten Achse sind die den Spektren zugrundeliegenden Konzentrationen angegeben.

ungeheizten Proben mit zunehmendem Kobaltanteil eine mehr und mehr pulverige Konsistenz auf, was für eine durch den Kobaltzusatz induzierte Verringerung der Kristallinität spricht. Die Röntgendiffraktogramme, die von einigen der ungeheiz-



ten Proben aufgenommen wurden, bestätigen diese Annahme. Abb. 4.16 zeigt die Diffraktogramme der Proben aus Serie H8 mit jeweils 1 %, 2 %, 4 %, 8 %, 10 % und 20 % Kobaltanteil. Der mit der Zugabemenge stark anwachsende Untergrund ist auf Röntgenfluoreszenz zurückzuführen, die durch die Cu-K $_{\alpha}$ -Strahlung der im Diffraktometer eingesetzten Röntgenröhre hervorgerufen wurde. Dennoch lässt sich gut erkennen, dass das Verhältnis von Peakhöhe zu Peakbreite mit zunehmendem Kobaltanteil deutlich abnimmt. Durch einstündiges Heizen der Proben bei 600 °C

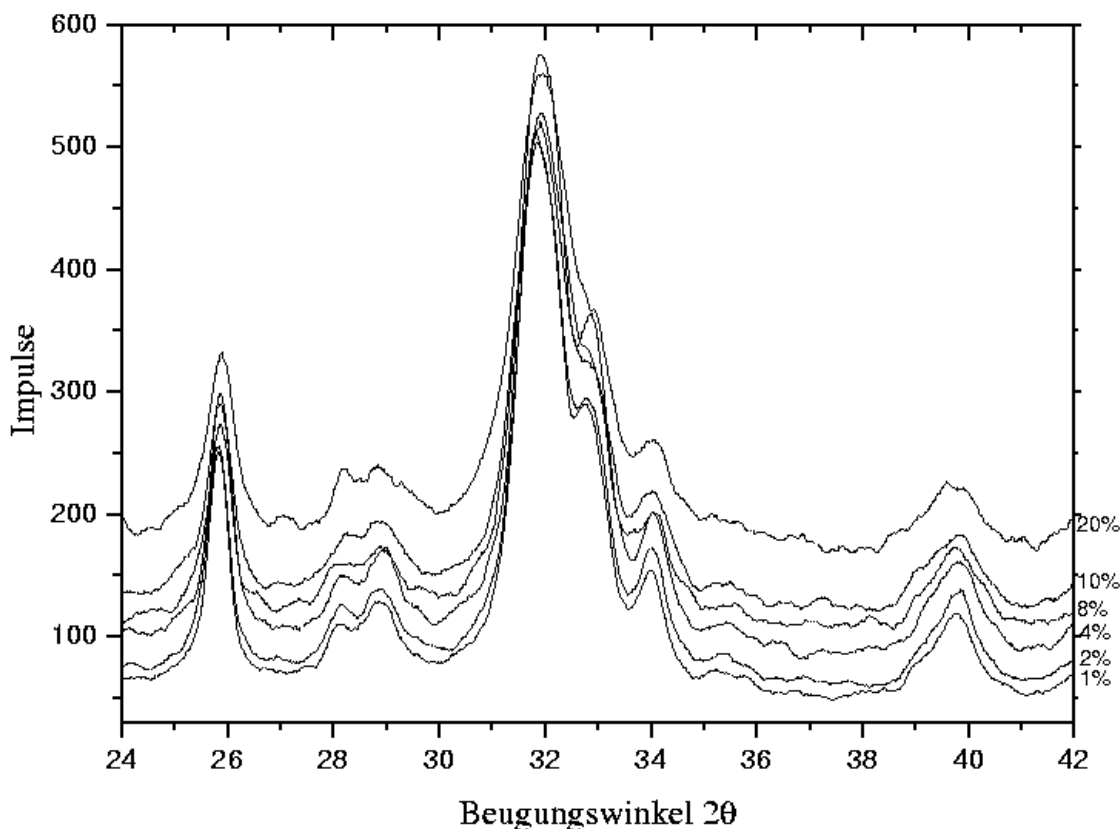


Abbildung 4.17: Diffraktogramme der bei 600 °C geheizten Apatite mit verschiedenen Kobaltanteilen. An der rechten Achse sind die den Spektren zugrundeliegenden Konzentrationen angegeben.

konnte die Kristallinität geringfügig erhöht werden, wie Abb. 4.17 zeigt. Das ursprüngliche Violett der Pulverproben wurde durch das Heizen in eine Graufärbung umgewandelt. Die Bestimmung zusätzlicher kristalliner Phasen war allerdings in den entsprechenden Diffraktogrammen noch nicht möglich.

In Anhang C.6 finden sich die Diffraktogramme der Probenserie H8 für die Heiztemperaturen 900 °C und 1000 °C, in denen sich die Röntgenreflexe neuer Phasen

zeigen. Die bei 900 °C geheizten Proben mit sehr geringem Kobaltanteil (0,5 % bzw. 1 % Co) enthielten offensichtlich kleine Mengen  $\alpha$ -TCP. In den Proben mit höheren Co-Anteilen und den bei 1000 °C geheizten Proben trat hingegen eine Phase auf, die große Ähnlichkeit mit  $\beta$ -TCP hatte. Bei höheren Kobaltzusätzen verschoben sich die Peaks der Phase allerdings um  $\Delta 2\Theta \approx 0,25^\circ$ . Eine genauere Analyse mit Hilfe der JCPDS-Datei führte schließlich zu der Annahme, dass es sich bei der neuen Phase um Kalziumkobaltphosphat ( $\text{Ca}_{19}\text{Co}_2(\text{PO}_4)_{14}$ ) handelte. Dieses violette Salz hat – wie  $\beta$ -TCP – eine rhomboedrische Kristallstruktur und auch ähnliche Gitterparameter. Die chemische Summenformel entspricht dem Zusammenschluss von 7 Formeleinheiten  $\beta$ -TCP, wobei 2 Kalziumatome durch Kobaltatome ersetzt wurden. Da die Diffraktogramme von Kalziumkobaltphosphat (im folgenden abgekürzt KKP

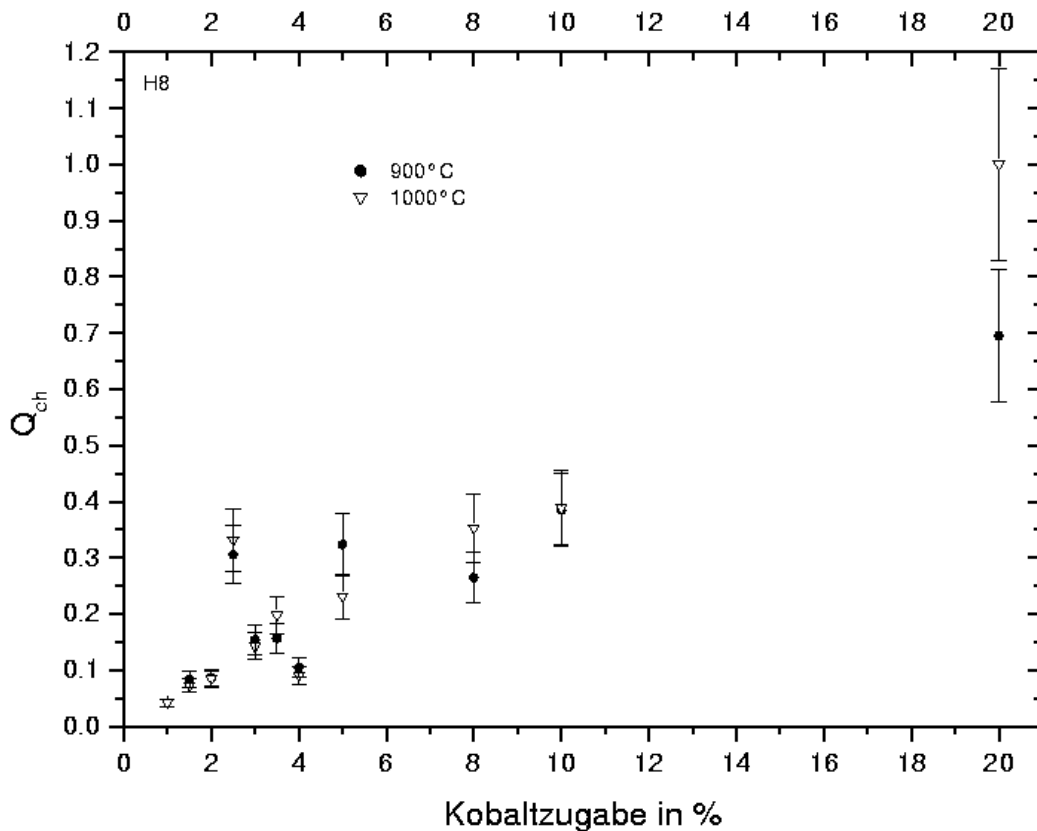


Abbildung 4.18:

$Q_{ch}$ -Werte der Kalziumkobaltphosphatphase (Gl. 4.5) für Kobalt im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H8 bei 900 °C und 1000 °C.

genannt) und  $\beta$ -TCP bis auf die relative Verschiebung der Peaks um etwa  $0,25^\circ$  praktisch identisch sind, kann bei nicht genau bestimmbarer Peaklage nicht mit Si-

cherheit gesagt werden, welche der beiden Phasen vorliegt. Aufgrund des geringeren Ionenradius von  $\text{Co}^{2+}$  ( $0,745 \text{ \AA}$ ) gegenüber dem von  $\text{Ca}^{2+}$  ( $1,0 \text{ \AA}$ ) sind die Gitterparameter von KKP gegenüber  $\beta$ -TCP um etwa 0,6 % verkleinert. Eine Phase, deren Peaks im Diffraktogramm verschoben erscheinen, sollte sich demnach durch eine Änderung des Kobaltanteils im Kristallgitter erklären lassen. In den meisten Fällen

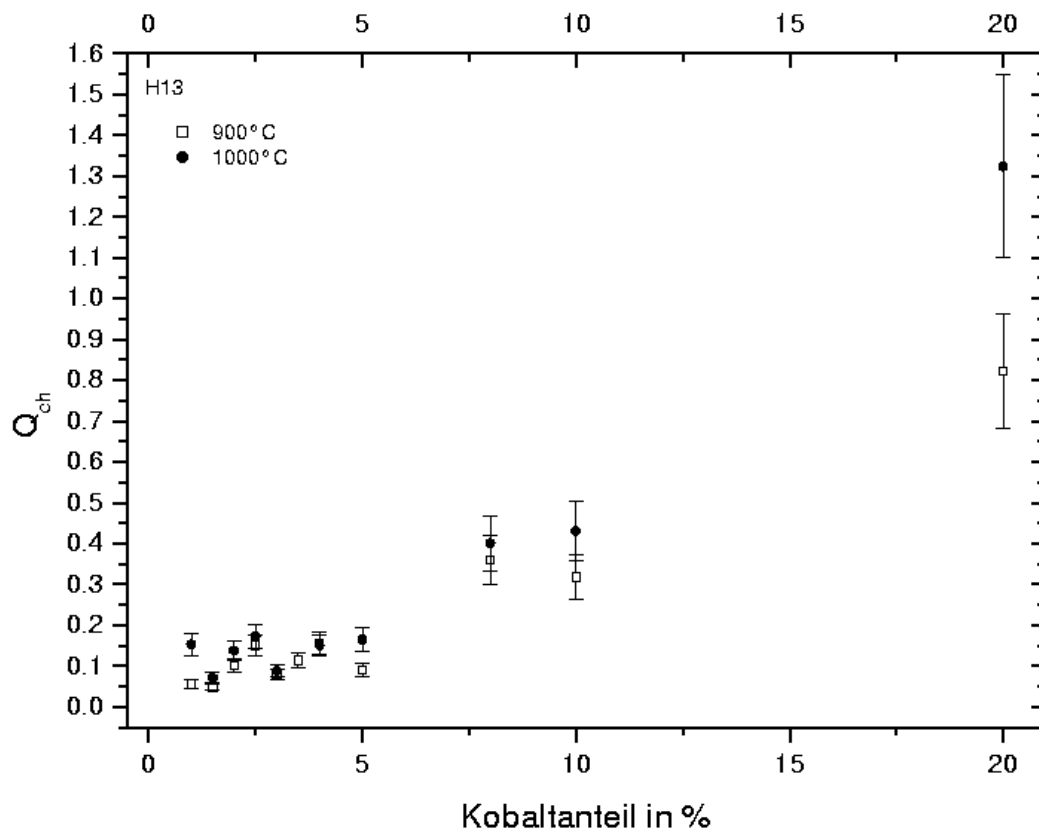
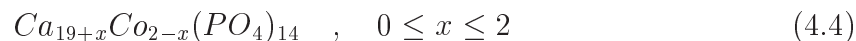


Abbildung 4.19:

$Q_{ch}$ -Werte der KKP-Phase (Gl. 4.5) für Kobalt im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H13 bei 900 °C und 1000 °C.

lagen die gemessenen Peaklagen der zusätzlichen Phase zwischen den der JCPDS-Datei entnommenen Daten von  $\beta$ -TCP und KKP. Dies legt die Vermutung nahe, dass keine der beiden Phasen in Reinform vorlag, sondern vielmehr als Mischphase, die sich hinsichtlich ihrer Summenformel wie folgt beschreiben lässt:



Diese Verbindung geht für  $x=2$  in  $\beta$ -TCP und für  $x=0$  in reines KKP über. Bei der Betrachtung der Linienlagen der Mischphase in den Diffraktogrammen gab es

keinen erkennbaren Zusammenhang mit der zugefügten Kobaltmenge. Zur Bestimmung des Anteils der KKP-Phase in den geheizten Pulverproben wurde analog zu den vorherigen Abschnitten der Quotient  $Q_{ch}$  eingeführt:

$$Q_{ch} = \frac{I_{\text{Kalziumkobaltphosphat},(0\ 2\ 10)}}{I_{\text{OH Ap},(2\ 1\ 1)}} \quad (4.5)$$

Die Diagramme in Abb. 4.18 und 4.19 zeigen, dass die  $Q_{ch}$ -Werte in beiden Probenreihen relativ gut mit der an der Reaktion beteiligten Kobaltmenge korrelierten. Der Einfluss der Heiztemperatur auf die Phasenlage war deutlich geringer als in den Experimenten mit Titan und Vanadium. Unter der Annahme, dass die Mischphase aus  $\beta$ -TCP und KKP analog zu reinem  $\beta$ -TCP durch Dekomposition der nichtstöchiometrischen Apatitphase entstanden ist, deutet dies darauf hin, dass die Dekomposition bereits bei Temperaturen unterhalb von 900 °C begann. Weiteres Heizen hätte dann in erster Linie eine Verbesserung der Kristallitgröße aller stabilen Phasen zur Folge.

Es erscheint zunächst widersprüchlich, dass es offensichtlich eine Korrelation zwischen dem Anteil der Mischphase aus  $\beta$ -TCP und KKP in den Proben und der zugefügten Kobaltmenge gibt, während der Kobaltgehalt eben dieser Phase keiner erkennbaren Gesetzmäßigkeit zu unterliegen scheint. Die Vermutung, dass ein Teil des Kobalts in der Apatitstruktur verblieben ist, wird durch die Messergebnisse nicht gestützt, da die Peakmuster der Apatitphasen in den Diffraktogrammen keine signifikanten Verzerrungen aufwiesen. Allerdings zeigte sich in den Diffraktogrammen der Proben mit hohem Kobaltgehalt (Abbildungen C.57, C.58 und C.59 in Anhang C.6) jeweils ein weiterer Peak, der sich keiner der anderen Verbindungen zuordnen ließ. Offensichtlich handelte es sich dabei um Kobaltoxid<sup>6</sup> mit der Summenformel  $\text{Co}_3\text{O}_4$ , welches wahrscheinlich beim Heizen durch die Reaktion oberflächennaher Kobaltatome mit dem Luftsauerstoff gebildet wurde und nur in kobaltreichen Proben in detektierbaren Anteilen vorlag. Da die Probenoberfläche durch die experimentelle Behandlung der Pulver nicht als definierter Parameter gelten kann, könnte dies eine Erklärung für die ungleichmäßige Kobaltverteilung auf die entstandenen Phasen sein.

---

<sup>6</sup>PDF-Nummer: 78-1970

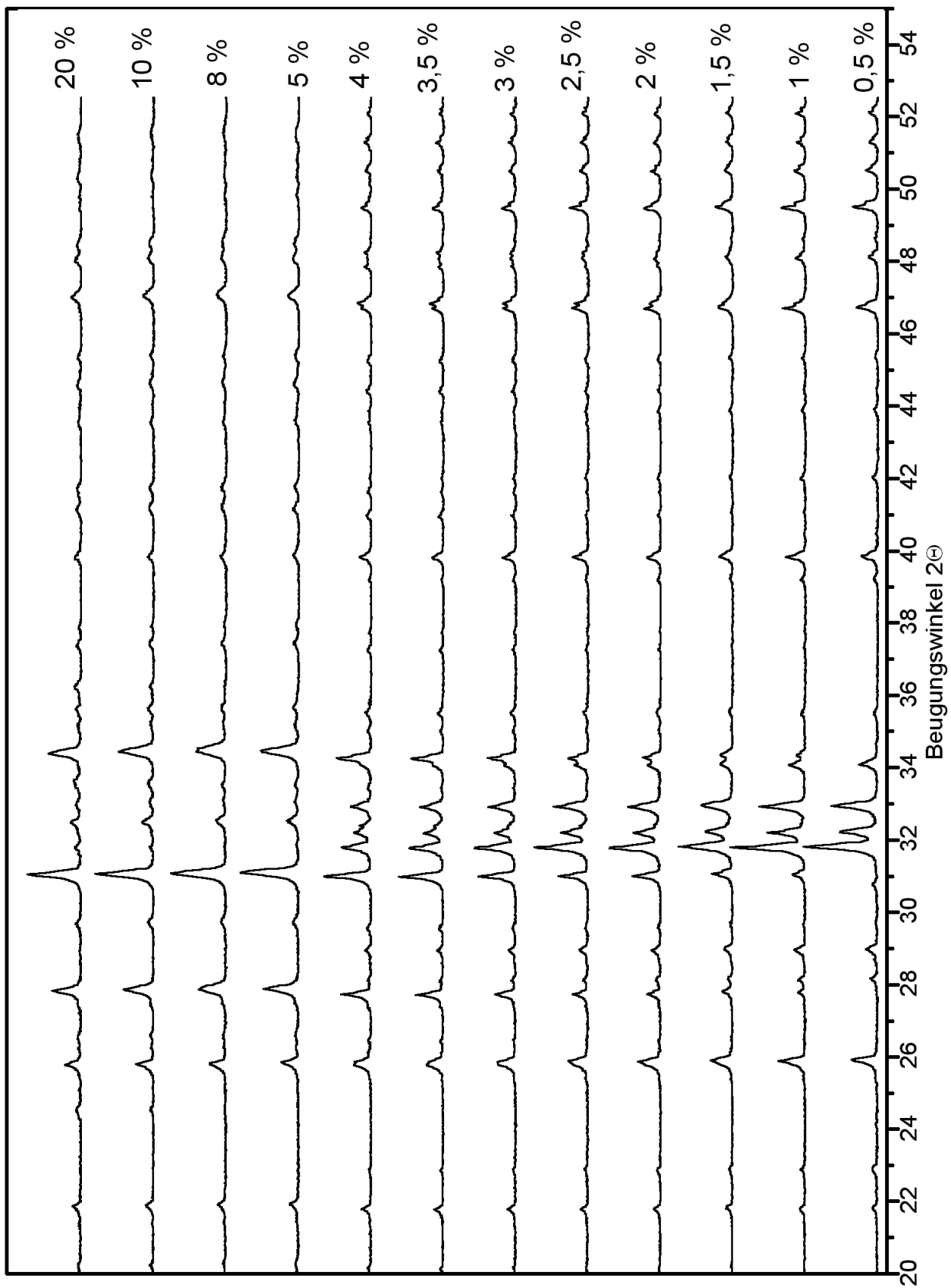


Abbildung 4.20:

Diffraktogramme der mit unterschiedlichen Chromzusätzen hergestellten OHAp-Proben. Die Pulver wurden jeweils eine Stunde lang bei 1000 °C geheizt.

#### 4.1.1.4 Chrom

Das blaugrüne Chrom(III)nitrat ( $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) beeinflusste die Präzipitation von Hydroxylapatit in ähnlicher Weise wie Kobalt(II)nitrat. Auch hier entstand ein großflockiger, sehr inhomogener Niederschlag, der nach dem Abschluss der Reaktion eine blaugrüne Färbung aufwies. Die wässrige Phase war allerdings auch bei hoher Chromzugabe nach dem Absenken des Niederschlags farblos.

Die Farbe der Niederschläge blieb nach dem Filtern und Trocknen erhalten. Genau

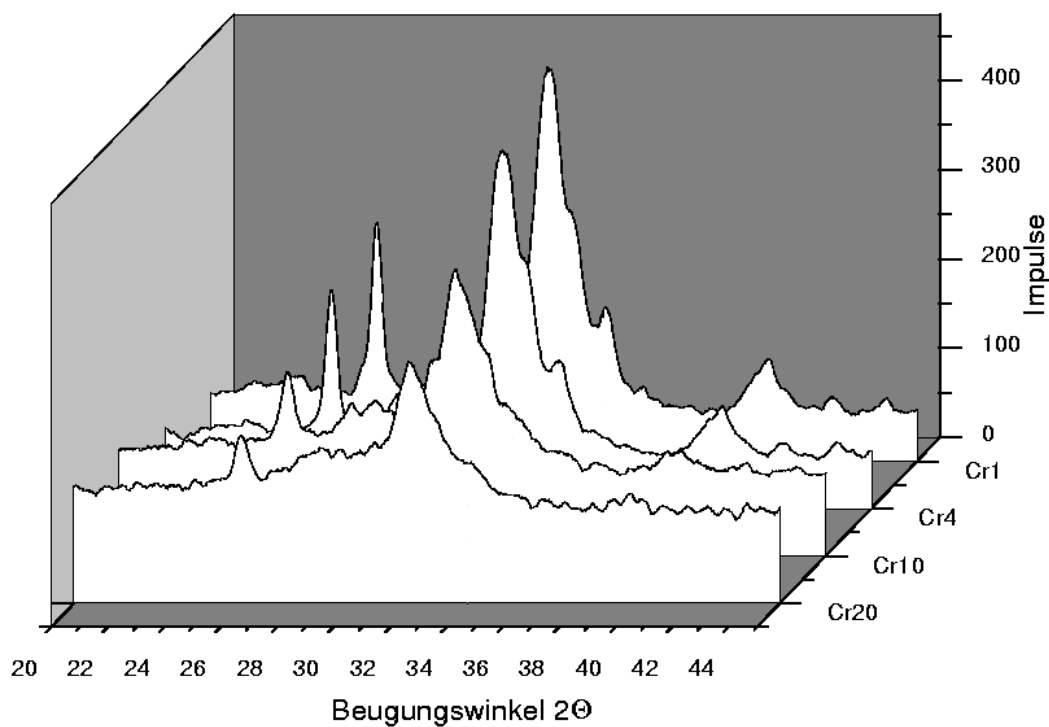


Abbildung 4.21:

Diffraktogramme der ungeheizten Apatite mit 1 %, 4 %, 10 % und 20 % Chromanteil (Versuchsreihe H7).

wie bei Kobaltzusatz wurde die Konsistenz der Proben mit steigendem Chromanteil weich und pulverig. Die in Abb. 4.21 dargestellten Diffraktogramme einiger ungeheizter Pulverproben zeigen, dass die Kristallinität der erzeugten Kalziumphosphate mit steigendem Chromanteil signifikant abnahm. Nach einstündigem Heizen der Proben bei 600 °C blieb dieser Effekt erhalten, wie Abb. 4.22 zeigt. Zudem traten im Diffraktogramm der Probe mit 20 % Chromanteil zu den überlappenden OHAp-Peaks weitere Reflexe hinzu, die die Anwesenheit zusätzlicher kristalliner Phasen anzeigten.

Ein Vergleich mit den Daten der JCPDS-Datei zeigte, dass es sich bei diesen Phasen um  $\beta$ -TCP und Chromoxid<sup>7</sup> ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) handelte. Die Bildung von  $\beta$ -TCP bei einer Heiztemperatur von 600 °C konnte nicht auf die Dekomposition von nichtstöchiometrischem Hydroxylapatit zurückgeführt werden (vgl. Abschnitt 2.2.1.5). Vielmehr legt das gleichzeitige Auftreten von  $\beta$ -TCP und  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  die Vermutung nahe, dass beide Substanzen in den ungeheizten Proben jeweils in amorpher bzw. schwach kristallisierter Form vorlagen. Durch das Heizen bei 600 °C wurde ihre Kristallinität soweit erhöht, dass ihre Anwesenheit zumindest in der Probe mit 20 % Chromanteil durch XRD nachgewiesen werden konnte.

Das Heizen der Proben bei 900 °C bzw. 1000 °C führte schon bei geringen Chroman-

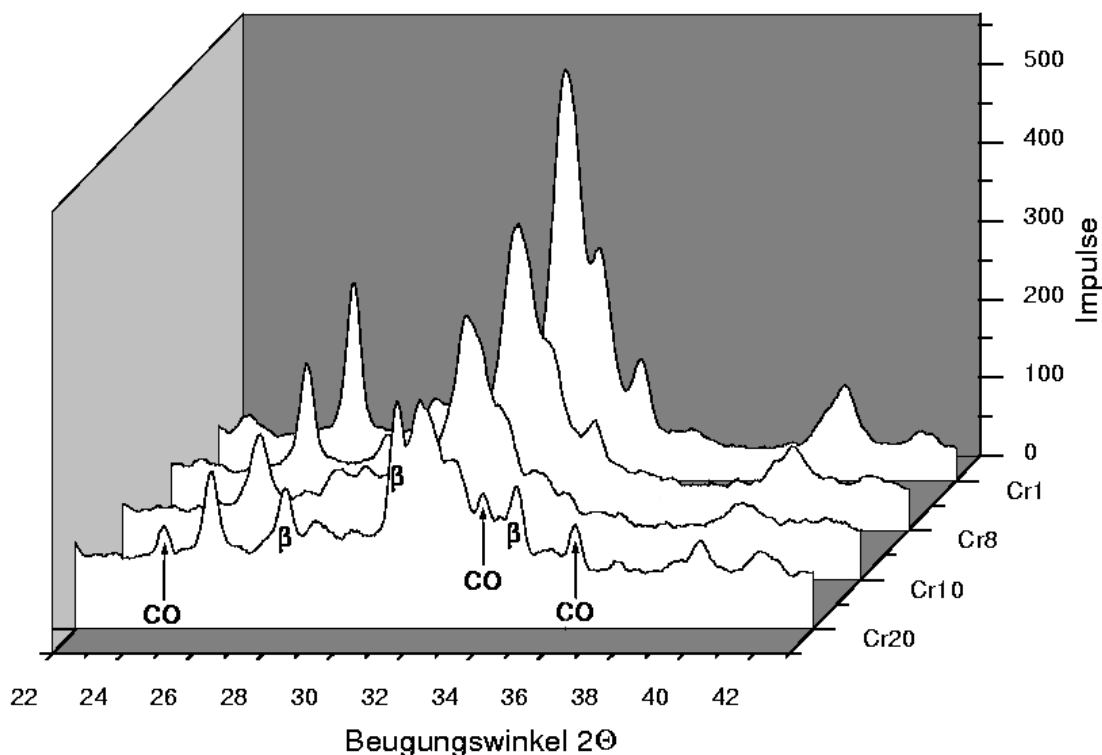


Abbildung 4.22: Diffraktogramme der bei 600 °C geheizten Apatite mit 1 %, 8 %, 10 % und 20 % Chromanteil (Versuchsreihe H7). CO =  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ,  $\beta$  =  $\beta$ -TCP.

teilen zur Ausbildung zusätzlicher Phasen von Trikalziumphosphat, wobei bereits ab einem Chromanteil von 1 %  $\beta$ -TCP deutlich überwog (siehe Diffraktogramme in Anhang C.7). Abbildung 4.23 zeigt die Korrelation zwischen dem Anteil an  $\beta$ -TCP mit der zugesetzten Chrommenge anhand der  $Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) der Versuchsreihe H7.

<sup>7</sup>PDF-Nummer 84-1616

Im gezeigten Bereich zeigte sich ein gleichmäßiger Anstieg der  $Q_{bh}$ -Werte mit zunehmendem Chromanteil. Für höhere Chromanteile (ab 5 %) stiegen die Werte dann sprunghaft an (siehe Abb. D.11 in Anhang D.1.3). In der vergleichenden Versuchsreihe H12 ließ sich die Linearität der  $Q_{bh}$ -Werte mit dem Chromgehalt weitgehend reproduzieren, allerdings begann der starke Anstieg erst oberhalb von 5 %. In Anhang D.1.3 finden sich vergleichende Diagramme, die die gute Übereinstimmung der beiden Versuchsreihen (besonders nach einstündigem Heizen bei 1000 °C) für kleine Chromanteile zeigen (Abb. D.14 und D.15).

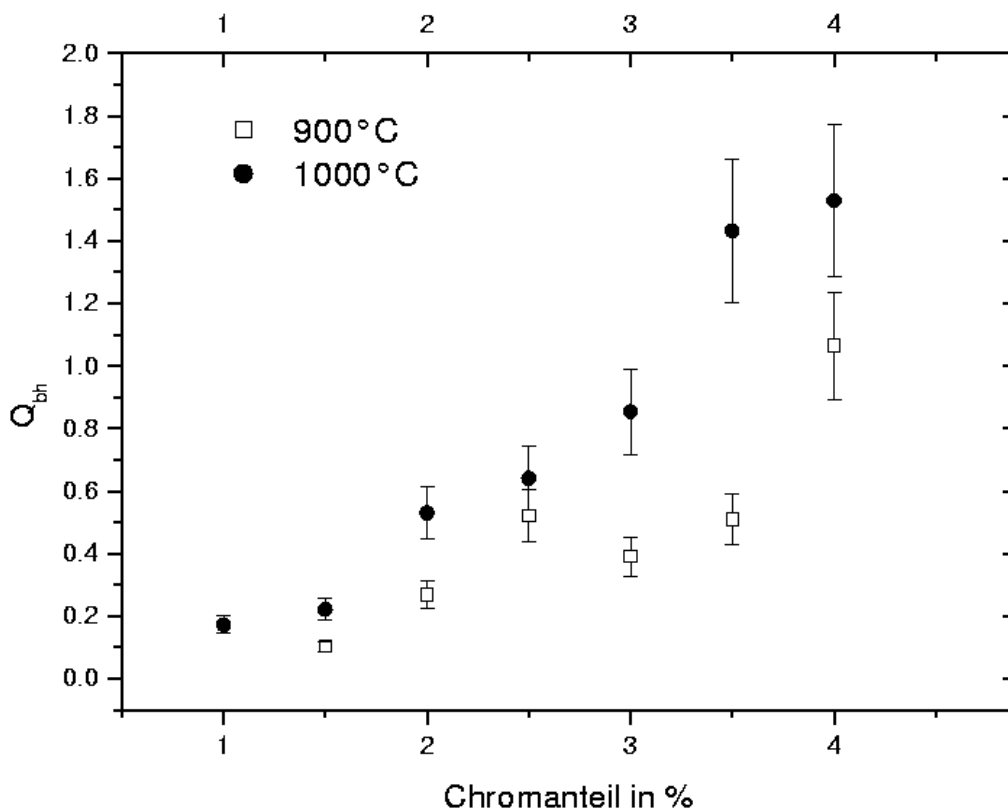


Abbildung 4.23:

$Q_{bh}$ -Werte der  $\beta$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H7 bei 900 °C und 1000 °C. Die Abbildung zeigt nur einen Ausschnitt, die vollständige Darstellung findet sich in Abb. D.11 in Anhang D.1.3.

Die  $Q_{bh}$ -Werte der bei 1000 °C geheizten Proben lagen immer deutlich höher als in den Proben, die bei nur 900 °C geheizt wurden. Diese Erhöhung des relati-



ven Anteils von  $\beta$ -TCP im Pulver ließ sich im vorliegenden Fall nicht allein auf die thermische Dekomposition von BCaP (vgl. Tabellen 2.1 und 2.5) zurückführen, da zumindest in der Probe mit 20 % Chromanteil  $\beta$ -TCP bereits bei einer Heiztemperatur von 600 °C sichtbar auftrat (Abb. 4.22). Die bei 1000 °C vorhandene Phase bildete sich also offensichtlich nur zu einem gewissen Anteil durch die Dekomposition von nichtstöchiometrischem Apatit.

$\text{Cr}_2\text{O}_3$  konnte in den geheizten Proben ab etwa 4–5 % Chromanteil detektiert werden. Die Peaks ließen sich aber erst bei hohen Zusätzen mit hinreichender Genauigkeit auswerten (in Serie H7 ab 8 %, in Serie H12 erst ab 10 %). In den Diffraktogrammen in Anhang C.7 sind auch die Peaks markiert, die nicht quantitativ ausgewertet wurden. Die Bestimmung des relativen Anteils von  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  erfolgte wegen der geringen

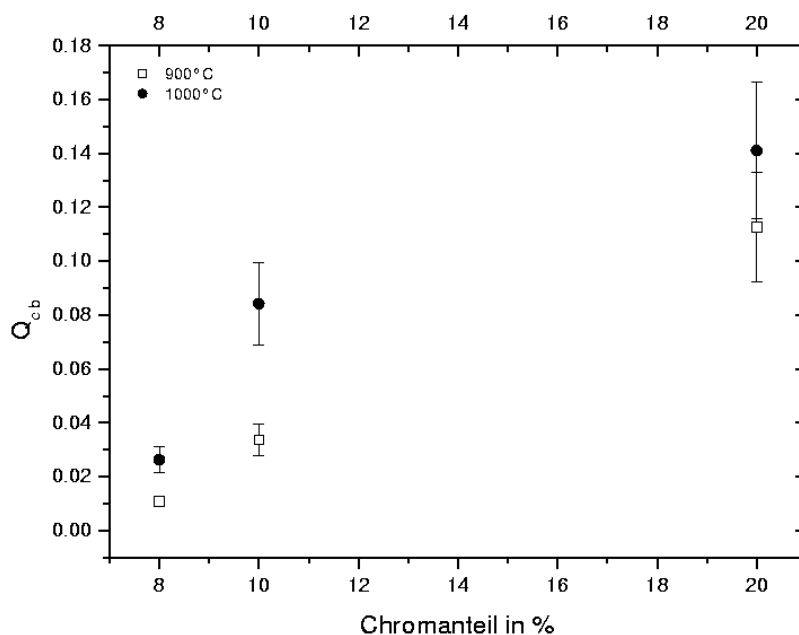


Abbildung 4.24:

$Q_{cb}$ -Werte der Chromoxidphase (Gl. 4.6) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H7 bei 900 °C und 1000 °C.

integralen Intensitäten der OHAp-Peaks durch die Bildung der  $Q_{cb}$ -Werte:

$$Q_{cb} = \frac{I_{\text{Cr}_2\text{O}_3, (1\ 0\ 4)}}{I_{\beta\text{-TCP}, (0\ 2\ 10)}} \quad (4.6)$$

Abb. 4.24 zeigt, dass mit steigendem Chromanteil im Modellsystem auch der Anteil von  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  in Relation zum  $\beta$ -TCP-Anteil zunahm.

Offensichtlich wurde die Mineralisation von Hydroxylapatit in äußerst komplexer

Weise durch die Anwesenheit der Chromionen beeinflusst. Der kristallisationshemmende Effekt war stärker als bei allen anderen getesteten Metallen, wie die XRD-Messungen der ungeheizten Pulverproben zeigten.

Die Linienlagen und die relativen Intensitäten der Apatitpeaks in den Diffraktogrammen der geheizten Proben zeigten keine Anzeichen für eine Inkorporation der Chromionen in die Apatitstruktur. In der  $\beta$ -TCP-Phase allerdings zeigten sich Abweichungen in den Linienlagen, die auf eine Veränderung der Gitterparameter hinwiesen. Diese waren im Fall der bei 600 °C geheizten Probe mit 20 % Chromanteil deutlich höher als in der üblicherweise beobachteten Whitlockitstruktur (PDF-Nummer 9-0169), während in den bei 1000 °C geheizten Proben die Peakpositionen eine TCP-Modifikation mit leicht verzerrter Kristallstruktur anzeigten. Die Linien dieser Phase hatten eine geringe Halbwertsbreite (siehe Diffraktogramme in Anhang C.7), so dass offensichtlich nur eine einzige rhomboedrische TCP-Modifikation und keine Überlappung mehrerer Phasen vorlag.

Diese Ergebnisse führen zu der Annahme, dass sich die Chromionen bei der chemischen Reaktion im Modellsystem stark inhibierend auf die Transformation von ACP zu OHAp auswirkten, vermutlich durch Blockieren der Wachstumsflächen. Zusätzlich wurde das Ca/P-Verhältnis des entstehenden Apatits erniedrigt. Beim Heizen wandelte sich die amorphe Phase wahrscheinlich zu einem Teil zu  $\alpha$ -TCP um, während sich ein weiterer Anteil abspaltete, der einem mit Chromionen angereicherten  $\beta$ -TCP entsprach. Bei höheren Temperaturen wurde zum einen das nichtstöchiometrische Apatit in s-OHAp und  $\beta$ -TCP zerlegt, während aus der TCP-Phase Cr-Ionen ausgeheizt wurden und mit dem Luftsauerstoff zu  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  reagierten. Aus den beiden rhomboedrischen TCP-Phasen unterschiedlicher Herkunft formierte sich dann vermutlich durch Rekristallisation die in den Diffraktogrammen beobachtete, verzerrte Gitterstruktur.

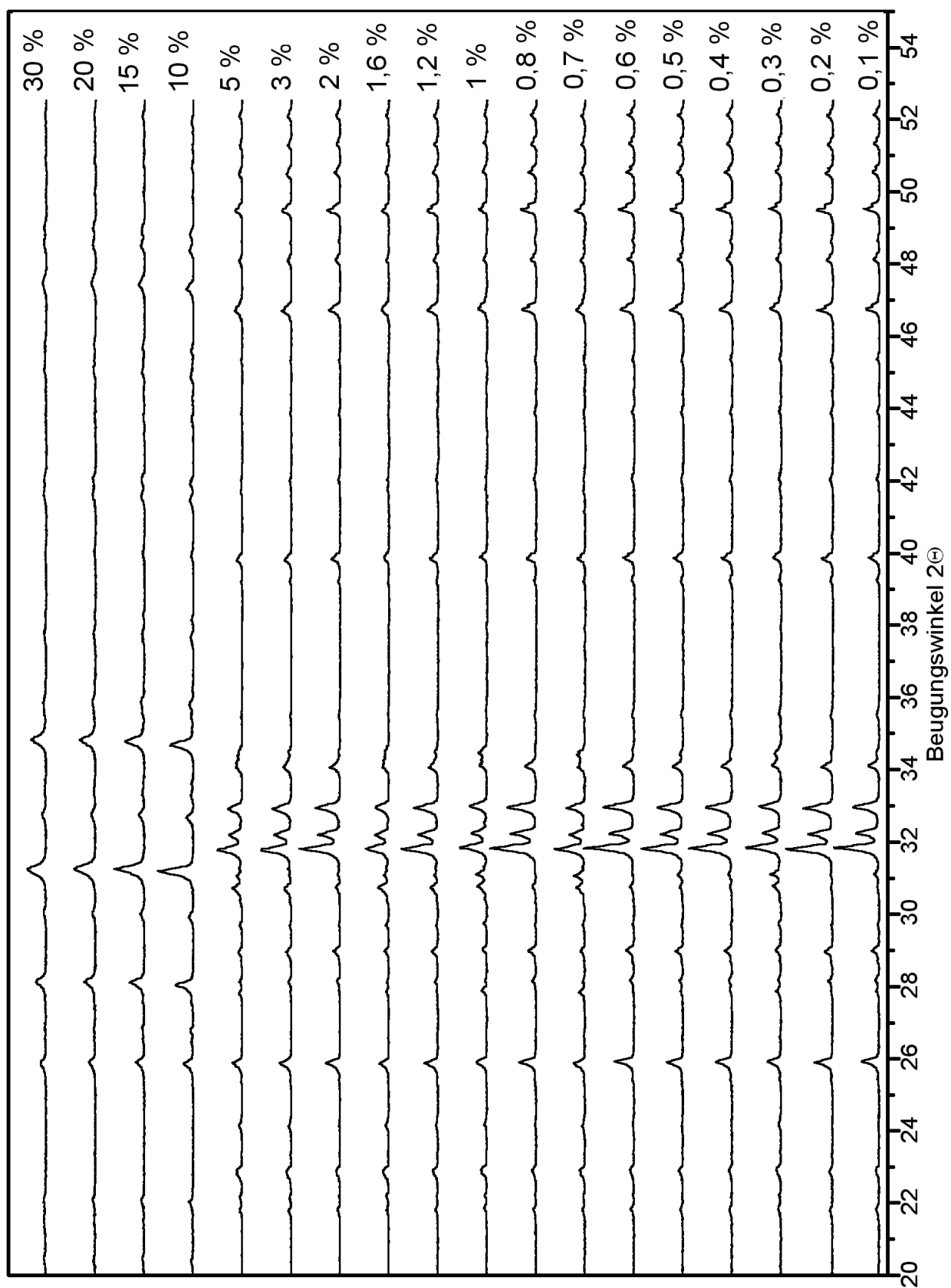


Abbildung 4.25:  
Diffraktogramme der mit unterschiedlichen Aluminiumzusätzen hergestellten OHAp-  
Proben. Die Pulver wurden jeweils eine Stunde lang bei 1000 °C geheizt.

#### 4.1.1.5 Aluminium

In Abschnitt 2.2.4.2 wurde bereits über den kristallisationshemmenden Einfluss von Aluminiumionen auf die *in-vitro*-Mineralisation von Hydroxylapatit berichtet. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden zahlreiche Versuche mit der Zugabe von Aluminium zur Apatitsynthese im vereinfachten, basischen Modellsystem durchgeführt, wobei der Schwerpunkt auf sehr kleine (Serien H6 und H11) und sehr große (Serie H24) Konzentrationen gelegt wurde. Die ungeheizten Proben zeigten in den

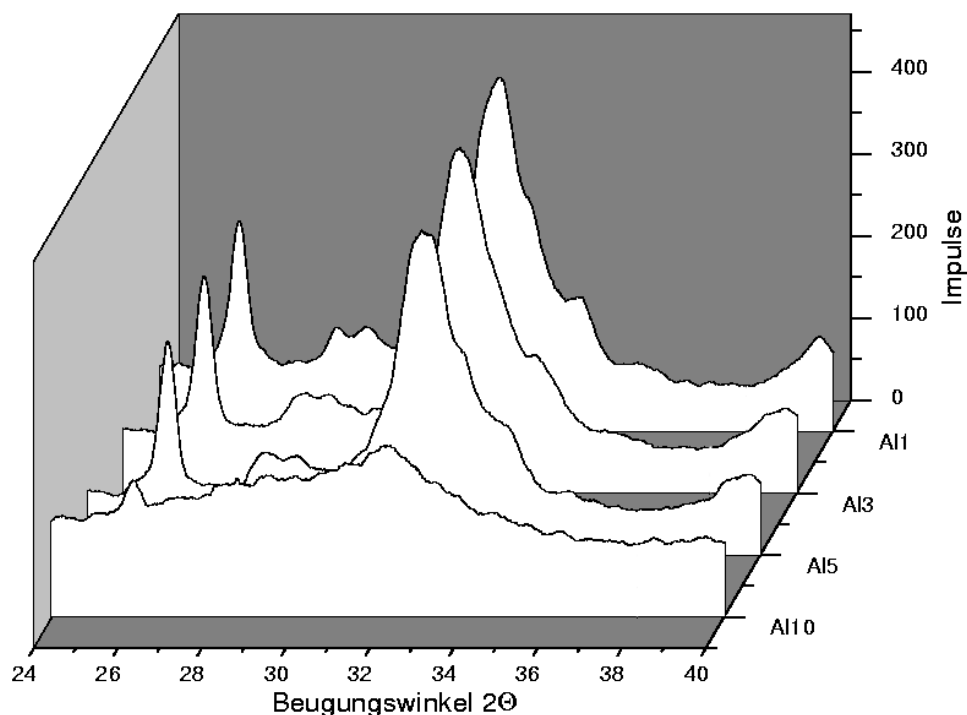


Abbildung 4.26: Diffraktogramme von im basischen Modellsystem erzeugten OHAp-Proben mit 1 %, 3 %, 5 % und 10 % Aluminiumanteil, ungeheizt (Serie H24). Bei 10 % Aluminiumzusatz ist nur noch der (0 0 2)-Reflex des OHAp-Gitters erkennbar.

Diffraktogramme für kleine Aluminiumanteile (< 5 %) praktisch keine Unterschiede in Peakbreite und integraler Intensität (siehe Abb. 4.26). Erst ab 5 % Aluminiumzusatz ließ sich eine Verschlechterung der Kristallinität beobachten. Bei einer Zugabemenge von 10 % allerdings nahm die Kristallinität dramatisch ab, wie ebenfalls in Abb. 4.26 zu erkennen ist.

Wurden die Proben bei 600 °C geheizt, nahmen zwar die Kristallinität und die Kristallitgröße der Apatite zu (siehe Abb. 4.27), jedoch lag die integrale Intensität der Reflexe stets deutlich unterhalb der Werte von reinem Hydroxylapatit. In der Probe

mit 10 % Al waren die Apatit-Peaks nur noch sehr schwach ausgebildet und zeigten sich bei höheren Konzentrationen gar nicht mehr.

Weiteres Heizen führte wiederum zur Bildung von  $\alpha$ -TCP und  $\beta$ -TCP, wobei die Reflexe der zweiten Phase leichte Verschiebungen zu größeren Beugungswinkeln bzw. kleineren Netzebenenabständen zeigten. Für größere Aluminiumkonzentrationen entsprachen die Linienpositionen wesentlich besser den der JCPDS-Datei zu entnehmenden Werten für Kalziumaluminiumphosphat<sup>8</sup> ( $\text{Ca}_9\text{Al}(\text{PO}_4)_7$ ). Auch die-

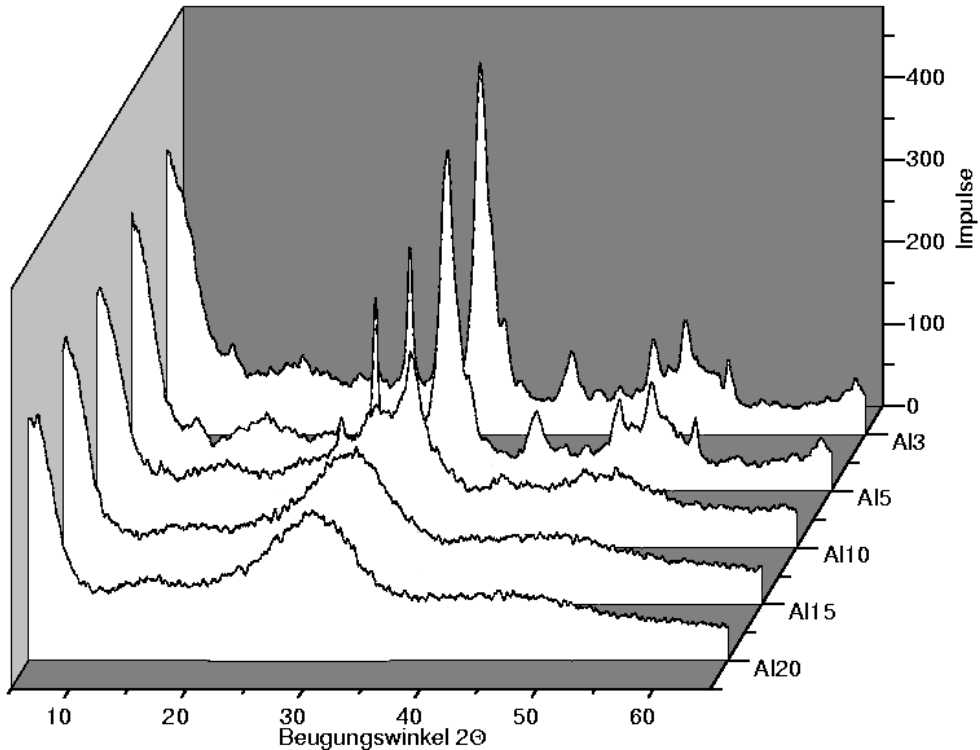
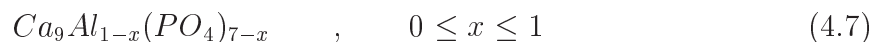


Abbildung 4.27: Diffraktogramme von im basischen Modellsystem erzeugten OHAp-Proben mit unterschiedlichen Al-Beimischungen, die nach dem Trocknen eine Stunde lang bei 600 °C geheizt wurden. Bei 3 % und 5 % Al-Anteil sind die für OHAp typischen Strukturen noch deutlich erkennbar. Bei höheren Beimischungen von Al dominiert zunehmend ein stark amorpher Anteil.

se Verbindung stimmt in ihrer Kristallstruktur weitestgehend mit der von  $\beta$ -TCP überein, allerdings mit etwas kleineren Gitterparametern. Da die Reflexe in den Diffraktogrammen sich keiner der beiden Phasen eindeutig zuweisen ließen, ist davon auszugehen, dass auch in diesem Fall das Vorliegen einer Mischphase postuliert werden kann, die sich als  $\beta$ -TCP mit partieller Substitution von Kalziumatomen durch

<sup>8</sup>PDF-Nummer: 48-1192[45]

Aluminiumatome auffassen lässt. Eine mögliche Darstellung der stöchiometrischen Zusammensetzung ist durch die folgende Summenformel gegeben:



Diese Formel geht für  $x=1$  in reines  $\beta$ -TCP und für  $x=0$  in reines Kalziumaluminiumphosphat über. Dass die Zusammensetzung dieser Mischphase offensichtlich von der Menge der der Synthesereaktion zugefügten Aluminiumchloridlösung abhängt, zeigt die Abbildung 4.28, in der die beobachteten Linienpositionen des stärksten Peaks der zusätzlichen Phase gegen die Aluminiumzugabe aufgetragen sind. In den

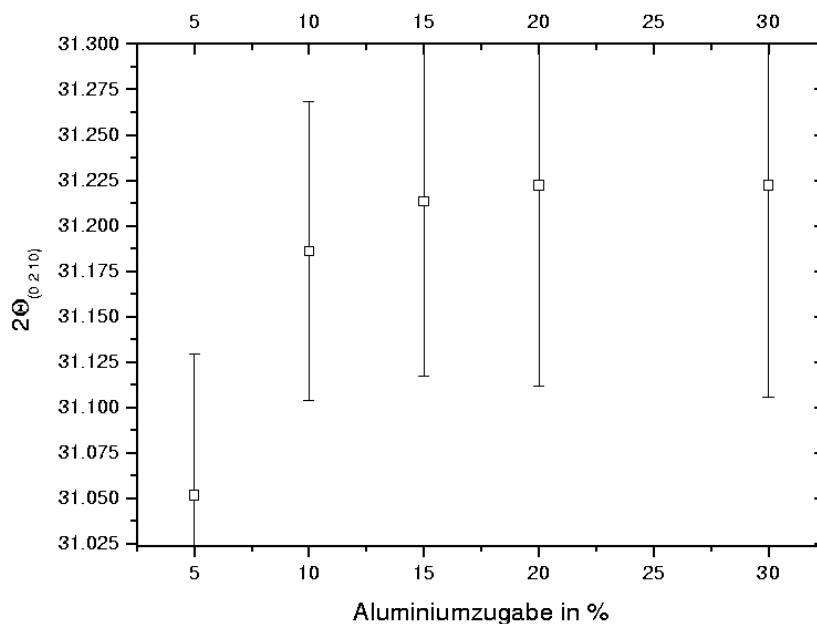


Abbildung 4.28: Linienpositionen des (0 2 10)-Peaks der aluminiumhaltigen Kalziumphosphatphase in Abhängigkeit vom Aluminiumzusatz. Die Fehlerbalken entsprechen den Standardabweichungen der Linienprofile. Alle Proben stammen aus der Versuchsreihe H24.

in Anhang C.8 gezeigten Diffraktogrammen der jeweils bei 900 °C und 1000 °C geheizten Proben der Serien H11 und H24 ist die Mischphase jeweils mit dem Namen der Phase bezeichnet, die den beobachteten Linienpositionen am besten entspricht. Es fiel auf, dass schon in den Diffraktogrammen der Proben mit sehr geringem Aluminiumanteil teilweise ausgeprägte Peaks von  $\alpha$ -TCP bzw.  $\beta$ -TCP zu erkennen waren, deren integrale Intensitäten allerdings bei den geringen Konzentrationen starken Schwankungen unterlagen. Sichtbar wird dies auch in der Betrachtung der wie in den vorhergehenden Abschnitten berechneten  $Q_{ah}$ -Werte (Gl. 4.1), die in Abbildung 4.29 gegen den Aluminiumgehalt der Proben aufgetragen sind. Für die bei

1000 °C geheizten Proben ließ sich ein deutlicher Anstieg der  $Q_{ah}$ -Werte mit steigenden Aluminiumanteilen beobachten. In den Proben mit höheren Anteilen ( $\geq 10\%$ ) konnte kein  $\alpha$ -TCP mehr eindeutig detektiert werden (siehe Diffraktogramme in Anhang C.9).

Auch der Anteil der  $\beta$ -TCP-Phase wurde quantitativ ausgewertet und in Form der  $Q_{bh}$ -Werte in Abb. 4.30 gegen die Aluminiumzugabe aufgetragen. Der Vergleich der Diagramme zeigt, dass der Anteil an  $\beta$ -TCP bei geringen Aluminiumkonzentrationen

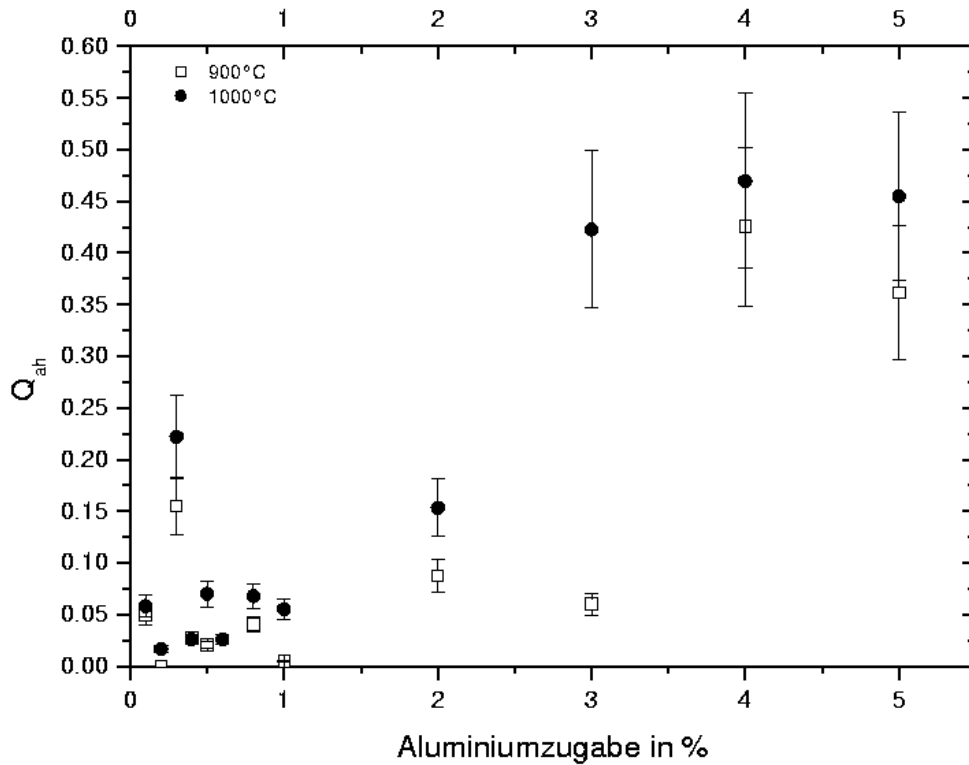


Abbildung 4.29:  $Q_{ah}$ -Werte der  $\alpha$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Aluminium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H11 und H24 nach einstündigem Heizen bei 900 °C und 1000 °C.

trationen in den Apatitproben noch stärkeren Schwankungen unterlag als der von  $\alpha$ -TCP. Zudem wirkte sich für Konzentrationen unter 2 % das Heizen bei 1000 °C viel stärker auf die  $Q_{bh}$ -Werte als auf die  $Q_{ah}$ -Werte aus. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, dass das  $\beta$ -TCP durch die thermische Dekomposition eines nichtstöchiometrischen Apatits erzeugt wurde. Bei 2 % Al-Zugabe ging der Anteil an  $\beta$ -TCP zunächst stark zurück, um mit steigender Al-Zugabe dann relativ gleichmäßig zuzunehmen. Oberhalb von 5 % dominierte dann nur noch die oben beschriebene Mischphase.

Die Ergebnisse zeigen, dass Aluminium bereits in kleinen Konzentrationen deutlich

Einfluss auf die Stöchiometrie und die Kristallinität der Bildung von Hydroxylapatit im basischen Modellsystem nimmt. Die zunehmenden Anteile an  $\alpha$ -TCP weisen darauf hin, dass Aluminium die Transformation von ACP zu OHAp in beträchtlichem Maße behindert. Dies steht in Einklang mit den in Abschnitt 2.2.4.2 genannten Literaturquellen, in denen eine Belegung der Wachstumsflächen von Apatitkristallkeimen durch Al-Ionen festgestellt wurde (Blumenthal[16]).

Ob Al-Ionen ins Apatitgitter eingebaut wurden, ließ sich anhand der XRD-

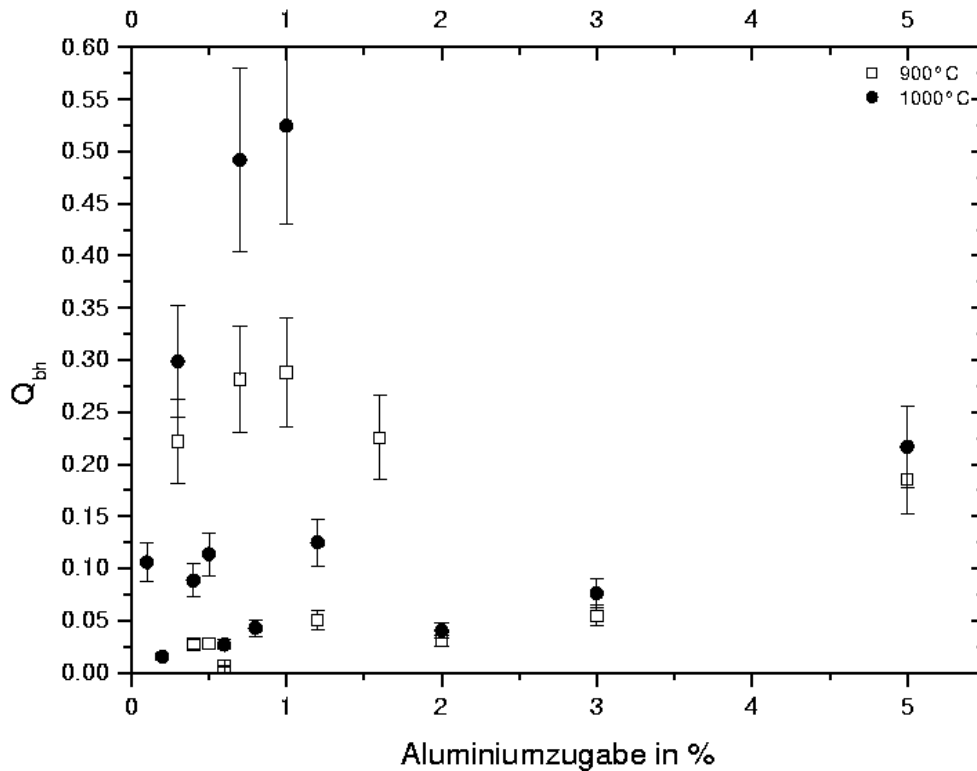


Abbildung 4.30:  $Q_{bh}$ -Werte der  $\beta$ -TCP-Phase (Gl. 4.1) für Aluminium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H11 und H24 nach einstündigem Heizen bei 900 °C und 1000 °C.

Messungen nicht eindeutig ermitteln, erscheint aber angesichts des kleinen Ionenradius des  $\text{Al}^{3+}$ -Ions (0,39 bis 0,54 Å) wahrscheinlich. Offensichtlich ist jedoch, dass sich Al-Ionen in der amorphen Kalziumphosphatphase anreichern, die dann teilweise zu nichtstöchiometrischem Apatit transformiert wird. Beim Heizen entsteht kristallines  $\alpha$ -TCP aus ACP. Die aluminiumhaltige Kalziumphosphatphase mit der Summenformel aus Gleichung 4.7 bildet sich wahrscheinlich aus der Dekomposition sowohl der ACP-Phase als auch der BCaP-Phase.



#### 4.1.2 Zusammenfassende Diskussion der Experimente im basischen Milieu

Alle Metalle, die als Additive zur OHAp-Synthese im basischen Modellsystem zum Einsatz kamen, zeigten definitiv Auswirkungen auf die Zusammensetzung und die Kristallstruktur der Reaktionsprodukte.

Kristallinität und Kristallitgröße der ungeheizten Pulverproben wurden durch alle

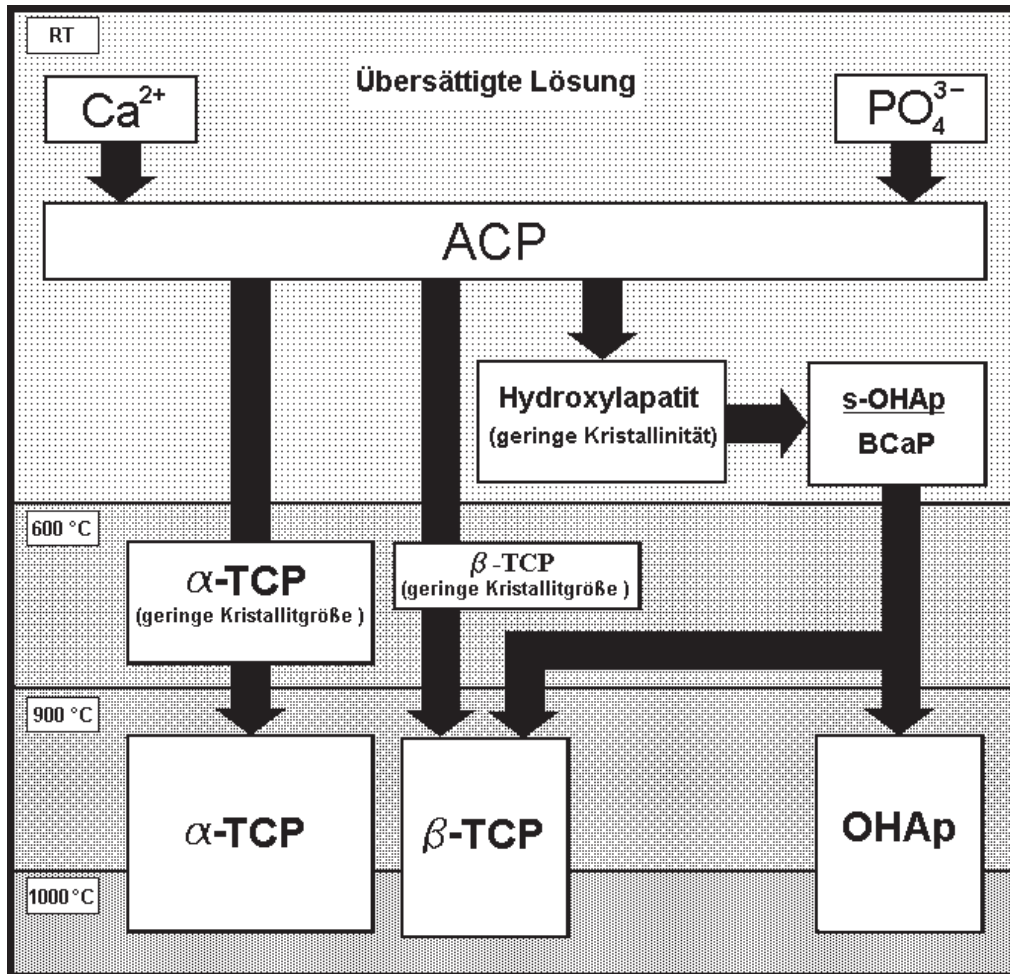


Abbildung 4.31: Schematische Darstellung der *in-vitro*-Mineralisation von OHAp im basischen Modellsystem sowie das Verhalten der auftretenden Phasen bei verschiedenen Temperaturen. Die Umwandlung von ACP zu Apatiten mit unterschiedlicher Stöchiometrie (hauptsächlich s-OHAp, durch Unterstreichung hervorgehoben) erfolgt bereits bei Raumtemperatur (RT). Die schwarzen Pfeile, die die Grenzen der Temperaturzonen überschreiten, repräsentieren Phasenumwandlungen, die durch den Heizvorgang induziert werden. Zur Erläuterung der Abkürzungen siehe Tabelle 2.1 in Abschnitt 2.2.

Metallionen beeinträchtigt. Röntgendiffraktometrisch wurde dies anhand der Verminderung der integralen Peakintensitäten bzw. der Vergrößerung der Peakbreiten gegenüber metallfrei präzipitierten OHAp-Proben belegt. Am schwächsten fiel der

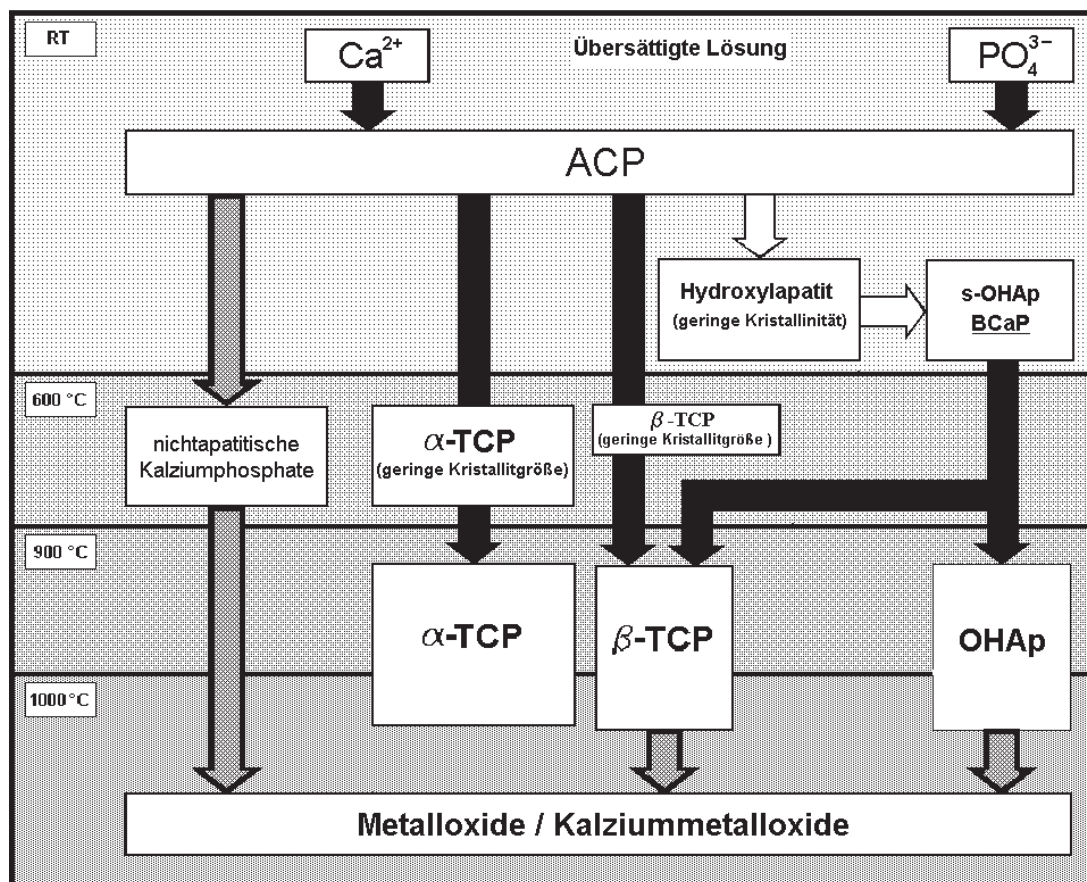


Abbildung 4.32: Schematische Darstellung der möglichen Einflüsse von Metallionen im basischen Modellsystem. Die Transformation von ACP zu OHAp wird behindert (weiße Pfeile), die Bildung von nichtstöchiometrischem Apatit begünstigt (BCaP unterstrichen). Die grauen Pfeile repräsentieren zusätzliche Reaktionswege, die ohne Metallionen nicht auftreten (vgl. Abb. 4.31). Bei allen Umwandlungsprozessen können Metallionen in die entstehenden Phasen inkorporiert werden und bei hohen Temperaturen zu Metalloxiden bzw. Kalziummetalloxiden weiterreagieren.

Effekt für Aluminium aus<sup>9</sup> (siehe Abb. 4.26), während Chrom den drastischsten Einfluss zeigte.

<sup>9</sup>Beim Vergleich der unterschiedlichen Metalle hinsichtlich ihrer Einflussstärke ist zu beachten, dass die Zugabemengen jeweils – wie in der Chemie üblich – in Massenprozent angegeben wurden, so dass bei einem Direktvergleich die jeweilige Atommasse berücksichtigt werden muss. Für Ti, V, Co und Cr sind die Unterschiede in den molaren Massen geringfügig ( $M_{Ti}=47,9$  g/mol,  $M_V=50,94$  g/mol,  $M_{Co}=58,39$  g/mol,  $M_{Cr}=52,0$  g/mol), während der Stoffmengenanteil im Falle von Al bei gleicher prozentualer Zugabemenge deutlich höher lag ( $M_{Al}=26,98$  g/mol).

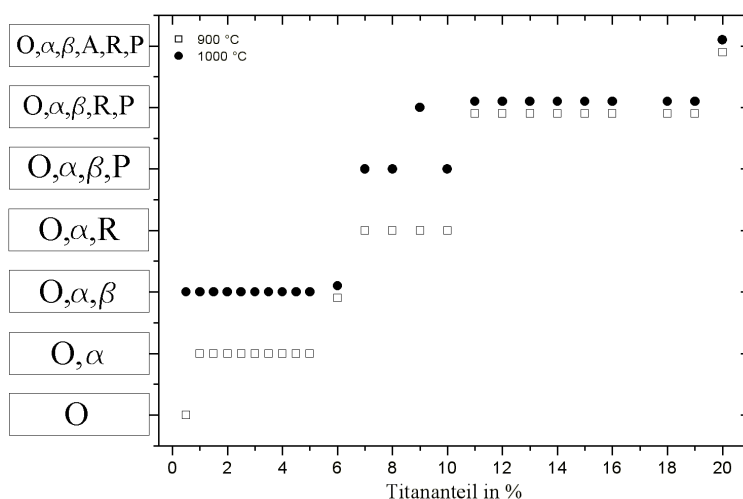


Abbildung 4.33: Qualitative Zusammensetzung der kristallinen Phase im basischen Modellsystem mit Titanzusatz in Abhängigkeit vom Titananteil und der Heiztemperatur. O = Hydroxylapatit,  $\alpha$  =  $\alpha$ -TCP,  $\beta$  =  $\beta$ -TCP, R = Rutil, A = Anatas, P = Perowskit.

Die Herabsetzung der Kristallinität und der Kristallitgröße wurde darauf zurückgeführt, dass die Transformation von amorphem Kalziumphosphat zu Hydroxylapatit (vgl. Abb. 2.15) und die Ausbildung großer Kristallite durch die Belegung von Wachstumsflächen durch die Metallionen behindert wurde.

Gemessener Effekt auf die Diffraktogramme der geheizten Proben		Einflüsse der Titanionen bei Raumtemperatur		
		Inhibition der Transformation von ACP zu OHAp	Beeinflussung der Stöchiometrie der Apatitphase	Inkorporation von Ti-Ionen in die Apatitphase
$T_{Heiz}$	Effekt			
ungeheizt	Verringerte Peakintensitäten			
600 °C	Verringerte Peakintensitäten			
	Bildung von Anatas			
900 °C	Bildung von Anatas			
	Bildung von Rutil			
	Bildung von $\alpha$ -TCP			
1000 °C	Bildung von Rutil			
	Bildung von Perowskit			
	Bildung von $\alpha$ -TCP			
	Bildung von $\beta$ -TCP			

Tabelle 4.3: Experimentell nachgewiesene Effekte von Titanionen auf geheizte Pulverproben. Die schwarzen Felder markieren, auf welchen Einfluss der Ti-Ionen auf das ungeheizte System die gemessenen Effekte jeweils zurückzuführen sind.

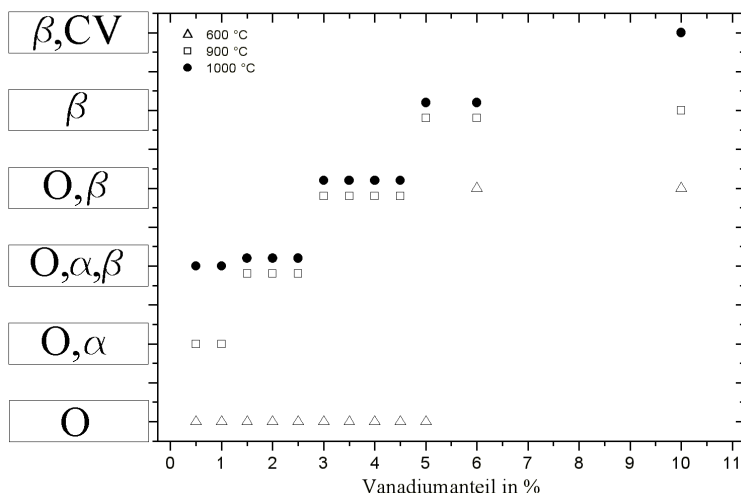


Abbildung 4.34: Qualitative Zusammensetzung der kristallinen Phase im basischen Modellsystem mit Vanadiumzusatz in Abhängigkeit vom Vanadiumanteil und der Heiztemperatur. O = Hydroxylapatit,  $\alpha$  =  $\alpha$ -TCP,  $\beta$  =  $\beta$ -TCP, CV =  $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$ .

Die Präzipitation von Hydroxylapatit aus einer übersättigten Lösung von  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{PO}_4^{3-}$ -Ionen ist schematisch in Abb. 4.31 dargestellt. Es werden außerdem in vereinfachter Form die Bildungswege der durch thermische Umwandlungen entstehenden Phasen gezeigt.

Abb. 4.32 zeigt das gleiche System in Anwesenheit von Metallionen (zum besseren

Gemessener Effekt auf die Diffraktogramme der geheizten Proben		Einflüsse der Vanadiumionen bei Raumtemperatur		
		Inhibition der Transformation von ACP zu OHAp	Beeinflussung der Stöchiometrie der Apatitphase	Inkorporation von V-Ionen in die ACP-Phase
$T_{\text{Heiz}}$	Effekt			
ungeheizt	Verringerte Peakintensitäten			
600 °C	Bildung von $\beta$ -TCP			
900 °C	Bildung von $\alpha$ -TCP			
	Bildung von $\beta$ -TCP			
1000 °C	Bildung von $\alpha$ -TCP (geringe V-Zugabe)			
	Bildung von $\beta$ -TCP			
	Bildung von $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$			

Tabelle 4.4: Experimentell nachgewiesene Effekte von Vanadiumionen auf geheizte Pulverproben. Die schwarzen Felder markieren, auf welchen Einfluss der V-Ionen auf das ungeheizte System die gemessenen Effekte jeweils zurückzuführen sind.

Verständnis ebenfalls in leicht vereinfachter Form). Dabei wurden sowohl die aus der Literatur bekannten Erkenntnisse, als auch die Ergebnisse der im basischen

Modellsystem durchgeführten Experimente einbezogen.

Die Abbildungen 4.33, 4.34, 4.35, 4.36 und 4.37 zeigen die unterschiedlichen Phasenkompositionen, die bei verschiedenen Metallanteilen und Heiztemperaturen in den Diffraktogrammen der Proben auftraten. In den Tabellen 4.3, 4.4, 4.5, 4.6 und 4.7 werden die grundlegenden Zusammenhänge zwischen den in den Röntgendiffraktogrammen auftretenden Effekten und deren Ursprung in den ungeheizten Proben dargestellt. Die im folgenden beschriebenen Phasen lagen nicht in den ungeheizten Präzipitaten vor, sondern wurden erst durch Umkristallisation und Dekomposition während der Heizvorgänge gebildet, die zur Erhöhung der Kristallitgröße dienten. Sie spielen daher keine unmittelbare Rolle für die Beurteilung der erzeugten Apatite unter biologischen Gesichtspunkten (siehe auch Abschnitt 4.3),

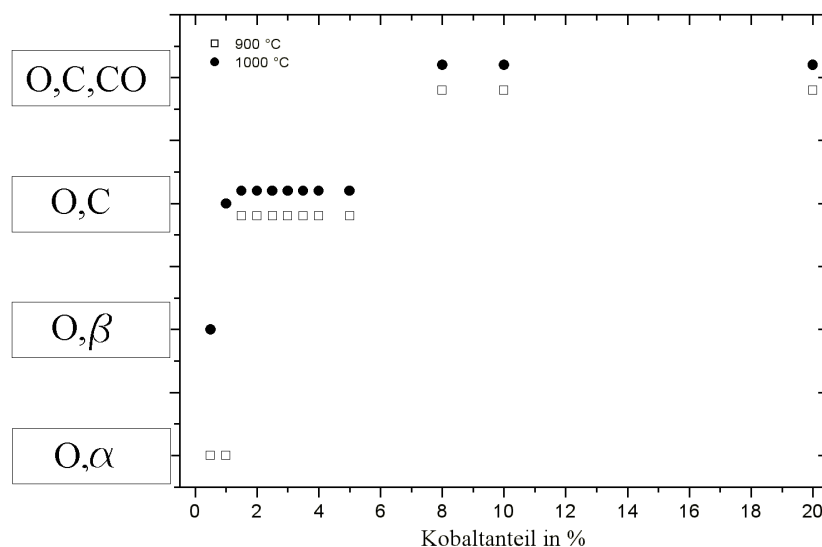


Abbildung 4.35: Qualitative Zusammensetzung der kristallinen Phase im basischen Modellsystem mit Kobaltzusatz in Abhängigkeit vom Kobaltanteil und der Heiztemperatur. O = Hydroxylapatit,  $\alpha$  =  $\alpha$ -TCP,  $\beta$  =  $\beta$ -TCP, C =  $\text{Ca}_{19+x}\text{Co}_{2-x}(\text{PO}_4)_{14}$ , CO =  $\text{Co}_3\text{O}_4$ .

ließen aber durch die Betrachtung der aus der Literatur bekannten Reaktionswege (siehe Abb. 4.31) Rückschlüsse auf die Veränderungen zu, die durch die zugesetzten Metallionen in den ungeheizten Proben hervorgerufen wurden. Die fünf Tabellen ermöglichen jeweils einen zusammenfassenden Überblick darüber, welche Aussagen aus den durch röntgendiffraktometrische Messungen gewonnenen Ergebnissen über die ungeheizten Pulverproben gemacht werden können.

In allen Versuchsreihen wurden nach dem Heizen zusätzliche Kalziumphosphate gefunden. Dabei wurde die Anwesenheit von  $\alpha$ -TCP auf die thermische Umformung von ACP zurückgeführt (vgl. Abschnitt 2.2.3.1).  $\alpha$ -TCP trat in erster Linie bei Titan- und Aluminiumzusatz auf. Die Tatsache, dass die Detektion von  $\alpha$ -TCP nicht unbedingt an eine signifikante Herabsetzung der Kristallinität der Apatitphase

gekoppelt war, lässt vermuten, dass die Metalle in unterschiedlicher Weise bzw. in verschiedenen Stadien der Transformation von ACP zu OHAp angriffen. Demzufolge würde eine geringe Ausbildung der  $\alpha$ -TCP-Phase bedeuten, dass der Einfluss der entsprechenden Metallionen weniger in der Inhibition der ACP-Transformation selbst als viel mehr in der Strukturänderung des Produktes dieser Transformation lag.

Gemessener Effekt auf die Diffraktogramme der geheizten Proben		Einflüsse der Kobaltionen bei Raumtemperatur		
		Inhibition der Transformation von ACP zu OHAp	Beeinflussung der Stöchiometrie der Apatitphase	Inkorporation von Co-Ionen in die Apatit-Phase
$T_{Heiz}$	Effekt			
ungeheizt	Verringerte Peakintensitäten			
	Untergrunderhöhung (bei allen Temp.)			
600 °C	Verringerte Peakintensitäten			
900 °C	Bildung von $\alpha$ -TCP (geringe Co-Zusätze)			
	Bildg. v. Mischphase aus $\beta$ -TCP und KKP			
1000 °C	Bildg. v. Mischphase aus $\beta$ -TCP und KKP			

Tabelle 4.5: Experimentell nachgewiesene Effekte von Kobaltionen auf geheizte Pulverproben. Die schwarzen Felder markieren, auf welchen Einfluss der Co-Ionen auf das ungeheizte System die gemessenen Effekte jeweils zurückzuführen sind. KKP = Kalziumkobaltphosphat ( $\text{Ca}_{19}\text{Co}_2(\text{PO}_4)_{14}$ ).

Für das Auftreten von  $\beta$ -TCP wurden zwei Ursachen angenommen, und zwar zum einen die thermische Dekomposition von nichtstöchiometrischem Apatit (BCaP), zum anderen die direkte Bildung als Seitenkanal der Transformation von ACP. Der erste Fall konnte immer postuliert werden, wenn  $\beta$ -TCP erst bei hohen Heiztemperaturen (ab 900 °C) gebildet wurde (vgl. Abschnitt 2.2.1.5). Dies war bei Ti, Co und Al der Fall. Bei Vanadium und Chrom hingegen konnte  $\beta$ -TCP bereits in Proben detektiert werden, die nur bei 600 °C geheizt wurden, allerdings nur bei relativ hohen Zugabemengen (6 % bei V, 20 % bei Cr). Der Anteil an  $\beta$ -TCP in den entsprechenden Proben bei höherer Heiztemperatur musste in diesen Fällen als das Resultat der Überlagerung zweier Reaktionsprozesse angesehen werden. Für Ti, V und Cr zeigten die auf OHAp bezogenen Anteile an  $\beta$ -TCP deutliche Zusam-

menhänge mit der jeweiligen Zugabemenge der Metallionen.

Die Metallionen selbst zeigten sich im Auftreten sehr unterschiedlicher zusätzlicher Phasen, die sich in den meisten Fällen erst nach dem Heizen bei hohen Temperaturen zeigten. Bei Titan waren dies Titanoxide unterschiedlicher Modifikation sowie  $\text{CaTiO}_3$ , während bei Vanadium nur  $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$  detektiert werden konnte. Bei Chrom konnte in Proben mit sehr hohem Metallanteil  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  entdeckt werden, welches sich allerdings auch schon nach Heizen bei 600 °C zeigte (bei 20 % Chromanteil).

Auch bei Kobalt zeigte sich eine zusätzliche Phase, die als  $\text{Co}_3\text{O}_4$  identifiziert wer-

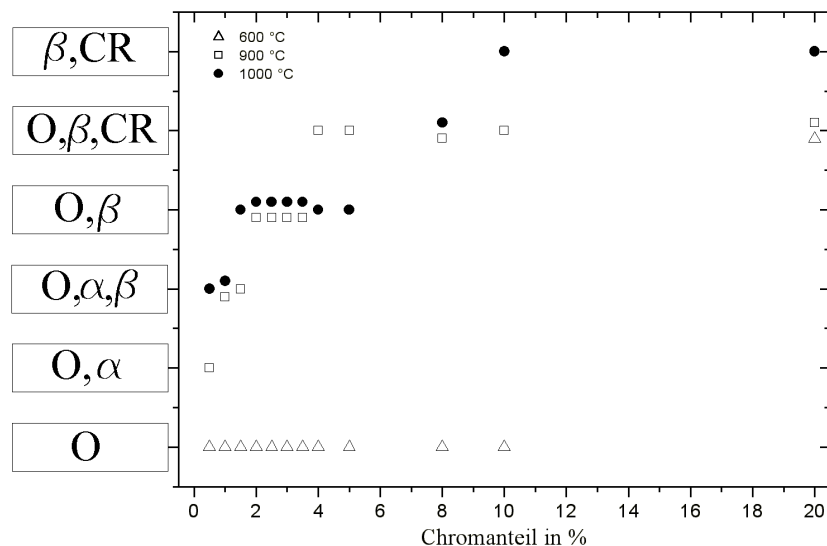


Abbildung 4.36: Qualitative Zusammensetzung der kristallinen Phase im basischen Modellsystem mit Chromzusatz in Abhängigkeit vom Chromanteil und der Heiztemperatur. O = Hydroxylapatit,  $\alpha$  =  $\alpha$ -TCP,  $\beta$  =  $\beta$ -TCP, CR =  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ .

den konnte. Jedoch wurde offensichtlich bei Kobalt und Aluminium der größte Teil der Metallionen in die Bildung der  $\beta$ -TCP-Phase miteinbezogen, so dass sich in den Diffraktogrammen der geheizten Proben jeweils eine neue Phase zeigte, deren Kristallstruktur der von  $\beta$ -TCP sehr ähnlich war, jedoch in Bezug auf diese relative Verschiebungen sämtlicher Röntgenreflexe aufwies. Im Falle von Aluminium konnte eine deutliche Korrelation der Verschiebung mit dem Al-Gehalt der Proben festgestellt werden, während bei Kobalt kein solcher Zusammenhang entdeckt werden konnte<sup>10</sup>. Bemerkenswert ist, dass nur bei  $\beta$ -TCP deutliche Linienverschiebungen

<sup>10</sup>Hierbei ist allerdings zu beachten, dass die Bestimmung der exakten Linienlagen sowohl durch die Messapparatur als auch durch die Positionierung der Probenoberfläche in der Messebene fehlerbehaftet war. Lag die Probenoberfläche 0,1 mm oberhalb der Messebene, so führte dies zu Verschiebungen der Linienpositionen um  $\Delta 2\theta \approx 0,05^\circ$  zu höheren Werten. Die Größe der Verschiebung war zwar winkelabhängig (Filies[34]), wich aber im Winkelbereich der relevanten Linienpositionen nur unwesentlich vom angegebenen Wert ab.

festgestellt wurden, nicht aber bei  $\alpha$ -TCP. Es ist denkbar, dass die Metallionen keinen merklichen Einfluss auf die thermische Umwandlung von ACP zu  $\alpha$ -TCP hatten. Aufgrund ihres höheren Elementarzellenvolumens hat die Kristallstruktur von  $\alpha$ -TCP eine höhere innere Energie und eine höhere thermische Stabilität als die von  $\beta$ -TCP (vgl. Abschnitt 2.2.2). Dies könnten Faktoren sein, die eine Inkorporation von Metallionen bevorzugt in das Kristallgitter von  $\beta$ -TCP stattfinden lassen. Die unterschiedlichen Resultate, die für die verwendeten Metalle ermittelt wurden,

Gemessener Effekt auf die Diffraktogramme der geheizten Proben		Einflüsse der Chromionen bei Raumtemperatur		
		Inhibition der Transformation von ACP zu OHAp	Beeinflussung der Stöchiometrie der Apatitphase	Inkorporation von Cr-Ionen in die ACP-Phase
$T_{Heiz}$	Effekt			
ungeheizt	Verringerte Peakintensitäten			
600 °C	Verringerte Peakintensitäten			
	Bildung von $\beta$ -TCP (bei 20 % Cr-Zusatz)			
	Bildung von $Cr_2O_3$ (bei 20 % Cr-Zusatz)			
900 °C	Bildung von $\alpha$ -TCP (geringe Cr-Zusätze)			
	Bildung von $\beta$ -TCP			
	Bildung von $Cr_2O_3$			
1000 °C	Bildung von $\beta$ -TCP			
	Bildung von $Cr_2O_3$			

Tabelle 4.6: Experimentell nachgewiesene Effekte von Chromionen auf geheizte Pulverproben. Die schwarzen Felder markieren, auf welchen Einfluss der Cr-Ionen auf das ungeheizte System die gemessenen Effekte jeweils zurückzuführen sind.

zeigen, dass die Metallionen in sehr individueller Weise an den einzelnen Punkten des gezeigten Schemas wirksam wurden. Dies ist ein wichtiger Aspekt für die Beurteilung der kristallisationshemmenden Einflüsse der verschiedenen Metalle im realen biologischen Umfeld.

Die in den folgenden Abschnitten dokumentierten Versuchsergebnisse wurden unter Bedingungen gewonnen, die sich schrittweise den physiologischen Gegebenheiten der *in-vivo*-Mineralisation von OHAp annäherten. Unter anderem sollten diese Experimente zur Einschätzung der biologischen Relevanz des basischen Modellsystems und zum besseren Verständnis der dadurch ermittelten Ergebnisse beitragen.



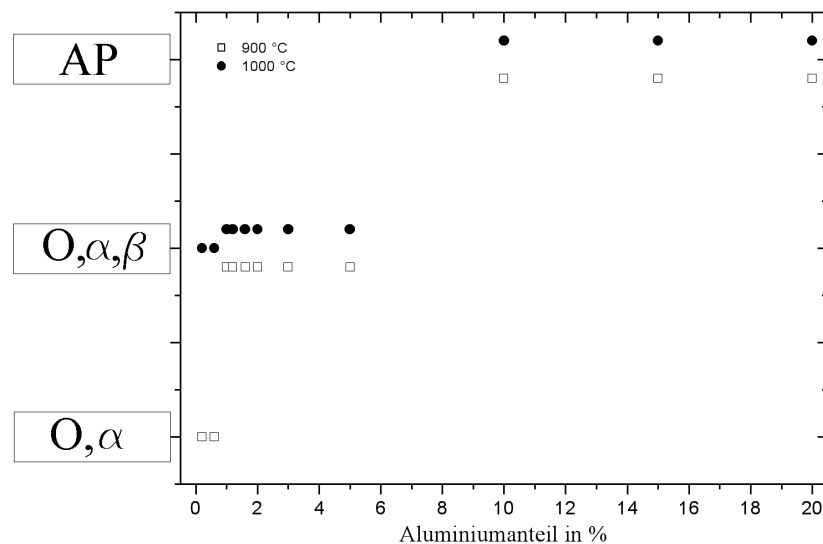


Abbildung 4.37: Qualitative Zusammensetzung der kristallinen Phase im basischen Modellsystem mit Aluminiumzusatz in Abhängigkeit vom Aluminiumanteil und der Heiztemperatur. O = Hydroxylapatit,  $\alpha$  =  $\alpha$ -TCP,  $\beta$  =  $\beta$ -TCP, AP =  $\text{Ca}_9\text{Al}_{1-x}(\text{PO}_4)_{7-x}$ .

Gemessener Effekt auf die Diffraktogramme der geheizten Proben		Einflüsse der Aluminiumionen bei Raumtemperatur		
		Inhibition der Transformation von ACP zu OHAp	Beeinflussung der Stöchiometrie der Apatitphase	Inkorporation von Al-Ionen in die ACP-Phase
$T_{\text{Heiz}}$	Effekt			
ungeheizt	Verringerte Peakintensitäten			
600 °C	Verringerte Peakintensitäten			
	Bildung von amorpher Phase ( $\beta$ -TCP + KAP)			
900 °C	Bildung von $\alpha$ -TCP			
	Bildg. v. Mischphase ( $\beta$ -TCP + KAP)			
1000 °C	Bildung von $\alpha$ -TCP			
	Bildg. v. Mischphase ( $\beta$ -TCP + KAP)			

Tabelle 4.7: Experimentell nachgewiesene Effekte von Aluminiumionen auf geheizte Pulverproben. Die schwarzen Felder markieren, auf welchen Einfluss der Al-Ionen auf das ungeheizte System die gemessenen Effekte jeweils zurückzuführen sind. KAP = Kalziumaluminiumphosphat ( $\text{Ca}_9\text{Al}(\text{PO}_4)_7$ ).

## 4.2 Biomineralisation im physiologischen Milieu

Die Mineralisation von Apatiten in physiologischem Milieu unterschied sich von dem zuvor besprochenen Modellsystem hauptsächlich in drei Punkten:

1. Die Versuchstemperatur wurde auf 37 °C gehalten.
2. Der pH-Wert betrug ca. 7,4.
3. Die Reaktionslösung enthielt neben den Hauptreaktanden zusätzliche Substanzen von biologischer Relevanz.

### 4.2.1 Synthese von Hydroxylapatit in SBF

Die chemischen Bestandteile von SBF (Synthetic Body Fluid) wurden bereits in Tabelle 3.4 in Abschnitt 3.1.2 aufgeführt. Der Hauptbestandteil der Ionen in SBF sind  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$ , jedoch sind auch geringe Mengen an  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{HPO}_4^{2-}$  enthalten. Die verwendeten Mengen an Kalziumnitrat und Diammoniumhydrogenphosphat waren deutlich höher als bei der zuvor behandelten Reaktion im basischen Milieu. Zudem betrug in der physiologischen Reaktion das Verhältnis von Kalzium zu Phosphor etwa 2,56<sup>11</sup>, während das Ca/P-Verhältnis im basischen Modellsystem bei 1,67 lag. Bereits das Lösen der Reaktanden in SBF erfolgte bei physiologischer Temperatur. Da sich in der SBF schon  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionen befanden, bildeten sich sowohl in der Kalziumnitratlösung als auch in der Diammoniumhydrogenphosphatlösung unlösliche Kalziumphosphate, die in Form von sehr kleinen Kristallkeimen vorlagen. Die Reaktion der beiden Mutterlösungen führte zur sofortigen Bildung eines schweren Niederschlags und zum Absinken des pH-Wertes. Dieser wurde durch die Zugabe von 12,5 %-iger Ammoniaklösung umgehend knapp über den vorherigen pH-Wert der SBF erhöht (siehe Abschnitt 3.1.2).

Die nach dem Filtern, Waschen und Trocknen erhaltenen Reaktionsprodukte zeichneten sich durch hohe Festigkeit aus. In den Diffraktogrammen der ungeheizten Proben konnte eine Verringerung der Kristallitgröße gegenüber in basischem Milieu produzierten Apatiten festgestellt werden, die entweder auf eine Erhöhung des amorphen Anteils oder auf eine verstärkte Einlagerung von Wasser hindeutete.

Die Kristallitgröße der in SBF präzipitierten Apatite erwies sich nach einstündigem Heizen bei 900 °C als deutlich höher als in entsprechenden Proben, die im basischen

---

<sup>11</sup>Die in der SBF bereits vorhandenen  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{HPO}_4^{2-}$ -Ionen konnten hierbei vernachlässigt werden.

Modellsystem erzeugt wurden. Abb. 4.38 zeigt dies sehr deutlich im direkten Vergleich. Im gezeigten Beispiel ist die Halbwertsbreite der betrachteten Peaks beim in basischer Lösung erzeugten Hydroxylapatit etwa um den Faktor 1,5 größer als bei der in SBF produzierten Probe. Für diese offenkundige Verbesserung der Kristallitgröße im physiologischen Milieu gibt es mehrere mögliche Ursachen: Die Anwesenheit mikroskopischer Kristallkeime in den unvermischten Mutterlösungen könnte ein unmittelbar nach dem Mischen der Mutterlösungen einsetzendes Kristallwachstum induzieren. Zum anderen wird durch die starke Übersättigung der Lösung die Ausbildung von stöchiometrischem OHAp unterstützt (vgl. Song[96]), was sich wiederum positiv auf die Kristallitgröße auswirkt. Desweiteren ist die Hydroxylapatitbildung

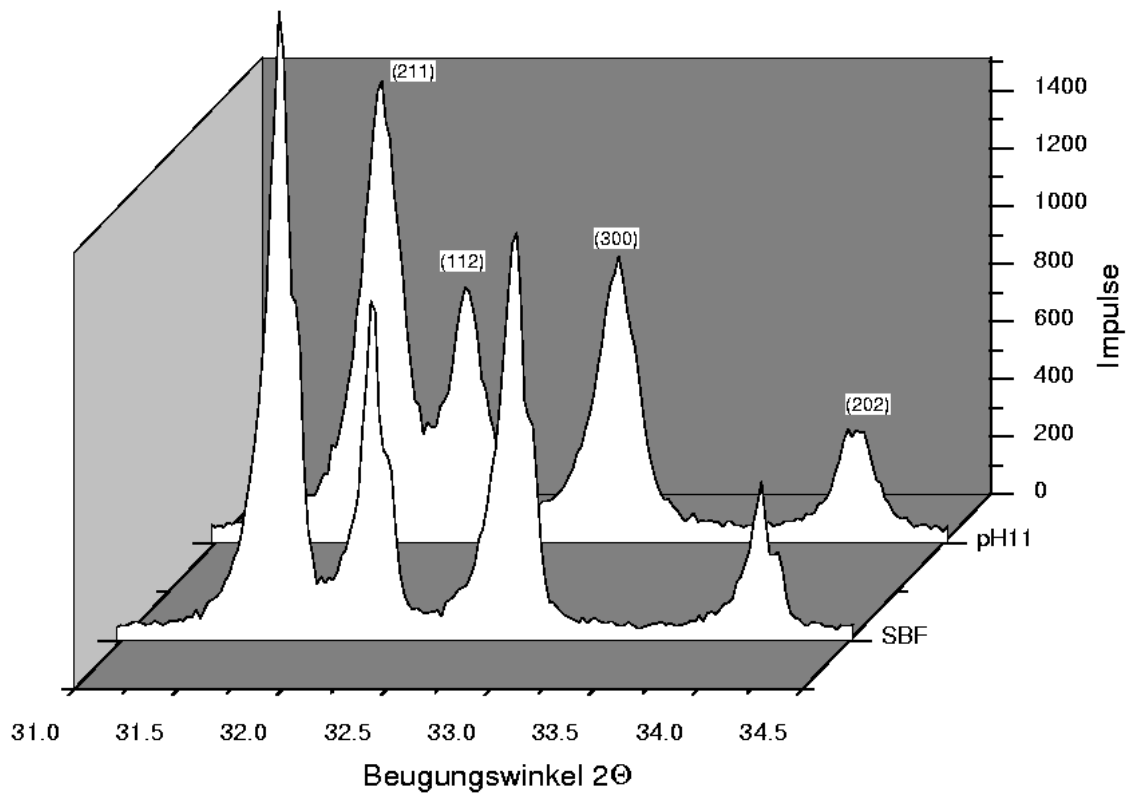


Abbildung 4.38: Diffraktogramme von Standard-OHAp aus basischer Synthese und aus SBF, jeweils für eine Stunde bei 900 °C geheizt.

auch ein zeitabhängiger Prozess, und die Reaktionszeit war bei der Synthese in SBF etwa doppelt so hoch wie im basischen Modellsystem. Dieser Aspekt konnte als ausschlaggebender Einfluss auf die Kristallitgröße jedoch bereits im Vorfeld der Hauptversuchsreihen ausgeschlossen werden, da entsprechende Versuche zeigten, dass auch bei Reaktionszeiten von weniger als zwei Stunden die Kristallitgröße der

erzeugten Proben gegenüber den im basischen System erhaltenen deutlich erhöht war.

Um den Einfluss der in der SBF vorhandenen Ionen zu überprüfen, wurde ein Test durchgeführt. Kalziumnitrat und Diammoniumhydrogenphosphat wurden nicht in SBF aufgelöst, sondern in deionisiertem Wasser. Der Kalziumlösung (125 ml) wurden 0,0335 g  $\text{N}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  zugesetzt, während die Phosphatlösung zusätzlich 0,046 g  $\text{CaCl}_2$  enthielt. Die Mengen der zugegebenen Salze entsprachen den Anteilen an der gleichen Menge SBF, so dass auf diese Weise lediglich die Interaktion zwischen  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{HPO}_4^{2-}$  in den Mutterlösungen betrachtet werden konnte.

In der Kalziumnitratlösung zeigte sich keine Kristallkeimbildung, diese trat erst nach Zugabe von 12,5 %-iger Ammoniaklösung auf. In der Phosphatlösung zeigten sich hingegen sofort Kristallkeime, da der pH-Wert dieser Lösung von vornherein bei etwa 8 lag. Nach dem Mischen wurde die Probe gemäß der in Abschnitt 3.1.2 beschriebenen Prozedur behandelt. Das Ergebnis zeigte gegenüber den bei basischem pH-Wert erhaltenen Apatiten keine signifikante Erhöhung der Kristallitgröße.

Die Ursache für die hohe Kristallitgröße der in SBF präzipitierten Apatite lässt sich offensichtlich nicht durch isolierte Produktionsparameter erklären, sondern ist auf deren komplexes Zusammenspiel zurückzuführen.

#### 4.2.1.1 Titan

Es wurden zwei Serien (H16 und H17) unter gleichen Bedingungen zu je sieben Proben mit verschiedenen Titanzusätzen produziert. Dabei war optisch zunächst kein Einfluss der Titanionen auf die Präzipitation zu erkennen, es bildeten sich Niederschläge von etwa gleichem Volumen in allen Reaktionsgefäßen. Nach dem Filtern, Waschen und Trocknen wurden die Reaktionsprodukte gewogen, um eventuelle Gewichtsunterschiede nachzuweisen. Es zeigte sich, dass mit steigendem Titananteil auch das Gewicht der Proben zunahm (siehe Abb. D.16 in Anhang D.1.4). Zudem waren die Proben mit hohem Titananteil deutlich voluminöser als die mit geringem Anteil. Diese Beobachtungen sprechen sowohl für eine Aufnahme von Titan in die festen Phasen der Proben als auch für eine Beeinflussung der Kristallstruktur.

Die Untersuchung der ungeheizten Proben durch XRD zeigte, dass die Kristallitgröße der Pulver etwas geringer war als in der Versuchsreihe der basisch produzierten Apatite. Dies zeigte sich darin, dass im letzteren Fall in den Diffraktogrammen der ungeheizten Proben bereits die Reflexe der Netzebenen (3 0 0) und (2 0 2) als einzelne Peaks zumindest ansatzweise erkennbar waren (vgl. Abb. 4.3 in Abschnitt 4.1.1.1), während diese Reflexe bei den unter physiologischen Bedingungen hergestellten Apatiten so stark miteinander überlappten, dass sie sich nicht voneinander trennen ließen (siehe Abb. 4.39).

Ein weiterer Unterschied zwischen den beiden Modellsystemen zeigte sich in der Be-

obachtung, dass geringe Titandosen praktisch keine Veränderung in den Diffraktogrammen der ungeheizten Proben bewirkten. Erst in der Probe mit 10 % Titananteil ließ sich eine Verbreiterung der Reflexe und eine Abnahme der integralen Intensität beobachten (siehe Abb. 4.39), was sowohl auf eine Beeinträchtigung der Kristallinität als auch auf eine Verringerung der Kristallitgröße hinwies. Im basischen Modellsystem hatten sich diese Effekte hingegen schon bei geringen Titanzusätzen deutlich gezeigt (vgl. Abb. 4.3).

Wie die basisch hergestellten Apatite wurden auch die in SBF präzipitierten Pulverproben jeweils für eine Stunde bei 900 °C und 1000 °C geheizt. Die zugehörigen Diffraktogramme finden sich in Anhang C.10 und C.11. Auch die titanhaltigen Pro-

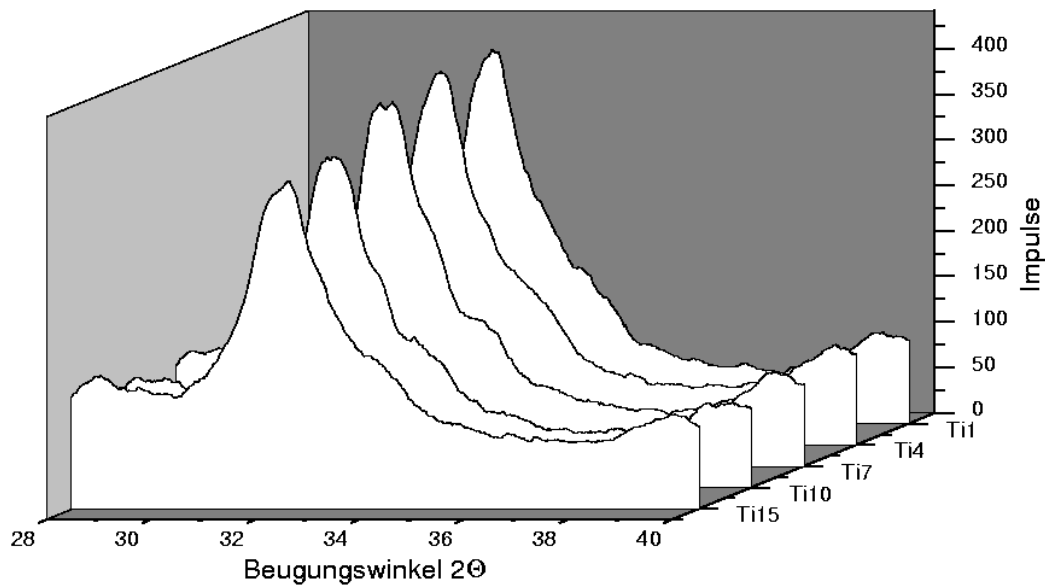


Abbildung 4.39: Diffraktogramme von in SBF erzeugten Proben mit 1 %, 7 %, 10 % und 15 % Titananteil (Serie H17), nicht geheizt.

ben wiesen nach dem Heizen eine deutlich höhere Kristallitgröße auf als die mit entsprechenden Titanzusätzen produzierten Proben der Versuchsreihen H9 und H9a. Zudem ließen sich zusätzliche Phasen erst bei relativ hohen Titanzusätzen in den Diffraktogrammen detektieren. In Serie H16 konnten Peaks von  $\beta$ -TCP ab einem Titananteil von 4 % beobachtet werden, wenn die Probe bei 1000 °C geheizt wurde. Wurde nur bei 900 °C geheizt, tauchten erst bei einem Titananteil von 10 % Peaks von  $\beta$ -TCP im Diffraktogramm auf. Andererseits wurden schon bei geringen Titanmengen (2–3 %) deutliche Reflexe von Perowskit ( $\text{CaTiO}_3$ ) sichtbar, und zwar bei beiden Heiztemperaturen. Bei Titananteilen ab etwa 5 % ließen sich zudem mehrere Reflexe beobachten, die die Anwesenheit von Anatas ( $\text{TiO}_2$ ) anzeigen.

Die Ergebnisse der Serien H16 und H17 unterschieden sich in erster Linie dadurch, dass in der zweiten Versuchsreihe bereits bei geringeren Titananteilen Reflexe von  $\beta$ -TCP in den Diffraktogrammen sichtbar wurden. Möglicherweise ist diese leichte Diskrepanz auf geringe Unterschiede in den nicht kontrollierten Laborbedingungen der zwei Versuchsreihen zurückzuführen. In beiden Serien jedoch wurde die Aus-

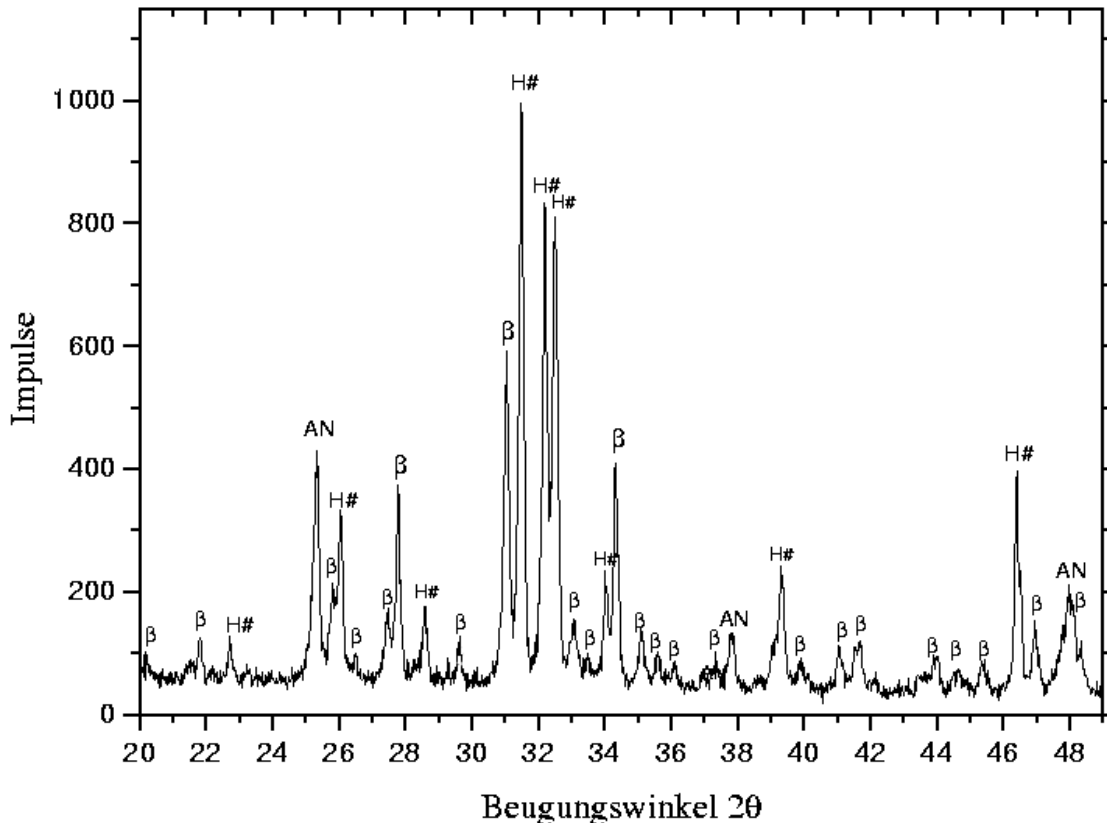


Abbildung 4.40: Diffraktogramm der in SBF erzeugten Probe H17\_15 mit 15 % Titanzusatz, nach einstündigem Heizen bei 1000 °C. **H#** = Apatit (Erläuterung siehe Text),  $\beta$  =  $\beta$ -TCP, **AN** = Anatas.

prägung der  $\beta$ -TCP-Phase jeweils durch das Heizen bei 1000 °C signifikant erhöht, was darauf hinweist, dass deren Bildung in erster Linie auf thermische Dekomposition der (offensichtlich von der idealen Stöchiometrie abweichenden) Hydroxylapatitphase zurückzuführen ist.

Abbildung 4.40 zeigt das Diffraktogramm einer Probe, die mit einem Titanzusatz von 15 % hergestellt und bei 1000 °C geheizt wurde. Es sind keine Peaks erkennbar, die auf Perowskit ( $2\theta \approx 47,5^\circ$ ) hinweisen, hingegen sind die Anatas-Peaks sehr ausgeprägt. Bemerkenswert ist außerdem die deutliche relative Verschiebung der

Apatit-Peaks. Während der (1 1 2)-Reflex sich in etwa an der gleichen Position befand wie in den Diffraktogrammen metallfrei produzierter Apatite ( $2\theta \approx 32,2^\circ$ ), erschien der (2 1 1)-Reflex um ca.  $0,3^\circ$ , der (3 0 0)-Peak sogar um  $0,4^\circ$  zu kleineren Beugungswinkeln verschoben. Diese Peaklagen standen in recht guter Übereinstimmung mit den PDF-Daten für ein chlorhaltiges Hydroxylapatit<sup>12</sup> mit der Summenformel  $\text{Ca}_{9,54}\text{P}_{5,98}\text{O}_{23,58}\text{Cl}_{1,6}(\text{OH})_{2,74}$ . Diese Struktur tauchte auch schon im Diffraktogramm der bei nur  $900^\circ\text{C}$  geheizten Probe auf, jedoch entsprach die integrale Intensität des (1 1 2)-Peaks für beide Heiztemperaturen nicht den PDF-Daten. Da in einer feinkörnigen Pulverprobe Textureffekte weitestgehend ausgeschlossen werden können, weist dieses Messresultat darauf hin, dass die Zusammensetzung der Probe nicht exakt durch die obenstehende Summenformel wiedergegeben wird.

In den Diffraktogrammen der Proben H16\_Ti10, H17\_Ti4,5 und H17\_Ti6 zeigte sich eine weitere Apatitstruktur, die sowohl hinsichtlich der Peakintensitäten als auch der Linienlagen mit der Verbindung  $\text{Ca}_{8,86}(\text{PO}_4)_6(\text{H}_2\text{O})_2$ <sup>13</sup> übereinstimmte (vgl. entsprechende Abbildungen in Anhang C.10 und C.11).

Diese deutlichen Änderungen in der Struktur der apatitischen Phase wurden im basischen Modellsystem nicht beobachtet. Daher ist anzunehmen, dass die offensichtlichen Abweichungen der Apatitstöchiometrie auf partielle Inkorporation von in der SBF enthaltenen Ionen (vornehmlich  $\text{Na}^+$  und  $\text{Cl}^-$ ) zurückzuführen sind. Die Bildung von Chlorapatit ließ sich bereits in Vorversuchen beobachten, in denen mit deutlich geringeren Konzentrationen von  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  gearbeitet wurde.

Auch wenn sich keine unmittelbare Korrelation zwischen dem Auftreten der modifizierten Apatite und der zugesetzten  $\text{TiCl}_3$ -Menge feststellen ließ, zeigten die Resultate doch ein verstärktes Auftreten dieses Phänomens bei den höheren Titananteilen. Offensichtlich nehmen auch bei der Apatitsynthese in SBF Titanionen Einfluss auf die Stöchiometrie der Reaktionsprodukte, die zudem eine erhöhte thermische Stabilität zu besitzen scheinen, wie das Bestehen der modifizierten Phasen bei  $1000^\circ\text{C}$  zeigt.

#### 4.2.1.2 Vanadium

Es wurden drei Experimente mit jeweils 1 %, 3 % und 10 % Vanadiumzusatz durchgeführt. Das Wägen der getrockneten Proben zeigte eine Zunahme an Substanzgewicht mit steigendem Vanadiumanteil, ein Anzeichen für die Bildung zusätzlicher Phasen oder für eine Änderung der Stöchiometrie im erzeugten Apatit.

Die Diffraktogramme der ungeheizten Proben (Abb. 4.41) zeigten eine leichte Ab-

<sup>12</sup>PDF-Nummer: 70-0795. In der entsprechenden Literaturquelle wird die abweichende Summenformel  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_{0,8}\text{OH}_{1,2}$  angegeben (Sudarsanan[97]).

<sup>13</sup>PDF-Nummer: 82-1943. Die Daten stammen aus Untersuchungen der Modifikation der Hydroxylapatitstruktur in Anwesenheit von Natrium und Kadmium (Jeanjean[46]).

nahme der integralen Intensität der drei überlappenden Hauptreflexe mit steigendem Vanadiumgehalt, jedoch in weitaus geringerem Maße als in den Diffraktogrammen der im basischen Modellsystem hergestellten Apatite (vgl. Abb. D.5 in Abschnitt D.1.2). Zudem ging die Abnahme der integralen Intensität im basischen System mit einer deutlichen Peakverbreiterung einher, während im hier vorliegenden Fall die Peakbreiten für alle drei Vanadiumanteile praktisch gleich waren. Offensichtlich war in den ungeheizten Proben die Abnahme der Kristallinität mit steigendem Vanadiumanteil nicht von einer Verringerung der Kristallitgröße begleitet. Abbildung 4.42

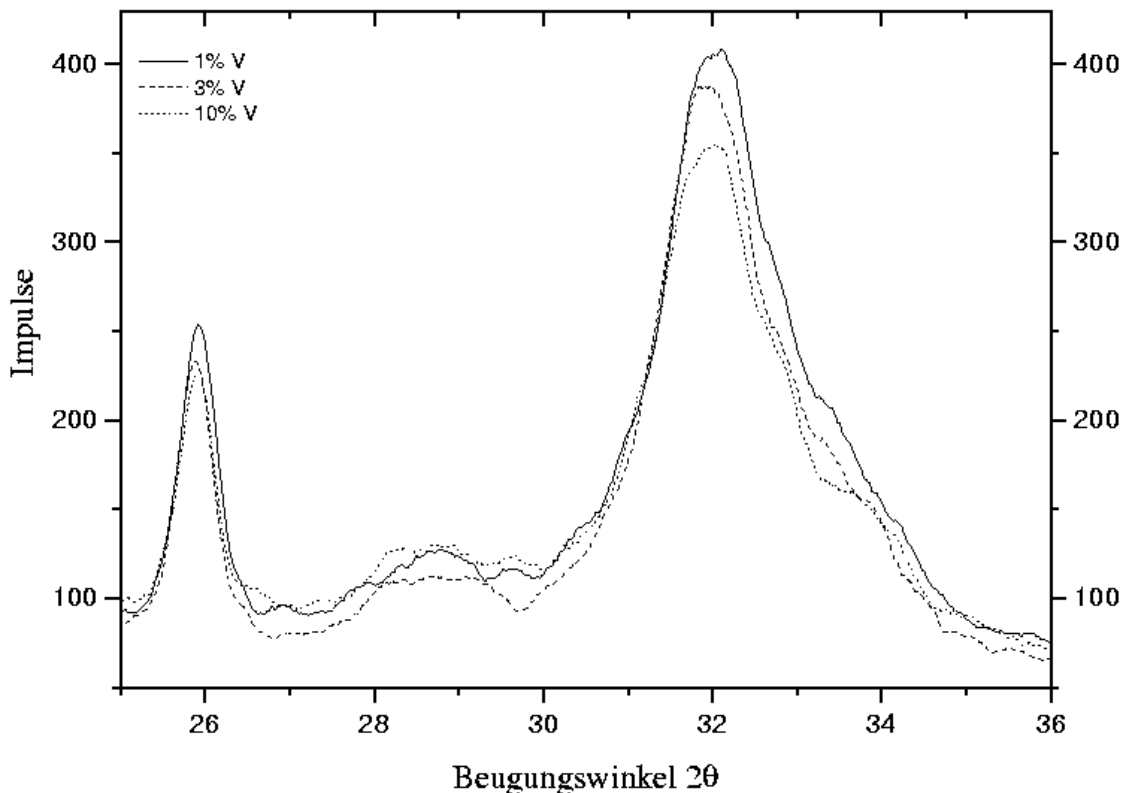


Abbildung 4.41: Diffraktogramm der drei Proben mit 1 %, 3 % und 10 % Vanadiumanteil. Die Proben wurden nicht geheizt.

zeigt die Diffraktogramme der Proben, nachdem sie jeweils eine Stunde bei 900 °C geheizt wurden. Wie auch im basischen System führte die thermische Behandlung zur Ausbildung von Reflexen, die sich  $\beta$ -Trikalziumphosphat zuordnen ließen. Weitere Phasen ließen sich nicht identifizieren. Auch das Heizen der Proben bei 1000 °C führte nicht zur Bildung weiterer Phasen (wie Kalziumvanadiumoxid in der Mineralisierung unter basischen Bedingungen, vgl. Abschnitt 4.1.1.2) sondern lediglich zur Verringerung der Peakbreiten in den vorhandenen Phasen.

Beim Vergleich der Linienlagen ließ sich ein ähnlicher Effekt beobachten wie im



basischen Modellsystem. Die Abstände der Hauptpeaks der  $\beta$ -TCP-Phase nahmen mit steigendem Vanadiumanteil leicht zu, und zwar derart, dass die Peakpositionen sich den theoretischen Werten der Whitlockitstruktur annäherten. Die Verschiebung war bei einer Heiztemperatur von 900 °C größer als bei 1000 °C. Ebenso zeigten

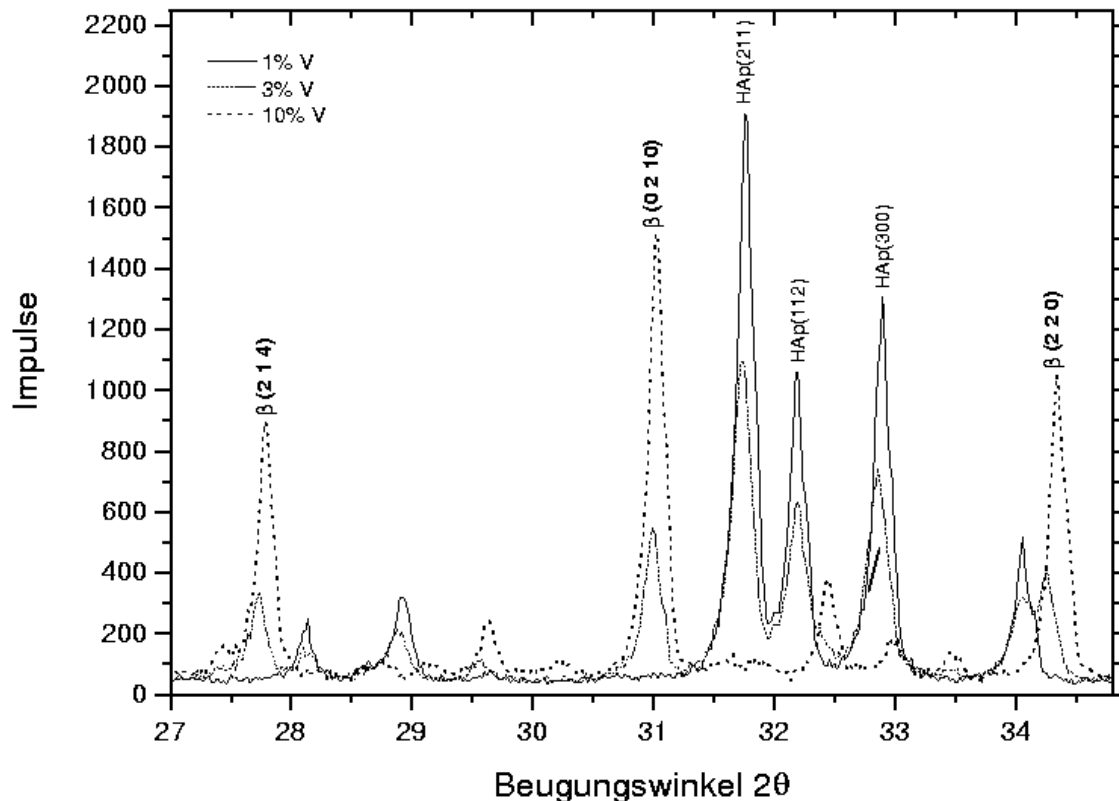


Abbildung 4.42: Diffraktogramme der drei bei 900 °C geheizten Proben mit 1 %, 3 % und 10 % Vanadiumanteil. Die wichtigsten Peaks von OHAp und  $\beta$ -TCP sind bezeichnet.

die Linienpositionen des (2 1 1)- und des (3 0 0)-Reflexes der apatitischen Phase bei einem Vanadiumanteil von 3 % geringfügige Verschiebungen zu kleineren Beugungswinkeln. Offensichtlich wurde auch hier die Stöchiometrie des Hydroxylapatits unter dem Einfluss der V-Ionen verändert, wie es auch die stark ausgebildete  $\beta$ -TCP-Phase nahelegt. Die Linienverschiebungen des  $\beta$ -TCP deuten zudem darauf hin, dass zumindest bei einem V-Anteil von 3 % die Struktur auch dieser Phase verändert wurde. Leider ließen sich hier die ausgeheizten Ionen nicht durch die Identifikation von  $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$  im Diffraktogramm nachweisen. Eine genaue Lokalisierung der Vanadiumionen sowie deren exakte Rolle in der Mineralisation von OHAp in SBF war daher nicht möglich.

### 4.2.1.3 Kobalt

Die Experimente mit Kobalt wurden unter den gleichen Bedingungen durchgeführt wie die im letzten Abschnitt besprochenen Versuche. Dabei fiel auf, dass die Niederschläge wesentlich voluminöser ausfielen als in den Präzipitationen mit Vanadiumzusatz. Nach dem Trocknen kehrte sich dieses Verhältnis ins Gegenteil um.

Das Gewicht der getrockneten Probe mit 10 % überstieg das Gewicht der Proben mit 1 % bzw. 3 % Anteil deutlich. Dieser Unterschied verschwand aber nach dem Heizen bei 900 °C, so dass davon ausgegangen werden kann, dass in der Probe mit 10 % Kobaltanteil lediglich größere Einschlüsse von Kristallwasser vorlagen.

Die in Abbildung 4.43 dargestellten Diffraktogramme der ungeheizten Proben

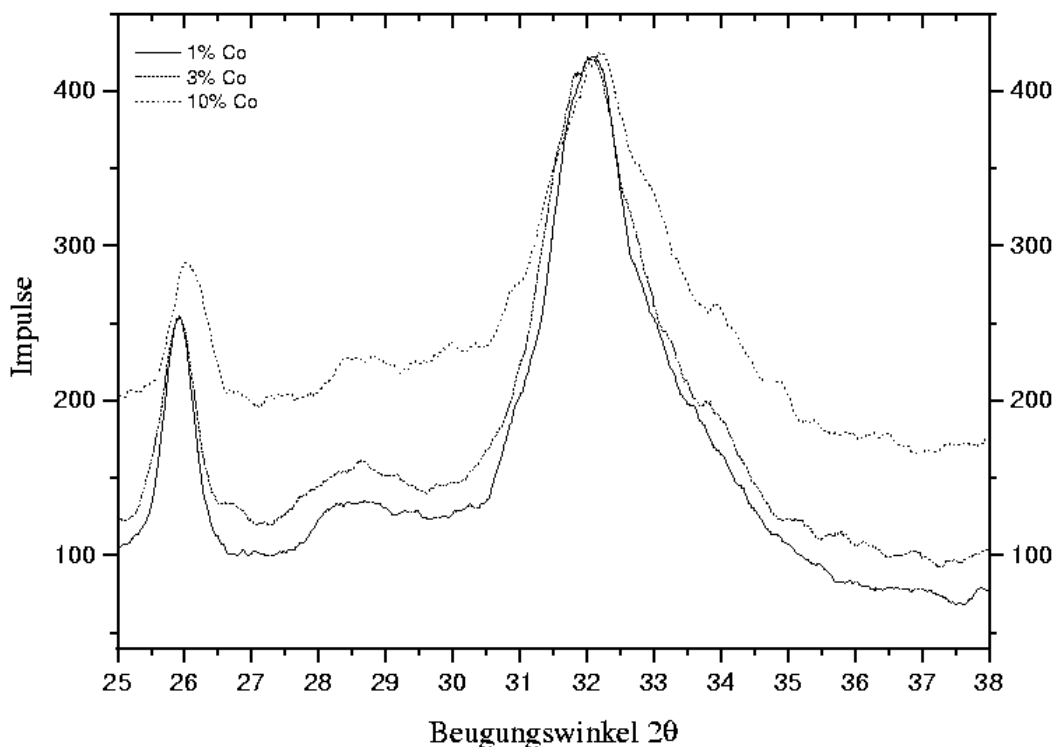


Abbildung 4.43:

Diffraktogramme der ungeheizten in SBF produzierten Apatite mit 1 %, 3 % und 10 % Kobaltanteil (Ausschnitt).

zeigen anhand der Verbreiterung der Peaküberlagerung deutlich die Verringerung der Kristallitgröße der Proben, wobei der hohe Untergrund wiederum auf die Röntgenfluoreszenz der in der Probe enthaltenen Kobaltatome zurückzuführen ist.

Die Abnahme der integralen Intensitäten zeigt zudem, dass die Kristallinität durch hohe Co-Anteile beeinträchtigt wurde.

Im Vergleich mit der Mineralisation im basischen Milieu (vgl. Abschnitt 4.1.1.3) fiel auf, dass die in SBF produzierte Probe mit 10 % Kobaltanteil sowohl eine geringere Kristallinität als auch eine geringere Kristallitgröße aufwies als die entsprechende Probe aus dem basischen System. Die quantitative Auswertung ergab für die SBF-Probe eine um etwa 50 % verringerte integrale Intensität und eine um etwa 22 % vergrößerte Peakbreite gegenüber der basischen Probe. Dieser deutliche Unterschied in Kristallinität und Kristallitgröße blieb auch in den geheizten Proben erhalten.

Nach einstündigem Heizen bei 900 °C zeigten alle drei Proben vergleichbare

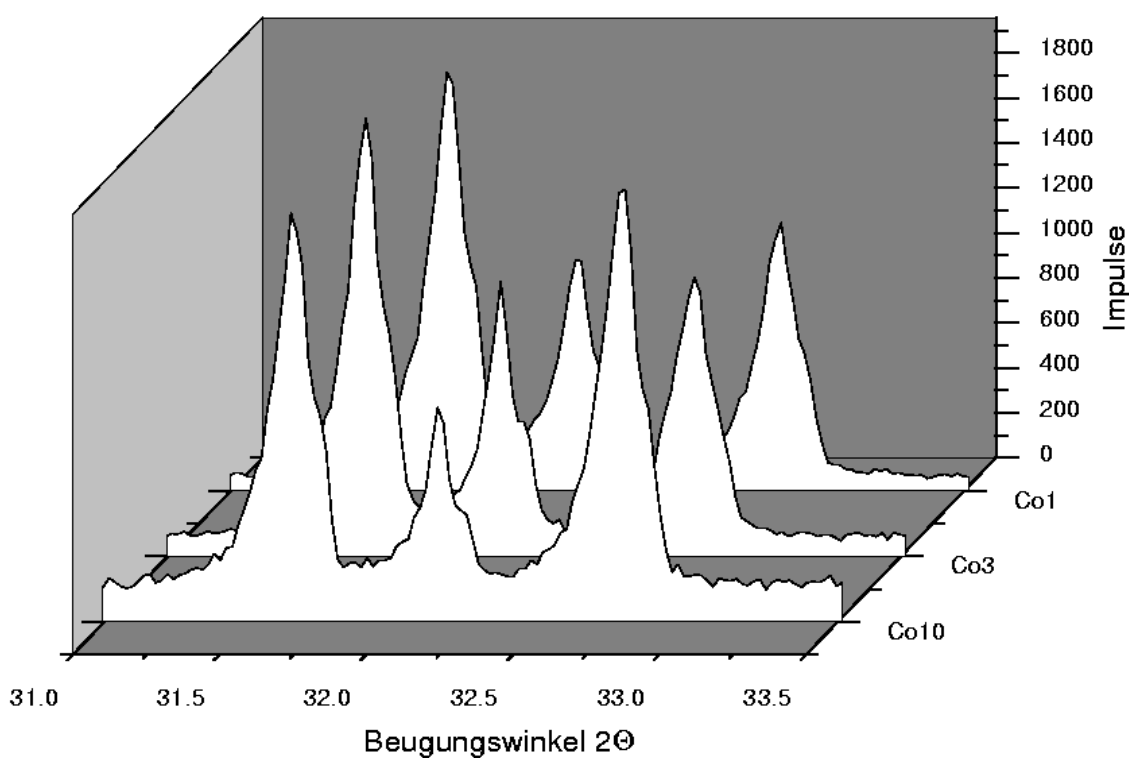


Abbildung 4.44:

Diffraktogramme der in SBF produzierten Apatite mit 1 %, 3 % und 10 % Kobaltanteil nach einstündigem Heizen bei 900 °C (Ausschnitt).

Peakbreiten und integrale Intensitäten. Im Gegensatz zu den im basischen Milieu durchgeführten Versuchen traten in den Diffraktogrammen keine zusätzlichen Peaks auf, die auf die Anwesenheit einer zusätzlichen Kalziumphosphatphase (speziell  $\text{Ca}_{19}\text{CO}_2(\text{PO}_4)_{14}$ , vgl. Abschnitt 4.1.1.3) hingewiesen hätten. Abb. 4.44 zeigt jedoch

im Diffraktogramm der Probe mit 10 % Kobaltanteil eine deutliche Erhöhung der integralen Intensität des (3 0 0)-Peaks bei  $2\Theta=32,9^\circ$ . Da die Proben in pulverisierter Form gemessen wurden, lässt sich dieses Phänomen nicht durch Textureffekte erklären, sondern muss als Indiz für eine Änderung der Kristallstruktur des Apatits gelten. Zudem zeigte ein direkter Vergleich mit den Diffraktogrammen reiner in SBF präzipitierter OHAp-Pulver eine leichte Verschiebung ( $\Delta 2\Theta \approx 0,5^\circ$ ) des (2 1 1)- und des (3 0 0)-Peaks, die mit steigendem Kobaltanteil größer wurde. Wurden die Proben bei  $1000^\circ\text{C}$  eine Stunde geheizt, nahmen sowohl die relative Verschiebung der Reflexe als auch die Abweichung im Verhältnis der Peakintensitäten wieder ab. In der JCPDS-Datei konnte keine Intensitätsverteilung gefunden werden, die sich mit dem Diffraktogramm der Probe mit 10 % Kobaltanteil hinsichtlich Peaklagen und Intensitäten in Übereinstimmung bringen ließ. Die oben dargestellten Resultate legen den Schluss nahe, dass die der Reaktion zugefügten Kobaltionen zu einem großen Teil von der Kristallstruktur des präzipitierten Apatits aufgenommen wurden. Als Nebeneffekt wurde Kristallwasser inkorporiert, wodurch sich die geringen Kristallitgrößen der ungeheizten Proben erklären lassen. Durch das Heizen bei  $900^\circ\text{C}$  bzw.  $1000^\circ\text{C}$  wurde zunächst das Kristallwasser aus den Proben getrieben und die Kristallitgrößen erhöht. Bei der höheren Temperatur wurden vermutlich zusätzlich die inkorporierten Co-Ionen zumindest teilweise aus der Kristallstruktur des Apatits ausgeheizt. Dabei stellt sich allerdings die Frage, warum sich im Diffraktogramm der bei  $1000^\circ\text{C}$  geheizten Proben keinerlei Reflexe einer zusätzlichen Phase ausmachen ließen. Möglicherweise führte das Erhitzen der Proben zu einer Migration der Metallionen aus der kristallinen Apatitphase an die große Oberfläche des Pulvers (vgl. Abschnitt 2.2.1.3), wobei sich zwar die Kristallstruktur wieder der von reinem OHAp annäherte, aber keine ausgeprägten Oxidphasen gebildet wurden, zumindest nicht in dem für die Detektion durch XRD erforderlichen Ausmaß. Dass auch nach dem Heizen Co-Ionen in den Pulverproben enthalten waren, zeigte sich sowohl durch deren Färbung, als auch durch das Auftreten des Fluoreszenzuntergrunds in den Röntgendiffraktogrammen.

Vergleicht man diese Resultate mit den Ergebnissen der Versuche im basischen Milieu, so wird deutlich, dass die Mineralisation von Hydroxylapatit in beiden Systemen sehr unterschiedlich durch Kobaltionen beeinflusst wird. Offensichtlich werden bei der Reaktion in SBF die Ionen relativ stabil in die Apatitstruktur eingebunden, während sich im basischen System eine Struktur bildet, die unter thermischem Einfluss schnell in zwei Phasen zerfällt. Betrachtet man die Apatitsynthese in SBF als Modellsystem, das hinsichtlich seiner biologischen Relevanz dem basischen System überlegen ist, so legt dies den Schluss nahe, dass Kobalt bei der *in-vivo*-Mineralisation von Hydroxylapatit eine starke Affinität zur kalzifizierten Knochensubstanz zeigen dürfte.

## 4.2.2 Zusatz von Proteinen

In den folgenden Abschnitten werden die Resultate einiger Experimente besprochen, in denen die Biomineralisation von Hydroxylapatit in SBF unter Zusatz von organischen Molekülen untersucht wurde.

### 4.2.2.1 Synthese von OHAp in SBF unter Zusatz von Albumin

Albumin bildet den Hauptanteil der Proteine im menschlichen Blut (vgl. Anhang B). Daher wurden einige Versuche angesetzt, in denen die als Reaktionsmedium dienende synthetische Körperflüssigkeit zusätzlich etwa 3,5 % Albumin enthielt. Die Reaktionen wurden unter Zugabe von  $\text{TiCl}_3$ ,  $\text{VCl}_3$  und  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  durchgeführt, wobei jeweils ein Versuch mit 1 %, 5 % und 10 % des betreffenden Metallions durchgeführt wurde. Zum Vergleich wurde die Reaktion außerdem auch ohne Zugabe von Metallionen durchgeführt.

Wie schon in Abschnitt 3.1.3.1 erläutert wurde, mussten die Versuche aufgrund

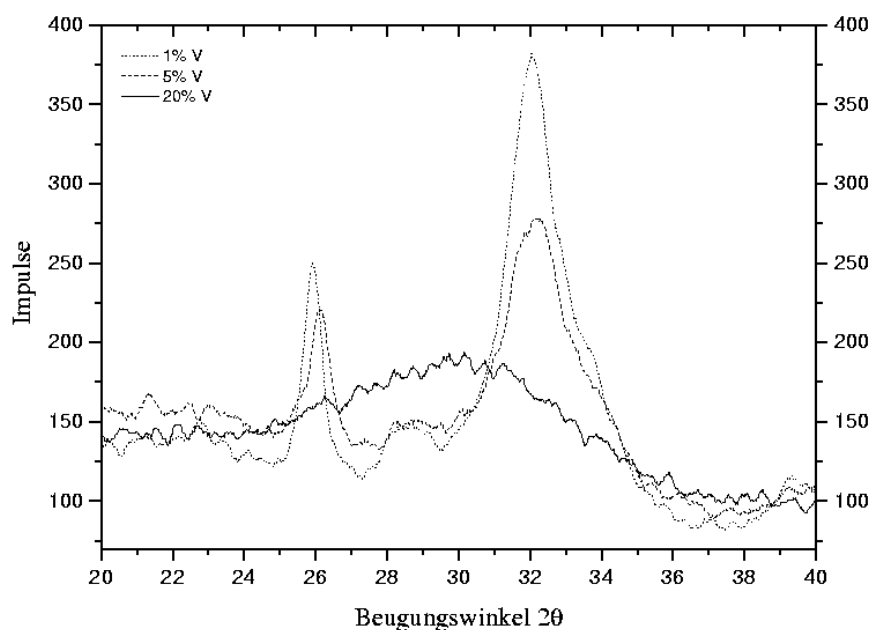


Abbildung 4.45:

Diffraktogramme der ungeheizten in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20% Vanadiumanteil.

des hohen erforderlichen Albuminanteils in wesentlich kleineren Volumina durchgeführt werden. Das Auflösen der Albuminkristalle in SBF erhöhte die Viskosität

der Flüssigkeit in beträchtlichem Maße. Dadurch wurde auch das Auflösen der Ausgangssubstanzen  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  und  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  im SBF/Albumin-Gemisch erschwert. Sowohl die Zugabe von  $\text{TiCl}_3$ -Lösung als auch von festem  $\text{VCl}_3$  führte zu einer unmittelbaren Reaktion in der Kalziumnitratlösung. Es bildeten sich Ausflockungen, die miteinander verklumpten und sich erst im Laufe der Reaktion wieder lösten, bis sich schließlich ein dickflüssiges, aber relativ homogenes Gemisch ergab. Bei der Zugabe von  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  trat ein solcher Effekt nicht auf, dafür bewirkte Kobalt bei einer Zugabemenge von 20 % eine signifikante Verringerung des Volumens des entstehenden Niederschlags, der beim Abfiltern auch nicht die für Apatitfällungen typische breiige Konsistenz aufwies. Die Ausbeute an fester Trockensubstanz war demzufolge

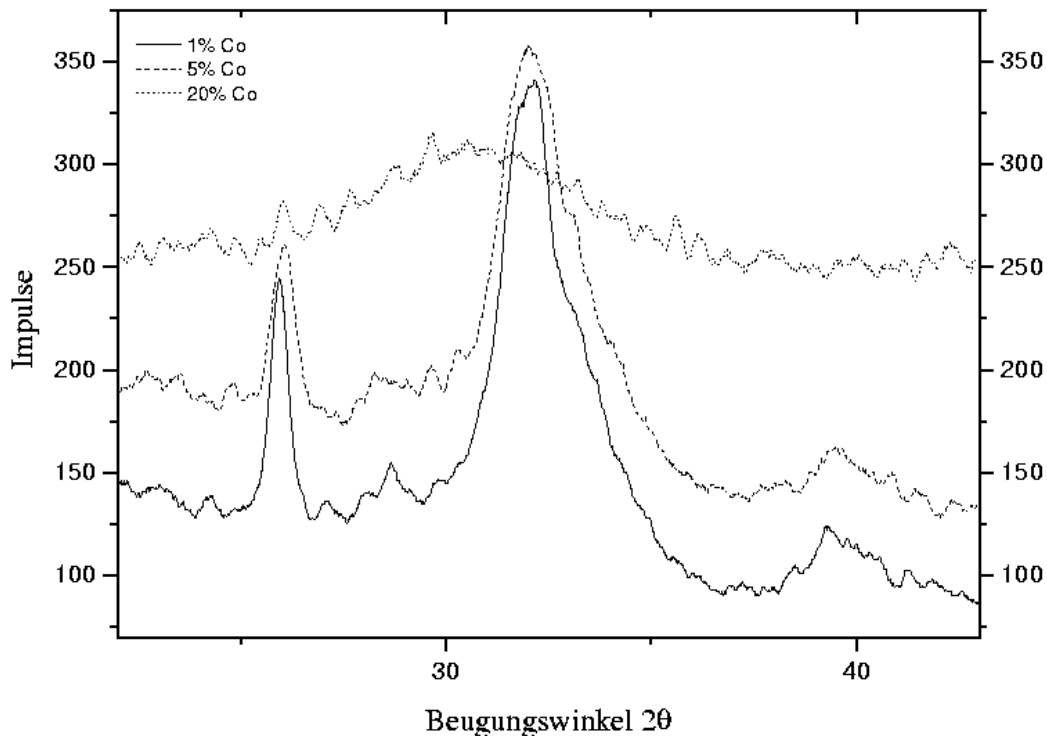


Abbildung 4.46:

Diffraktogramme der ungeheizten in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Kobaltanteil.

in diesem speziellen Fall geringer als in allen anderen Versuchen. Bei Metallsalzzugaben von 1 % und 5 % zeigten alle getrockneten Proben eine sehr harte Konsistenz. Bei einer Zugabe von 20 % zeigte neben der mit Kobalt(II)nitrat versetzten Probe auch die Probe mit Titananteil eine deutliche Verringerung der Festigkeit.

Im Diffraktogramm der metallfrei produzierten Referenzprobe ergaben sich im Vergleich zu den in reiner SBF präzipitierten Proben (vgl. Abschnitt 4.2.1) um et-

wa 50 % verringerte integrale Peakintensitäten und vergrößerte Peakbreiten bei erhöhtem Untergrund (siehe Abb. D.17 in Anhang D.1.5). Offensichtlich wirkte sich die Anwesenheit von Albumin sowohl negativ auf die Kristallinität, als auch auf die Größe der Kristallite aus. Nachdem die Proben jeweils eine Stunde bei 900 °C geheizt wurden, blieb der Unterschied in den Peakintensitäten erhalten, während die Peakbreiten nun bei der mit Albumin hergestellten Probe kleiner waren als bei den in reiner SBF produzierten (siehe Abb. D.18 in Anhang D.1.5). Dies legt die Vermutung nahe, dass in den albuminhaltigen Apatitproben weniger kristallines Material vorlag, dessen Kristallite jedoch größer waren als in den reinen SBF–Apatiten. Hinsichtlich der Phasenlagen wichen die in SBF hergestellten Proben mit und ohne Albumin nicht signifikant voneinander ab. Insbesondere konnte kein Trikalziumphosphat detektiert werden.

Die Diffraktogramme der ungeheizten Proben mit Titanzusatz zeigten nur geringe

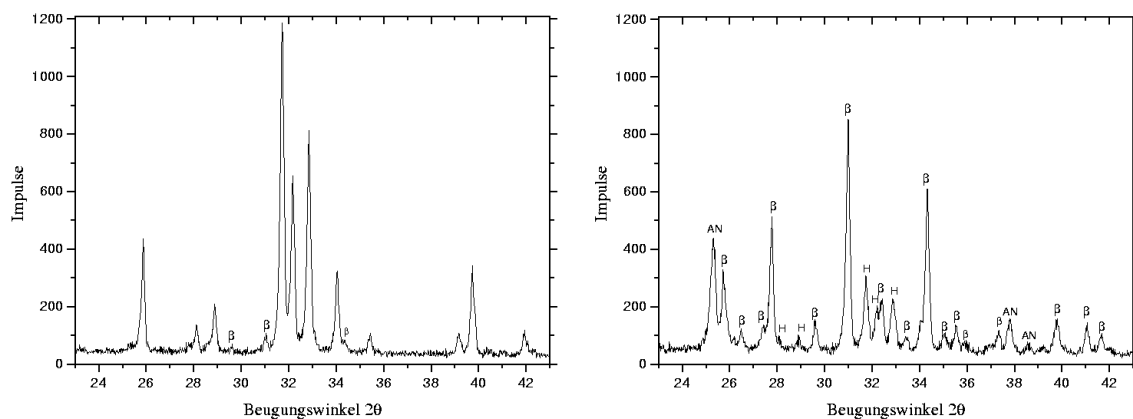


Abbildung 4.47: Diffraktogramme der Proben H20\_Ti1 und H20\_Ti20 mit 1 % (links) und 20 % Ti (rechts), nach einstündigem Heizen bei 900 °C. Im linken Diffraktogramm sind nur die Reflexe der  $\beta$ -TCP-Phase markiert, alle anderen Peaks gehören zu OHAp.

Unterschiede. Zwar nahm mit steigendem Titananteil das Verhältnis von integraler Intensität zu Peakbreite etwas ab, jedoch blieb die für ungeheizte Apatite typische Struktur stets erhalten.

Einen deutlicheren Einfluss zeigte Vanadium. Wie in Abb. 4.45 zu sehen ist, nahm die Ausprägung der Apatitstruktur bei einer Vanadiumzugabe von 5 % drastisch ab. Bei 20 % war praktisch keine kristalline Struktur mehr erkennbar. Bei Kobalt fiel der Effekt in vergleichbarem Ausmaß aus (siehe Abb. 4.46), wobei die relative Verbreiterung der überlappenden Peaks sich mit der Anhebung des Untergrunds durch die Röntgenfluoreszenz des Kobalts überlagerte (vgl. Abschnitt 4.1.1.3). Beim Heizen der Proben trat in allen Fällen ein unangenehmer Geruch auf, der anzeigte, dass das in den Pulverproben gebundene Albumin in den gasförmigen Zustand überging. Wie

bereits erwähnt, ließen sich die Proben nur im feingemörserten Zustand erhitzen, da es sonst zu starker Rauchbildung und zur Verkohlung der organischen Bestandteile kam, die die Pulver für die Messungen unbrauchbar machte.

Abb. 4.47 zeigt eine Gegenüberstellung der Diffraktogramme der Proben mit 1 % und 20 % Titananteil. Bei geringem Titanzusatz bildete sich eine deutlich identifizierbare OHAp-Struktur mit zusätzlichen Reflexen von relativ geringer Intensität, die sich eindeutig als  $\beta$ -TCP identifizieren ließen. Bei einem Titananteil von 20 % traten im Diffraktogramm deutliche Peaks auf, die sich als Anatas identifizieren ließen. In der (nicht gezeigten) Probe mit 5 % Titan trat statt Anatas Perowskit auf. Im Vergleich zur Apatitsynthese in reiner SBF zeigten sich deutliche Reflexe von  $\beta$ -TCP schon bei einem Titananteil von 1 %, während die SBF-Proben in der Regel bei 1000 °C geheizt werden mussten, um die Phase bei Titananteilen unter 5 % sichtbar zu machen.

Auch in der mit 1 % Vanadium produzierten Probe traten bereits deutlich sicht-

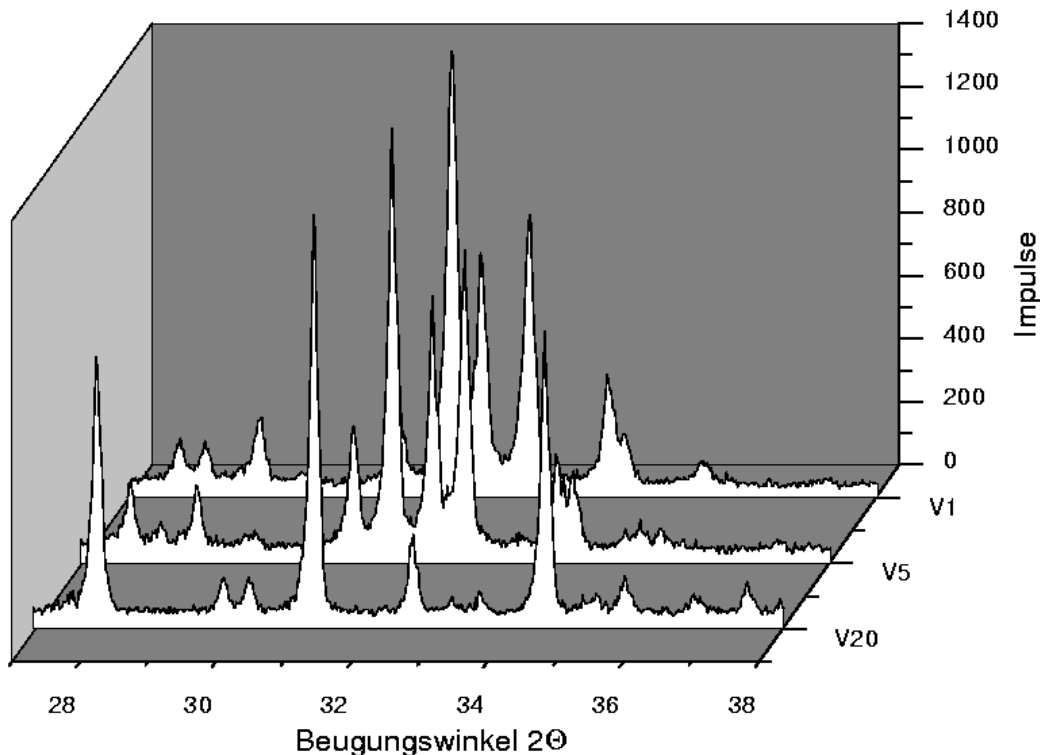


Abbildung 4.48:

Diffraktogramme der in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Vanadiumanteil, nach einstündigem Heizen bei 900 °C.

bare Reflexe von  $\beta$ -TCP auf (siehe Abb. 4.48), während das Diffraktogramm der entsprechenden Probe aus der SBF-Serie ausschließlich OHAp-Peaks enthielt (vgl.



Abb. 4.42 in Abschnitt 4.2.1.2). Bei 5 % V-Anteil trat eine deformierte Apatitstruktur auf, deren Reflexmuster am besten einem in der JCPDS-Datei enthaltenen Hydroxylapatit mit Chloranteil<sup>14</sup> ( $\text{Ca}_{4,905}(\text{PO}_4)_{3,014}\text{Cl}_{0,595}(\text{OH})_{1,67}$ ) entsprach. Diese Struktur war bereits bei der Mineralisation von OHAp in SBF mit hohen Titananteilen beobachtet worden (vgl. Abschnitt 4.2.1.1). In der Probe mit 20 % Vanadium

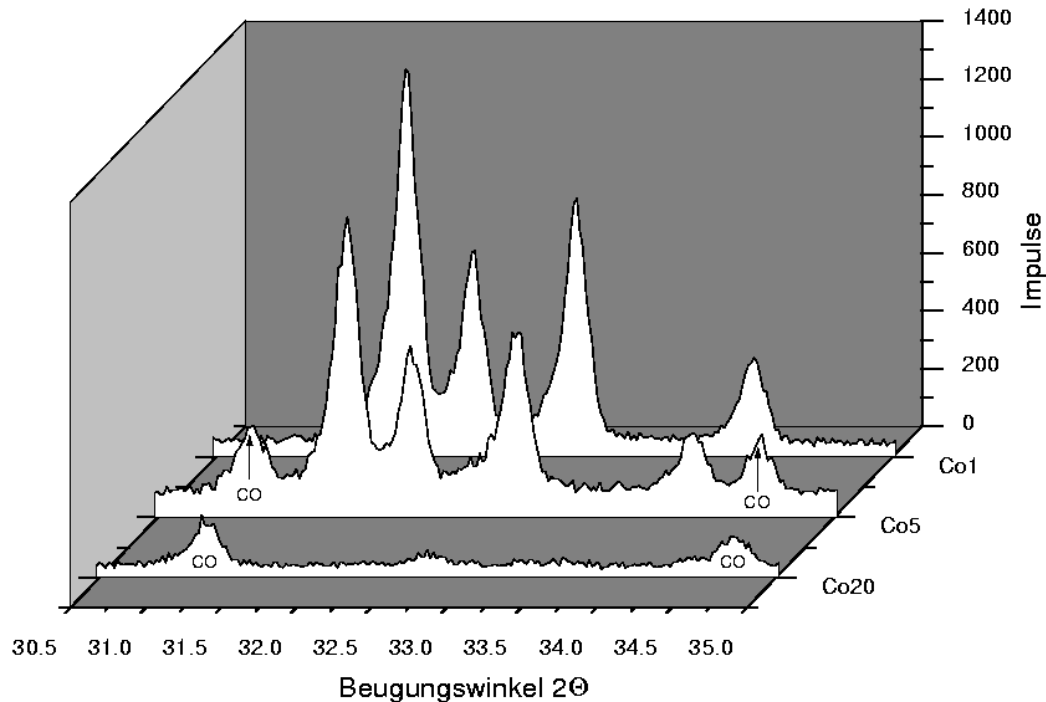


Abbildung 4.49:

Diffraktogramme der in SBF und Albumin produzierten Apatite mit 1 %, 5 % und 20 % Kobaltanteil, nach einstündigem Heizen bei 900 °C. Die geringe Intensität der Reflexe im Diffraktogramm der mit 20 % versetzten Probe ist höchstwahrscheinlich auf die geringe Substanzmenge zurückzuführen (siehe Abschn. 3.2.2). *CO* = Mischphase aus  $\beta$ -TCP und Kalziumkobaltphosphat.

war schließlich keinerlei Apatitstruktur mehr erkennbar. Die dominierende Phase im Diffraktogramm war  $\beta$ -TCP, allerdings mit leicht verschobenen Peaks, was auf eine geringfügige Deformierung der Kristallstruktur durch Einbau von Fremdatomen schließen ließ. Desweiteren trat wie bereits im basischen Modellsystem Kalziumvanadiumoxid ( $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$ ) auf.

Die kobalthaltigen Proben zeigten nach dem Heizen gegenüber den in reiner SBF

<sup>14</sup>PDF-Nummer: 70-0794

produzierten Apatiten eine leicht verringerte Kristallinität. Bei 5 % Kobaltanteil zeigte sich ein hoher Anteil einer zusätzlichen Phase (siehe Abb. 4.49), die ähnliche Eigenschaften wie die in den basischen Präzipitationen beobachtete Phase aufwies (vgl. Abschnitt 4.1.1.3). Auch hier näherten sich die Reflexe bei höherem Kobaltanteil der Struktur von Kalziumkobaltphosphat ( $\text{Ca}_{19}\text{Co}_2(\text{PO}_4)_{14}$ ) an, die bei 20 % Kobaltanteil die einzige im Diffraktogramm sichtbare Phase darstellte.

Bei einem Vergleich der unterschiedlichen Modellsysteme fällt auf, dass die Verbesserungen, die durch die Durchführung der Apatitsynthese in SBF hinsichtlich Kristallitgröße<sup>15</sup> und Phasenreinheit erreicht wurden, durch die Verwendung von Albumin wieder rückgängig gemacht wurden. Im Falle von Vanadium und Kobalt wurde der negative Einfluss der Ionen in Anwesenheit von Albumin sogar noch verstärkt. Untersuchungen von Bender et al.[10] haben Hinweise geliefert, dass Albumin die Löslichkeit von Hydroxylapatit erhöhen kann, was im System der für die vorliegende Arbeit durchgeführten Messungen einem kristallisationshemmenden Einfluss gleichkommen würde.

#### 4.2.2.2 Synthese von OHAp in SBF unter Zusatz von Gly–Gly–Gly und Gly–Pro–Gly–Gly

Während die Experimente in SBF und Albumin der weiteren Annäherung an die physiologischen Bedingungen der Biomineralisation dienten, erfolgten die Versuche in Anwesenheit von Polypeptiden unter dem Gesichtspunkt der möglichen Unterbindung von schädlichen Einflüssen durch Metallionen. Die Erhöhung der Biokompatibilität bzw. Bioaktivität orthopädischer Materialien durch keramische Beschichtungen mit eingeschlossenen Biomolekülen ist in jüngster Zeit ins Interesse der Prothetik gerückt.

Die Polypeptide Gly–Gly–Gly und Gly–Pro–Gly–Gly, die in Anhang B näher beschrieben werden, lagen nur in geringer Menge vor, so dass nur wenige Versuche durchgeführt werden konnten. Es wurden vier Apatite in SBF mit Gly–Gly–Gly präzipitiert, von denen drei zusätzlich 3 % Titan, Vanadium oder Kobalt enthielten. Die Reaktionen wurden analog zur Mineralisation in reiner SBF durchgeführt, wobei allerdings die Reaktionsvolumina von 250 ml auf 100 ml verringert wurden. Während der Reaktion ließ sich kein Einfluss des Polypeptids auf den Ablauf der Niederschlagsbildung feststellen. Die Präzipitation verlief genauso wie in reiner SBF, und auch die Konsistenz der Reaktionsprodukte zeigte keine signifikanten Unterschiede zu den ohne Polypeptide hergestellten Proben.

In Abbildung 4.50 sind die Diffraktogramme der getrockneten Pulver vor dem Heizen dargestellt. Im Diffraktogramm der mit Titanchlorid versetzten Probe

---

<sup>15</sup>bezogen auf die geheizten Proben

war keine Abweichung vom metallfreien Apatit erkennbar, weshalb auf eine gesonderte Darstellung verzichtet wurde. Bei Kobalt zeigte sich – wie auch in den SBF-Experimenten – eine leichte Zunahme der Peakbreite und eine Abnahme der integralen Intensität sowie der für Kobalt typische Fluoreszenzuntergrund.

Die mit Vanadiumchlorid versetzte Probe zeigte ein abweichendes Verhalten.

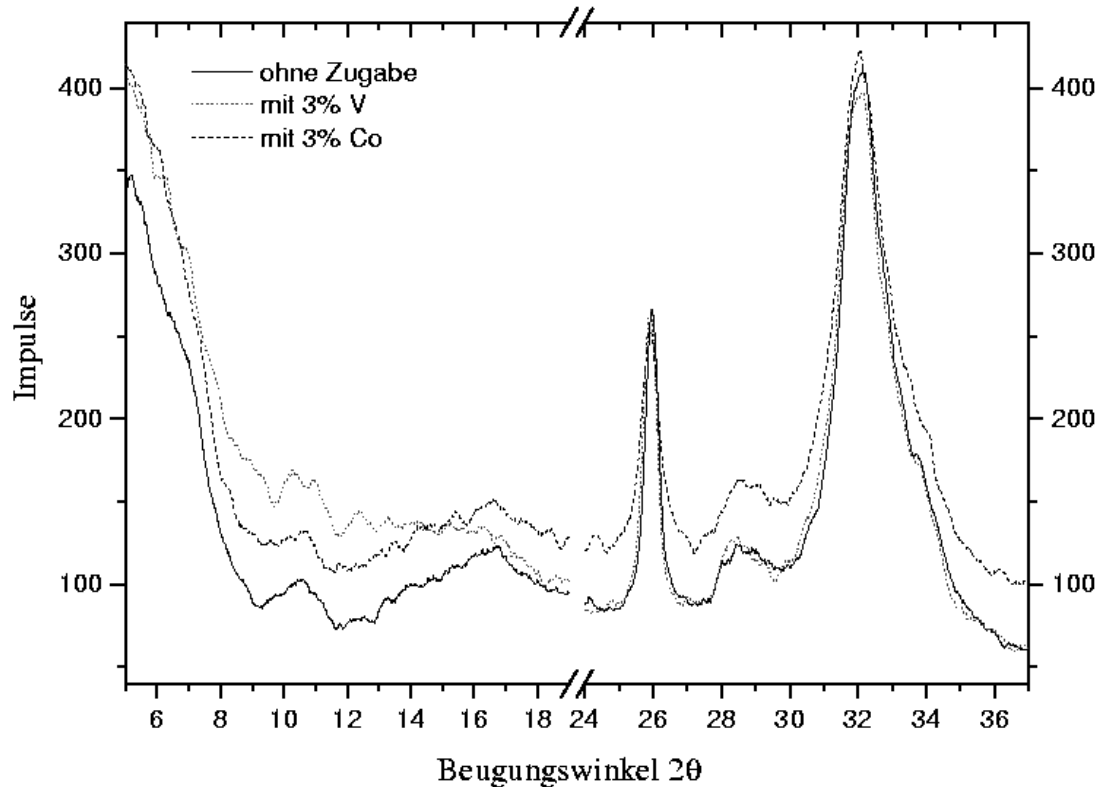


Abbildung 4.50:

Diffraktogramme der in SBF und Gly-Gly-Gly produzierten Apatite vor dem Heizen. Das Diffraktogramm der Probe mit 3 % Titananteil ist nicht abgebildet, da es keinen Unterschied zur zusatzfreien Probe zeigte.

Wie Abb. 4.50 zeigt, stieg der Untergrund des Diffraktogramms im Winkelbereich  $5^\circ \leq 2\theta \leq \sim 17^\circ$  deutlich an. Offensichtlich enthielt die Probe im Vergleich zu dem in reiner SBF produzierten Apatit mit gleichem Vanadiumanteil einen beträchtlichen Anteil einer amorphen Phase.

Nach einstündigem Heizen bei  $600^\circ\text{C}$  relativierten sich die Unterschiede zwischen den Diffraktogrammen der vier Proben, zumindest im Bereich der überlappenden Hauptpeaks. Im Bereich  $5^\circ \leq 2\theta \leq 12^\circ$  blieb die erhöhte Intensität der drei metallhaltigen Proben gegenüber der metallfreien Probe bestehen. Offensichtlich lag hier eine nicht durch Wassereinlagerungen verursachte Amorphisierung vor.

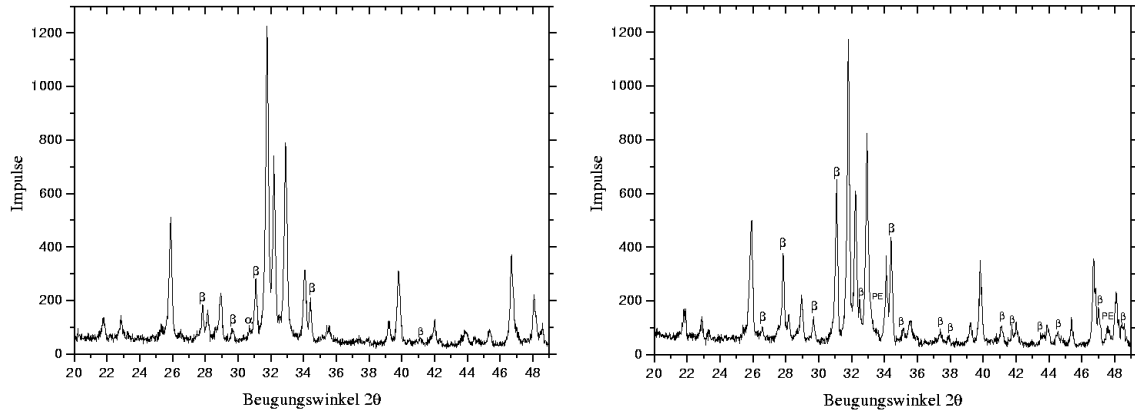


Abbildung 4.51: Diffraktogramme der in SBF und Gly-Gly-Gly produzierten Probe mit 3 % Titananteil nach einstündigem Heizen bei 900 °C (links) und 950 °C (rechts). Die Reflexe der zusätzlich zu OHAp auftretenden Phasen sind markiert ( $\alpha$ = $\alpha$ -TCP,  $\beta$ = $\beta$ -TCP, PE=Perowskit).

Das Heizen bei höheren Temperaturen führte bei der Probe mit 3 % Ti bereits zur deutlichen Ausbildung einer TCP-Phase, die schon bei einer Heiztemperatur von 900 °C sichtbar wurde und durch Heizen bei 950 °C stark zunahm (siehe Abb. 4.51). Dieser Effekt konnte bei den in reiner SBF präzipitierten Apatiten erst

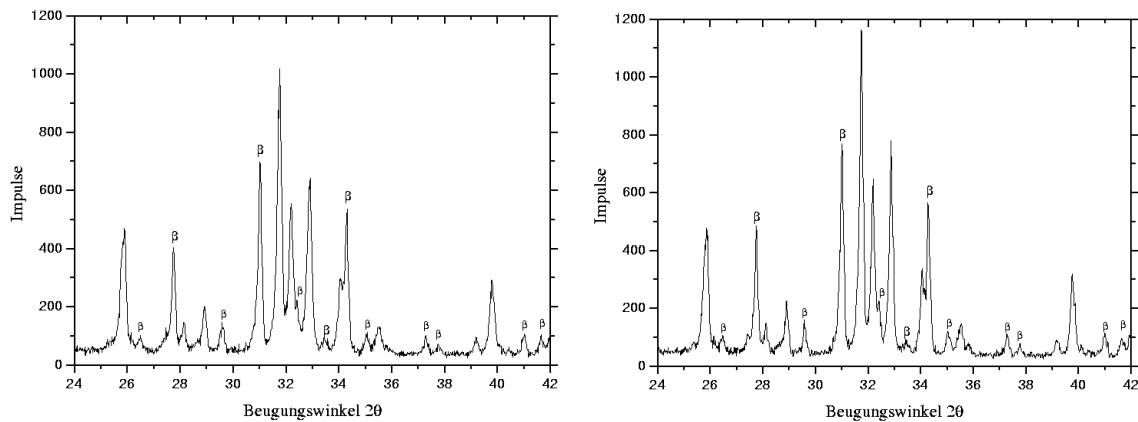


Abbildung 4.52: Diffraktogramme der in SBF und Gly-Gly-Gly produzierten Probe mit 3 % Vanadiumanteil nach einstündigem Heizen bei 900 °C (links) und 950 °C (rechts).  $\beta$ = $\beta$ -TCP.

bei höheren Titanzusätzen festgestellt werden. Die Linienlagen der TCP-Phase wie auch der OHAp-Peaks zeigten im Rahmen der durch die Probenversetzung bedingten Messungenauigkeit keine signifikanten Verschiebungen. Die starke und zudem temperaturabhängige Ausprägung der  $\beta$ -TCP-Phase deuteten auf eine beträchtliche Beeinflussung der Stöchiometrie des hergestellten Apatits hin. Das Auftreten von Perowskit bei einer Temperatur von 950 °C (siehe rechtes Diffrak-

togramm in Abb. 4.51) deutete zudem darauf hin, dass die Herabsetzung des Ca/P-Verhältnisses mit der Inkorporation von  $\text{Ti}^{4+}$ -Ionen einherging.

Auch Vanadium zeigte unter diesen Versuchsbedingungen einen stärkeren Effekt als in reiner SBF, allerdings fiel der Unterschied hier bei weitem weniger deutlich aus, wie Abb. 4.52 im Vergleich mit Abb. 4.42 zeigt. Auch war der Einfluss des Heizens auf das Verhältnis der integralen Intensitäten der  $\beta$ -TCP-Reflexe zu denen der OHAp-Peaks im Fall von Vanadium wesentlich geringer als bei Titan.

Die unter Kobaltzusatz hergestellten Proben zeigten praktisch keine Abweichung von den in reiner SBF erhaltenen Ergebnissen.

Mit Gly-Pro-Gly-Gly konnte nur ein Experiment durchgeführt werden, wel-

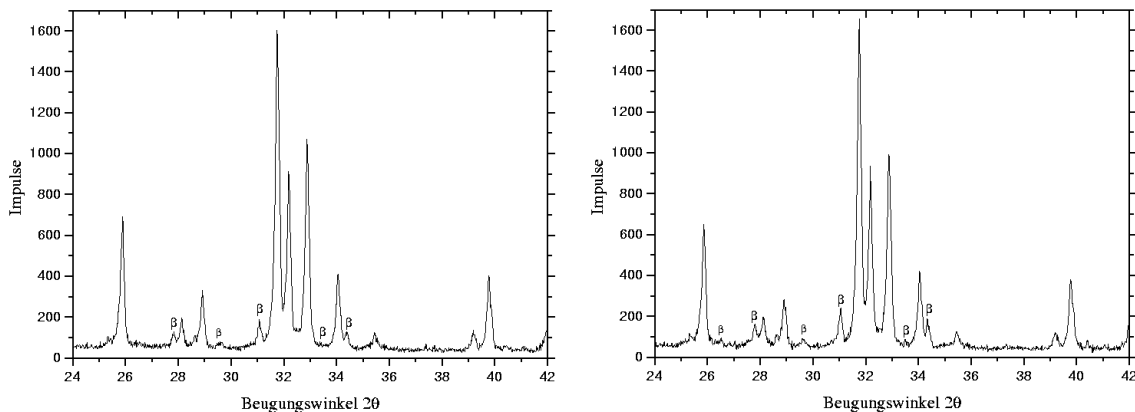


Abbildung 4.53: Diffraktogramme der in SBF produzierten Proben mit 1 % Vanadiumanteil nach einstündigem Heizen bei 900 °C, mit (rechts) und ohne (links) Zusatz von Gly-Pro-Gly-Gly.  $\beta = \beta$ -TCP.

ches in Anwesenheit von 1 % Vanadium stattfand, da diese Menge in etwa der Stoffmenge des zur Verfügung stehenden Peptids entsprach. Abb. 4.53 zeigt praktisch keinen Unterschied zwischen den Diffraktogrammen mit und ohne Gly-Pro-Gly-Gly. Offensichtlich fand also keine nennenswerte Wechselwirkung zwischen den Vanadiumionen und dem Biomolekül statt. Bemerkenswert ist allerdings die relativ deutliche Ausprägung der  $\beta$ -TCP-Phase, denn bei der in Abschnitt 4.2.1.2 beschriebenen Mineralisation in SBF trat diese Phase bei gleichem V-Anteil nicht auf. Es ist denkbar, dass trotz gleicher Konzentrationen der miteinander reagierenden Substanzen das hier geringere Reaktionsvolumen (100 ml gegenüber 250 ml) einen Einfluss auf die Zusammensetzung des Endproduktes hatte.

Die in diesem Abschnitt dargestellten Ergebnisse deuten darauf hin, dass die hier verwendeten Biomoleküle die Effekte der Metallionen auf Stöchiometrie und Kristallinität der präzipitierten Apatite im benutzten Modellsystem nicht oder nur in sehr geringem Maße beeinflussen.

### 4.3 Die Bedeutung der Ergebnisse aus den Modellexperimenten für die Biomineralisation

Sowohl die bei basischem pH-Wert durchgeführten Versuche als auch die Experimente unter physiologischen Bedingungen zeigten deutliche Einflüsse der getesteten Metallionen auf die chemischen und kristallographischen Eigenschaften der präzipitierten Apatite.

Da die geringe Kristallitgröße der ungeheizten Pulverproben die Möglichkeiten der röntgenographischen Analyse mit XRD stark einschränkte, mussten alle Proben bei verschiedenen Temperaturen geheizt werden (vgl. Abschnitt 3.1.1). Allerdings wurde durch dieses Verfahren nicht nur die Kristallitgröße und damit die Auflösung der Röntgenreflexe verbessert; es wurden auch neue Phasen gebildet, die durch die thermische Dekomposition der Apatitphase entstanden.

Bei der Interpretation der Messergebnisse in Bezug auf die Mineralisation von biologischem Apatit *in-vivo* muss daher streng unterschieden werden zwischen den aus der Vermessung der geheizten Proben ermittelten Daten und den Rückschlüssen, die sich daraus für die kristallographischen Eigenschaften der ungeheizten Proben ergeben. In Abschnitt 4.1.2 wurde ein Überblick über die unterschiedlichen Auswirkungen der Metalle Ti, V, Co, Cr und Al auf die Eigenschaften ungeheizter, im basischen Modellsystem produzierter Apatite gegeben, so wie sie sich aus den Untersuchungen der geheizten Proben rekonstruieren ließen. Dabei zeigte sich, dass die Metallionen drei grundlegende Effekte hervorriefen:

- Beeinträchtigung der Kristallinität und der Kristallitgröße
- Änderung der Stöchiometrie der apatitischen Phase (Verringerung des Ca/P-Verhältnisses)
- Inkorporation der Metallionen in verschiedene Kalziumphosphatphasen

Um die mögliche Tragweite dieser kristallographischen Effekte, die in in leicht veränderter Ausprägung auch im physiologischen Modellsystem auftraten (vgl. Abschnitt 4.2), im biologischen Umfeld (also bei der Mineralisation von neuem Knochengewebe *in-vivo*) abzuschätzen, reicht die stark vereinfachte Betrachtung der Kalzifizierung als Mineralisierung aus wässriger Lösung nicht mehr aus. Der grundlegende Baustein des Knochengewebes ist die mineralisierte Kollagenfibrille (Mann[64]), an deren Entstehung nicht nur die zur Bildung von Kalziumphosphaten notwendigen Ionen beteiligt sind, sondern auch zahlreiche Proteine und andere Makromoleküle, deren Funktionen bisher noch nicht vollständig bestimmt werden konnten (Boskey[18], Weiner[109]).

Das biologische System unterscheidet sich noch in weiteren Punkten stark vom vereinfachten Modellsystem: Abwesenheit knochenbildender und knochenresorbierender Zellen, fehlende Proliferation von Ionen zur Aufrechterhaltung der Gleichgewichtskonzentrationen (vgl. Peters[81]), fehlende Kollagenmatrix. Dennoch ist anzunehmen, dass die oben aufgelisteten kristallographischen Effekte der Metallionen grundsätzlich auch in der realen Situation der Osteointegration eines metallischen Hüftimplantats auftreten können.

Der Einbau einer intramedullären Hüftendoprothese stellt eine erhebliche Veränderung der elastischen Eigenschaften des Femurknochens dar, die nur durch kontinuierlichen Knochenanbau in der Umbauphase kompensiert werden kann (Schneider[92]). Die mechanisch bedingte Remodellierung des Knochens lässt sich experimentell durch die Bestimmung der Knochenmineraldichte (BMD<sup>16</sup>) belegen, die aufgrund der durch das Implantat verursachten fehlenden Belastung um bis zu 20 % zurückgehen kann<sup>17</sup> (Petersen[79][80] und Reiter[89]). Für Geflechtknochen konnte gezeigt werden, dass die BMD in hohem Maße mit der Steifigkeit und Festigkeit des Knochenmaterials korreliert ist (Banse[7]).

Da die mechanischen Eigenschaften des Knochens stark von den kristallographischen Eigenschaften des mineralisierten Gewebes abhängen, muss jede Beeinflussung des Kalzifizierungsprozesses durch Metallionen bezüglich der Osteointegration eines Implantats als kontraproduktiver Faktor angesehen werden. Wie die Resultate der Modellexperimente zeigten (vgl. Abschnitt 4.1.1), wirkten sich alle Metallionen hindernd auf die Transformation von amorphem Kalziumphosphat zu Hydroxylapatit aus. Eine im Bereich der Implantatoberfläche auftretende Phasenverschiebung im mineralisierten Teil der Knochenmatrix wirkt sich langfristig negativ auf die Stabilität der Verbindung aus (vgl. Lind[59]).

Besonders gravierende Effekte sind zu erwarten, wenn die Metallionen nicht nur als Kristallisationshemmer wirken, sondern durch Inkorporation in das mineralisierte Gewebe die physikalischen und chemischen Eigenschaften des neugebildeten Knochens grundlegend beeinflussen. So wurde zum Beispiel von Albrektsson[2] angenommen, dass die im Vergleich zu reinem Titan schlechtere Knochenanbindung der Legierung TiAl6V4 auf das Ausdiffundieren von Al-Ionen zurückzuführen ist, die durch Inkorporation in die Kalziumphosphatphase im Interfacebereich zu lokaler *Osteomalazie*<sup>18</sup> und zu einer Herabsetzung der Steifigkeit des neuen Knochens führen können.

Die mit den kristallographischen Modifikationen einhergehenden Oberflächen-

---

<sup>16</sup>BMD = bone mineral density.

<sup>17</sup>Der Messwert wurde ein halbes Jahr nach der Implantation eines Hüftgelenks bestimmt. Langzeituntersuchungen an Knieprothesen zeigten Abnahmen um bis zu 36 % nach drei Jahren.

<sup>18</sup>Sekundäre Ossifikationsstörung, die zur Bildung breiter unverkalkter Osteoidsäume führt, wodurch es zu erhöhter Weichheit und Verbiegungstendenz der Knochen kommt (Pschyrembel[85]).

Veränderungen wirken sich mit hoher Wahrscheinlichkeit auch auf die Porosität des in der Anwesenheit der Metallionen gebildeten Knochens aus. Studien über die Biokompatibilität von keramischen Knochenersatzmitteln zeigten aber, dass die Porosität ein wichtiger Faktor beim Einwachsen von Blutgefäßen in das Material ist (Rueger[90], Shi[93]). Durch vaskuläre Unterversorgung avitaler Knochen ist jedoch auf Dauer nicht den mechanischen Belastungen gewachsen[92]. Hierbei addiert sich der durch die Metallionen hervorgerufene Effekt zu dem durch den chirurgischen Eingriff (Resektion des Femurkopfes (vgl. Abschn. 2.1.3.1), Ausräumen der Markhöhle) verursachten Trauma, von dem sogar die stabilisierende Rindenschicht betroffen ist (Aldinger[3]).

Knochen muß sich als lebendiges Gewebe den sich ständig verändernden mechanischen Belastungen anpassen, was besonders nach der Implantation einer Hüftprothese der Fall ist. Dieser Remodellierungsprozess erfordert die sukzessive Resorption von altem und die Bildung von neuem mineralisiertem Knochengewebe, wobei ein wichtiger kinetischer Faktor die Löslichkeit des zu resorbierenden Materials ist (Dorozhkin[26]).

Biologische Apatite liegen generell in chemischen Zusammensetzungen vor, die auch andere Ionen (z.B.  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{F}^-$  usw.) enthalten. Das Ca/P-Verhältnis für Knochen ist jedoch annähernd das gleiche wie bei idealem s-OHAp (1,67) und kann sogar höher liegen[32]. Es ist bekannt, dass die Löslichkeit von Kalziumphosphaten mit abnehmendem Ca/P-Verhältnis steigt (Koutsoukos[54]).

Biokompatibilitätstests an künstlichen Kalziumphosphatkeramiken verschiedener stöchiometrischer Zusammensetzung zeigten stark unterschiedliche Eigenschaften hinsichtlich ihres resorptiven Verhaltens (Manjubala[63], Bourgeois[21]).

Die für diese Arbeit durchgeführten Modellexperimente zeigten ein durch die Anwesenheit von Metallionen teilweise stark herabgesetztes Ca/P-Verhältnis (bis zum für Trikalziumphosphat typischen Wert 1,5) in den präzipitierten Apatiten (siehe Abschnitt 4.1.2). Die Übertragung dieses Effektes auf die *in-vivo*-Situation legt damit die Vermutung nahe, dass aus einem Implantat austretende Metallionen die Löslichkeit des neugebildeten Knochens erhöhen und damit die Resorption beschleunigen. Der gesunden und entzündungsfreien Knochenremodellierung ist allerdings sowohl zu langsamer als auch zu schneller Abbau abträglich (Gauthier[37], [90]).

Beschleunigte Resorption ist ebenso eine Folge der durch Metallionen hervorgerufenen Beeinträchtigung der Transformation von ACP zu OHAp, da die Löslichkeit von ACP schätzungsweise um etwa 60 Größenordnungen höher ist als die von kalziumarmem Apatit<sup>19</sup>(Onuma[76]). Metallionen können somit auf zwei Arten den Umbau des Knochens beeinflussen. Da sie in die Kalziumphosphatphase inkorporiert werden können, ist es ihnen möglich, im Laufe mehrerer Resorptions-

---

<sup>19</sup>Bei s-OHAp beträgt der Unterschied sogar über 90 Größenordnungen.



und Knochenneubildungszyklen tiefer in das den Implantatschaft umgebende Gewebe zu migrieren und immer wieder neu auf die Mineralisierung einzuwirken. Die ständige Präsenz und die Akkumulation der Ionen im implantatnahen Knochen muss außerdem als permanenter Einfluss auf das biomolekulare und zytologische Umfeld betrachtet werden. Dieser kann in Form von allergischen Wechselwirkungen auftreten (vgl. Scherer[91]) oder auch in unmittelbarer Zelltoxizität (besonders bei Kobalt und Vanadium (Ichinose[42], Rae[87])). Die Ionen wirken dabei

Metall	Wirkung auf die Biomineralisation
Ti	Verringerung der Kristallinität (um bis zu 20 %)
	Erhöhung der Löslichkeit (Ca/P-Verhältnis $\sim 1,5$ )
	Wechselwirkungen mit Biomolekülen
	Zelltoxizität
V	Verringerung der Kristallinität (um bis zu 20 %)
	Erhöhung der Löslichkeit (Ca/P-Verhältnis nahe 1,5)
	hohe Zelltoxizität <sup>20</sup>
Co	Verringerung der Kristallinität (bis zu 20 %) und der Kristallitgröße (bis zu 50 %)
	Erhöhung der Löslichkeit (Ca/P-Verhältnis $< 1,5$ )
	hohe Zelltoxizität
Cr	Verringerung der Kristallinität (bis zu 450 %) und der Kristallitgröße (bis zu 40 %)
	Erhöhung der Löslichkeit (Ca/P-Verhältnis nahe 1,5)
	Wechselwirkungen mit Biomolekülen
	hohe Zelltoxizität
Al	leichte Verringerung der Kristallinität und der Kristallitgröße (wenige %)
	Erhöhung der Löslichkeit (Ca/P-Verhältnis $< 1,5$ )
	Wechselwirkungen mit Biomolekülen

Tabelle 4.8: Auflistung der anhand der Ergebnisse der Modellexperimente prognostizierbaren Effekte der Metallionen auf die Biomineralisation. Die biomolekularen und zytologischen Effekte stützen sich auf die im Text zitierten Literaturquellen. Die prozentualen Angaben für die Reduktion der Kristallinitäten und Kristallitgrößen beziehen sich auf den Vergleich mit Apatiten, die unter sonst gleichen Versuchsbedingungen ohne Metallzusatz produziert wurden. Für die erhöhten Löslichkeiten waren nur sehr grobe Abschätzungen möglich. Ein Ca/P-Verhältnis unter 1,5 deutet auf eine Erhöhung der Löslichkeit um mehr als 60 Größenordnungen gegenüber Hydroxylapatit mit Ca/P  $\sim 1,67$  hin. Die in der Tabelle angegebenen Ca/P-Verhältnisse beziehen sich jeweils auf die höchsten Metallanteile.

sowohl auf die knochenbildenden Osteoblasten (vgl. Abschn. 2.1.1) als auch auf die knochenresorbierenden Osteoklasten (Neale[74]). Es konnte gezeigt werden, dass sowohl Cr- als auch Ti-Ionen sich nach dem Austreten aus dem Implantatmaterial an kleine und große Biomoleküle anlagerten (Hallab[40]). Es ist daher sehr wahr-

<sup>20</sup>Bei Vanadium ist zu beachten, dass es aufgrund seines geringen Anteils an den gebräuchlichen orthopädischen Materialien in geringeren Dosen auftritt als die anderen Metalle.

scheinlich, dass die Funktion kristallisationshemmender Inhibitormoleküle, die den kontrollierten Ablauf der Kalzifizierung gewährleisten (Jahnen[44]), beeinträchtigt wird.

Tabelle 4.8 zeigt, welche speziellen Effekte durch das Austreten der Metallionen in das umliegende Knochengewebe zu erwarten sind. Dabei wurden die medizinischen Effekte der Literatur entnommen und mit den kristallographischen Auswirkungen, die sich aus den Resultaten der Präzipitationsexperimente ergeben haben, zusammengefasst. Sind auch die Effekte im einzelnen verschieden gewichtet bzw. ausgeprägt, lässt sich trotzdem sagen, dass alle getesteten Metalle nachteilige Auswirkungen auf die Bildung von neuem, dem Implantat anliegenden Knochengewebe zeigen sollten. Ein großes Problem ergibt sich durch das langsame Austreten und die Migration der Metallionen, so dass die Folgen möglicherweise erst Jahre nach der erfolgreichen Osteointegration des Implantats auftreten. Sowohl bei jungen als auch bei älteren Patienten ist im Laufe der Zeit eine verstärkte Korrosion des Implantatmetalls zu erwarten, im ersten Fall durch die höhere mechanische Beanspruchung (Jacobs[43]), im zweiten durch die natürliche Alterung des Knochengewebes und damit verbundene Bewegungen des Implantatschafts[3]. Der steigende Anteil an Metallionen stört die Umbauprozesse des Knochens permanent und stellt damit wahrscheinlich eine wichtige Ursache für die langfristige Lockerung von Hüftprothesen dar.

# Kapitel 5

## Zusammenfassung und Ausblick

Die Osteointegration eines orthopädischen Implantats ist ein komplexer Vorgang, der sich aus biologischen, chemischen und physikalischen Teilaspekten zusammensetzt. Diese wurden in Kapitel 2 ausführlich dargestellt und erläutert.

Ziel dieser Arbeit war es, verschiedene Metalle hinsichtlich ihrer Einflüsse auf die Mineralisation des Knochenminerals Hydroxylapatit (OHAp) zu untersuchen. Die Modellsysteme, in denen die Apatitbildung durchgeführt wurde, wurden in möglichst einfacher Weise konzipiert, um dadurch sowohl Anwendbarkeit als auch Reproduzierbarkeit im Rahmen der technischen Möglichkeiten des Labors zu optimieren.

Der Hauptteil der Messungen wurde im sogenannten basischen Modellsystem durchgeführt. Die einzigen darin benutzten Substanzen waren die als Kalzium- bzw. Phosphatquellen dienenden Salze Kalziumnitrat und Diammoniumhydrogenphosphat sowie verschiedene Mengen eines Salzes des jeweils zu untersuchenden Metalls. Da die Bildung von OHAp in dieser Reaktion mit einer Herabsetzung des pH-Werts verbunden war, wurde der Lösung zusätzlich eine bestimmte Menge Ammoniak hinzugefügt, so dass der pH-Wert stets im stark basischen Bereich (11–12) blieb. Dadurch wurde nicht nur das Gleichgewicht der Apatitbildung zugunsten der Reaktionsprodukte verschoben, sondern außerdem eine mögliche Verfälschung der Ergebnisse durch saure Eigenschaften der Metallsalze ausgeschlossen.

Etwa 120 Proben wurden im basischen System aus wässriger Lösung präzipitiert, getrocknet und für die kristallographische Analyse durch XRD präpariert. Aufgrund der geringen Kristallitgröße von bei niedrigen Temperaturen erzeugtem OHAp zeigten die Röntgendiffraktogramme der ungeheizten Pulverproben große Linienbreiten, die eine Trennbarkeit der einzelnen Peaks unmöglich machten<sup>1</sup>. Zur

---

<sup>1</sup>Die Diffraktogramme ungeheizter Pulverproben zeigten große Ähnlichkeit mit denen von nativem Knochenmaterial (Danilchenko[25]).

Erhöhung der Kristallitgröße wurden daher sämtliche Proben bei verschiedenen Temperaturen geheizt und die so behandelten Pulver separat spektroskopiert.

Das Heizen führte nicht nur zur Verbesserung der Trennbarkeit der Peaks, sondern auch zur Ausbildung zusätzlicher kristalliner Phasen, die größtenteils durch thermische Dekomposition von nichtstöchiometrischem OHAp und Umkristallisationen amorpher bzw. schwach kristallisierter Phasen in den ungeheizten Proben gebildet wurden.

Die verschiedenen thermischen Umwandlungen der Kalziumphosphate sind ausführlich in der Literatur dokumentiert (siehe Kapitel 2.2), so dass es durch vergleichende Messungen der bei unterschiedlichen Temperaturen geheizten Proben in den meisten Fällen möglich war, den jeweiligen Ursprung der in den Diffraktogrammen auftretenden Phasen zu bestimmen.

Es konnte gezeigt werden, dass alle Metalle (Ti, V, Cr, Co und Al) die Kristallinität und die Kristallitgrößen der Apatite herabsetzten. Dieser Effekt war für Co und Cr besonders ausgeprägt. Ti und Al behinderten offenbar in beträchtlicher Weise die Umwandlung von amorphem Kalziumphosphat (ACP) zu OHAp, was sich in der Bildung von  $\alpha$ -TCP in den geheizten Proben niederschlug. Die thermisch induzierte Bildung von  $\beta$ -TCP wies darauf hin, dass die Stöchiometrie der apatitischen Phase von der Stöchiometrie von reinem OHAp deutlich zu Ungunsten von Kalzium abwich. Im allgemeinen nahm der  $\beta$ -TCP-Anteil in den geheizten Proben mit der Höhe des Metallanteils zu.

Desweiteren traten in den Diffraktogrammen der bei hohen Temperaturen geheizten Proben zusätzliche Phasen auf, die auf die Anwesenheit von Metalloxiden (teilweise in Verbindung mit Ca) hinwiesen und damit den Beweis für die Einlagerung von Metallionen in die präzipitierten CaPs lieferten. Die Möglichkeiten der Röntgendiffraktometrie reichten leider nicht aus, um in allen Fällen zu erklären, in welcher Weise die Ionen in die Reaktion miteinbezogen wurden. Linienverschiebungen deuteten jedoch darauf hin, dass sowohl die apatitische Phase als auch die  $\beta$ -TCP-Phase Metallionen aufgenommen hatten.

Das Modellsystem wurde durch die Annäherung der Bedingungen in sogenannter synthetischer Körperflüssigkeit (SBF) an die physiologischen Gegebenheiten (Temperatur, pH-Wert, Zusammensetzung der Reaktionslösung, Übersättigung mit Ca und P) angepasst und auf die Metalle Ti, V und Co angewendet. Der Einfluss der Metallionen auf die Mineralisation von OHAp wurde in diesem System leicht reduziert, manifestierte sich aber in ähnlicher Weise wie im basischen Modellsystem. Die Hinzunahme von Albumin, dem in menschlicher Körperflüssigkeit am stärksten vertretenen Protein, bewirkte wiederum eine Erhöhung der kristallisationshemmenden Effekte der Metallionen. Dagegen zeigten die Biomoleküle Gly-Gly-Gly und Gly-Pro-Gly-Gly keine signifikanten Effekte auf die Modellreaktion.

Die Gültigkeit der Ergebnisse ist unter der Einschränkung zu betrachten, dass jedes der eingesetzten Modellsysteme natürlich nicht als naturgetreue Nachbildung der *in-vivo*-Mineralisation von menschlichem Knochen gelten kann. Knochenzellen, Wachstumsfaktoren, zahlreiche Biomoleküle und die aus vielen Kollagenfasern bestehende organische Matrix sind an dem komplexen Prozess der Knochenneubildung beteiligt. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Experimente konnten lediglich den Aspekt der Kalzifizierung aus einer mit Ca und P übersättigten Lösung nachmodellieren.

Jedoch zeigten die Resultate, dass schon Konzentrationen von Metallionen im unteren Prozentbereich in empfindlicher Weise die Bildung von OHAp beeinträchtigen können. Auch wenn die Metallkonzentrationen, die nach der Implantation von Prothesen im umliegenden Gewebe auftreten, normalerweise deutlich kleiner sind, erscheint es doch wahrscheinlich, dass auch in der bei der Osteointegration stattfindenden Knochenneubildung Metallionen die mineralisierten Bestandteile der formierten Knochenmatrix hinsichtlich Stöchiometrie, Kristallinität, Löslichkeit usw. beeinflussen (siehe Abschnitt 4.3). Da durch die Resorption von Knochenmineral diese Metallionen wieder freiwerden, müssen langfristige Veränderungen des Knochengewebes in der Umgebung eines Implantats in Betracht gezogen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit legen die Vermutung nahe, dass beim langfristigen Versagen von Hüftimplantatschäften die Emission von Metallionen aus dem Schaftmaterial eine wichtige Rolle spielt. Selbst im Falle des als sehr korrosionsbeständigen Titans sollte daher der direkte Kontakt von Knochengewebe und Metalloberfläche vermieden werden. Zwar werden bereits sogenannte bioaktive Keramikbeschichtungen als Ionenbarrieren eingesetzt, jedoch stellt diese Methode wegen unzureichender Langzeitadhäsion der aufgetragenen Keramiken noch kein befriedigendes Verfahren dar.

Eine mögliche Lösung dieses Problems könnte in einer kombinierten Beschichtung liegen, die sich aus einer mechanisch belastbaren Ionenbarriere (Titannitrid oder Titankarbid) und einer darauf aufgetragenen dünnen OHAp-Schicht zusammensetzt, die das Aufwachsen des neuen Knochengewebes fördert. Da die dünne OHAp-Schicht in kurzer Zeit völlig resorbiert würde, könnten damit beschichtungstechnisch bedingte Interfacebrüche vermieden und ein fester mechanischer Kontakt zwischen natürlich gewachsenem Knochen und chemisch nahezu inerte Implantatoberfläche gewährleistet werden.



# Anhang A

## Thermodynamische Daten der Kalziumorthophosphate

Verbindung	$\Delta_f H^0$ kJ mol <sup>-1</sup>	$\Delta_f G^0$ kJ mol <sup>-1</sup>	$S^0$ J mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$C_p$ J mol <sup>-1</sup> K <sup>-1</sup>	$K_s$ Produktkonst. <sup>1</sup>
CaHPO <sub>4</sub>	-1814,39	-1681,18	111,38	110,04	$1,83 \cdot 10^{-7}$
CaHPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	-2403,58	-2154,58	189,45	197,07	$2,59 \cdot 10^{-7}$
Ca <sub>8</sub> H <sub>2</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> ·5H <sub>2</sub> O	–	-12263	–	–	$1,01 \cdot 10^{-94}$
$\beta$ -Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	-4120,8	-3884,7	236,0	227,82	$2,07 \cdot 10^{-33}$
$\alpha$ -Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	-4109,9	-3875,5	240,91	231,58	$8,46 \cdot 10^{-32}$
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> (OH) <sub>2</sub>	-13477	-12677	780,7	769,9	$6,62 \cdot 10^{-126}$
Ca <sub>10</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> F <sub>2</sub>	-13744	-12983	775,7	751,9	$6,30 \cdot 10^{-137}$
H <sub>2</sub> O	-285,830	-237,129	69,91	–	–
Ca <sup>2+</sup> (aq)	-542,83	-553,58	-53,1	–	–
OH <sup>-</sup> (aq)	-229,994	-157,244	-10,75	-148,5	–
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (aq)	-1296,29	-1130,28	90,4	–	–
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (aq)	-1292,14	-1089,15	-33,5	–	–
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (aq)	-1277,4	-1018,7	-222	–	–
F <sup>-</sup> (aq)	-332,63	-278,79	-13,8	-106,7	–

Tabelle A.1: Thermodynamische Standarddaten und daraus berechnete Löslichkeitsproduktkonstanten von CaPs bei 298,15 K (25 °C) (Wagman[106]).

<sup>1</sup>Da die Einheiten für  $K_s$  von der Stöchiometrie des jeweiligen Produkts abhängig sind, wurden sie der Übersichtlichkeit halber ausgelassen.





# Anhang B

## Zur Biochemie der Peptide

Aminosäuren besitzen als funktionelle Gruppen sowohl Carboxylgruppen (COOH) als auch Aminogruppen (NH<sub>2</sub>), die unter Wasserabspaltung eine Bindung eingehen können. Eine solche Bindung, bei der das Stickstoffatom der Aminogruppe über eine einfache kovalente Bindung an das Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe gebunden

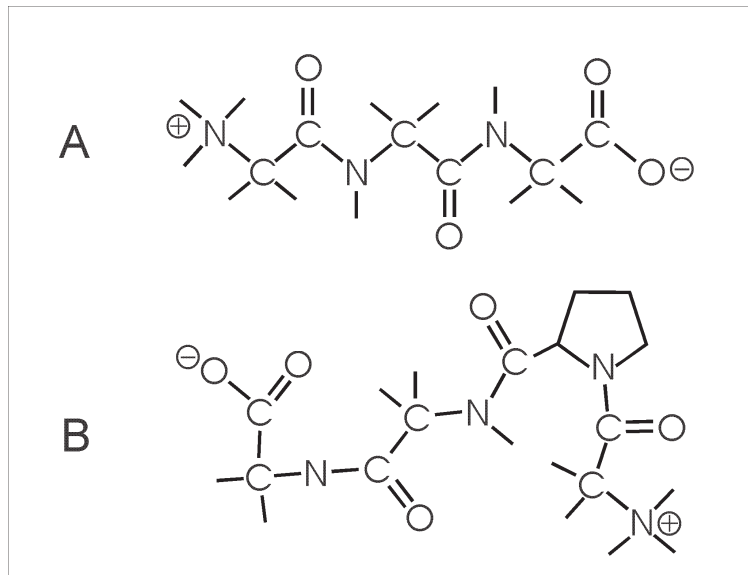


Abbildung B.1:

Strukturformeln von Gly-Gly-Gly (A) und Gly-Pro-Gly-Gly (B). Dargestellt ist die ionisierte Form bei pH~6, in der jeweils die freien funktionellen Gruppen geladen sind.

ist, nennt man Peptidbindung (Kleber[51]). Besteht ein Molekül aus mindestens

10 Aminosäureresten, spricht man von einem Polypeptid. Abbildung B.1 zeigt die Struktur des Tripeptids Gly–Gly–Gly (Gly = Glycin) und des Tetrapeptids Gly–Pro–Gly–Gly (Pro = Prolin), die beide in den Experimenten Verwendung fanden. Bei einem pH–Wert um 6 sind sowohl die freie Carboxylgruppe als auch die freie Aminogruppe geladen.

Polypeptide, die aus mehr als ca. 100 Aminosäureresten bestehen, nennt man Proteine. Proteine, zu denen auch das in den Experimenten benutzte Albumin gehört, diffundieren im Gegensatz zu den kurzkettigeren Peptiden nicht durch natürliche Membranen (Birbaumer[14]). Desweiteren bildet Albumin Komplexe mit langkettigen Fettsäuren und spielt eine wichtige Rolle bei der Aufnahme dieser Fettsäuren durch Zellen (Trigatti[103]). Außerdem hat Albumin einen inhibierenden Effekt auf die Keimbildung und das Kristallwachstum von Hydroxylapatit aus übersättigten Lösungen (Mullins[73]).

Menschliches Albumin hat ein Molekulargewicht von 69 kDa und macht rund 60 % der Eiweiße im menschlichen Plasma aus. Ein Liter Plasma enthält etwa 65 – 80 g Eiweiß[14].

# Anhang C

## Röntgendiffraktogramme

Zur Veranschaulichung der in der Auswertung präsentierten Ergebnisse werden in diesem Anhang die wichtigsten Diffraktogramme der bei 900 °C und 1000 °C geheizten Proben separat abgebildet. Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden jeweils nur die Ausschnitte gezeigt, die relevante Peaks enthalten. Da Titan als Implantatmaterial vom größten Interesse ist, wurden die Diffraktogramme der Versuchsreihen H9, H9a, H16 und H17 vollständig aufgenommen, während die anderen Metalle jeweils nur mit einer Versuchsreihe vertreten sind.

### C.1 Diffraktogramme der Probenserie H9

In den Bezeichnungen der Peaks der in diesem und dem nächsten Abschnitt abgebildeten Diffraktogramme werden folgende Abkürzungen benutzt, wobei in Klammern jeweils die PDF-Nummern aus der JCPDS-Datei angegeben sind:

**H:** OHAp (9-0432)<sup>1</sup>

**$\alpha$ :**  $\alpha$ -TCP (29-0359)

**$\beta$ :**  $\beta$ -TCP (9-0169)

**AN:** Anatas (21-1272)

**RU:** Rutil (21-1276)

**PE:** Perowskit (78-1013)

**TO:** TiO<sub>2</sub> (PDF-Nummer unbestimmt)

---

<sup>1</sup>Die Peaks von OHAp werden nur dann gesondert markiert, wenn ihre Erkennbarkeit im Diffraktogramm eingeschränkt ist.

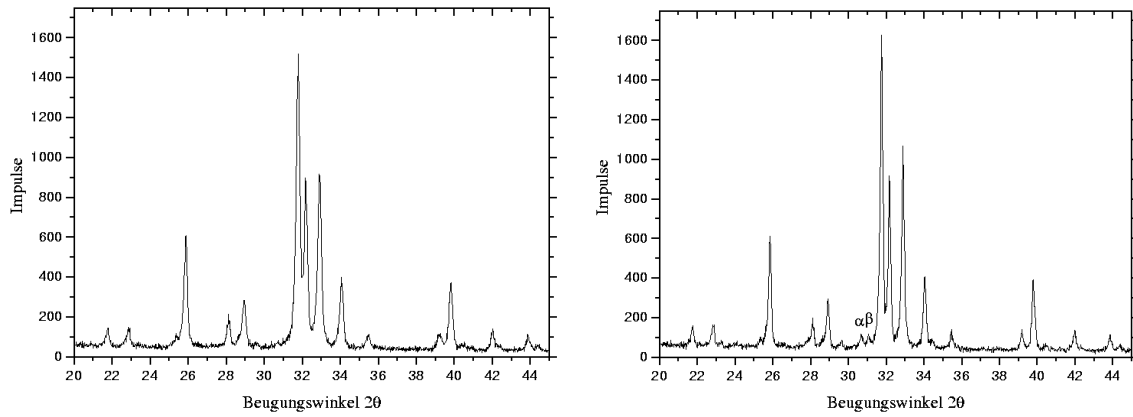


Abbildung C.1: Probe H9\_Ti1 mit 1 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

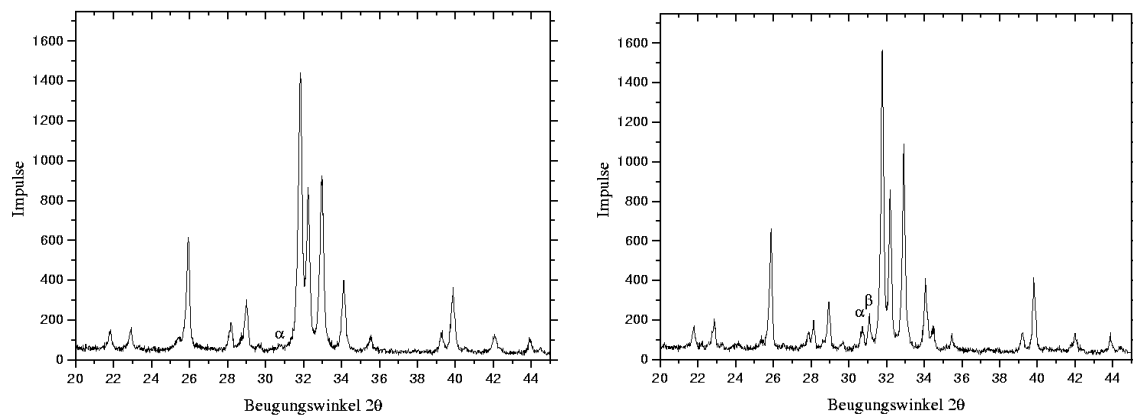


Abbildung C.2: Probe H9\_Ti2 mit 2 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

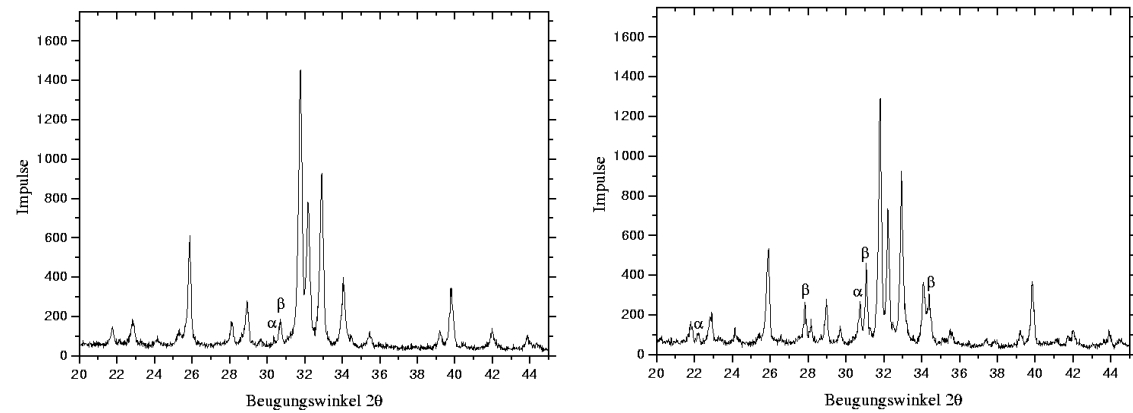


Abbildung C.3: Probe H9\_Ti3 mit 3 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

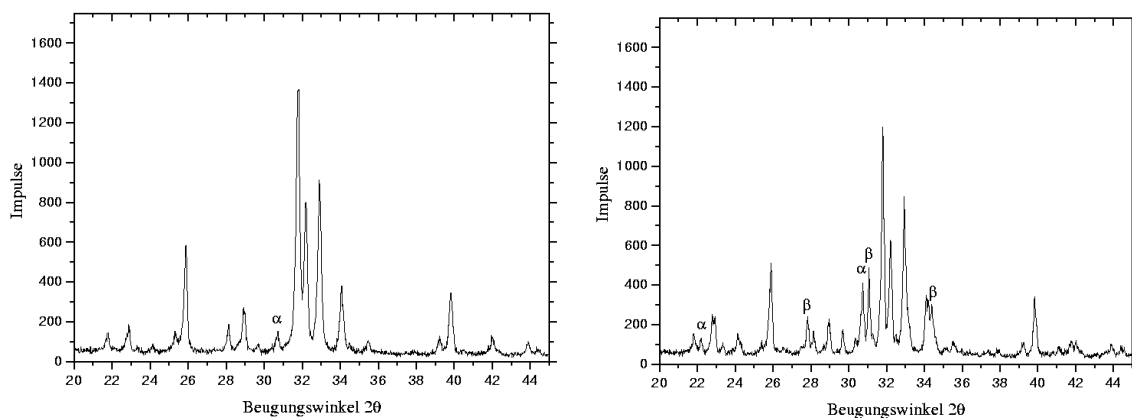


Abbildung C.4: Probe H9\_Ti4 mit 4 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

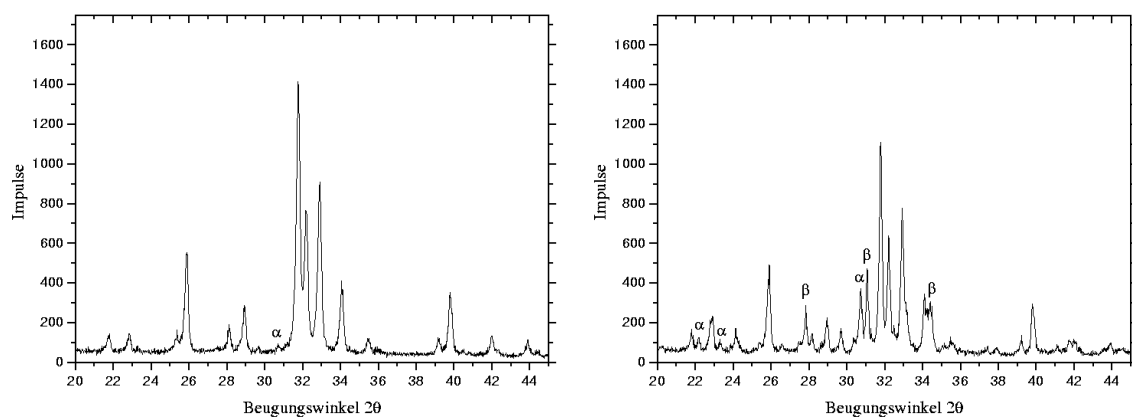


Abbildung C.5: Probe H9\_Ti5 mit 5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

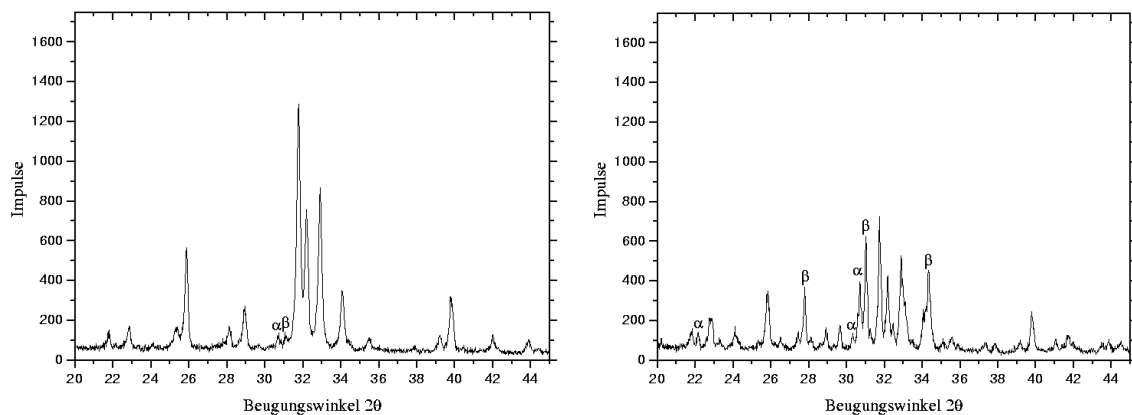


Abbildung C.6: Probe H9\_Ti6 mit 6 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

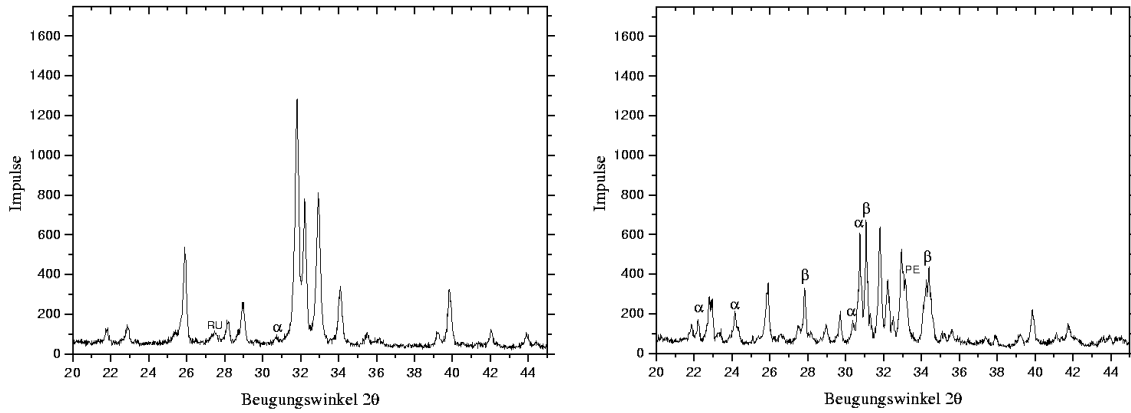


Abbildung C.7: Probe H9\_Ti8 mit 8 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

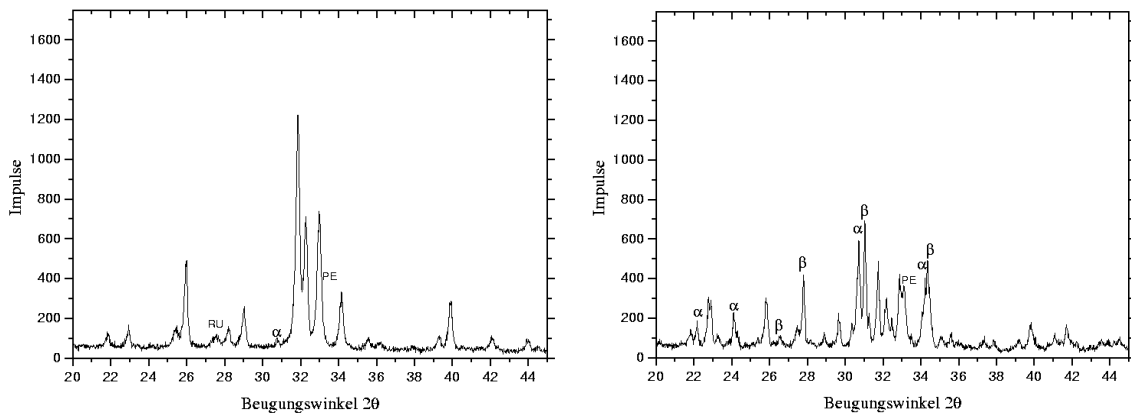


Abbildung C.8: Probe H9\_Ti10 mit 10 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

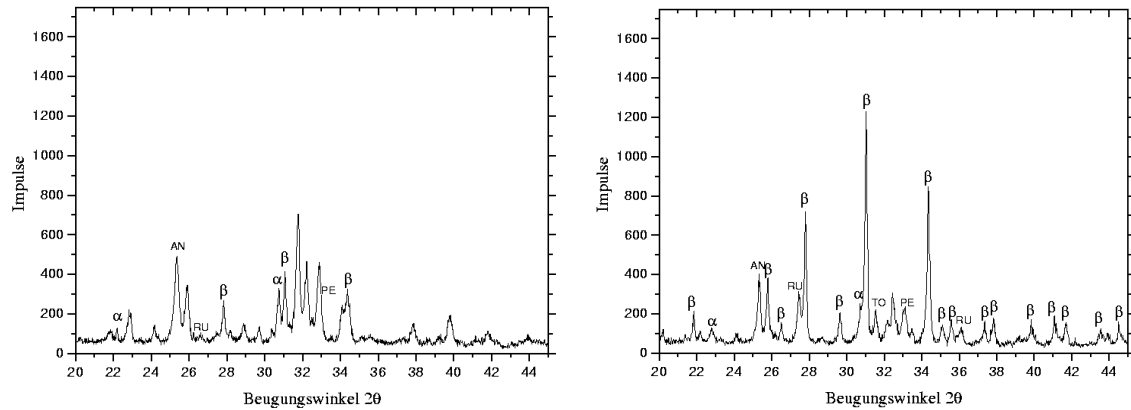


Abbildung C.9: Probe H9\_Ti20 mit 20 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.2 Diffraktogramme der Probenserie H9a

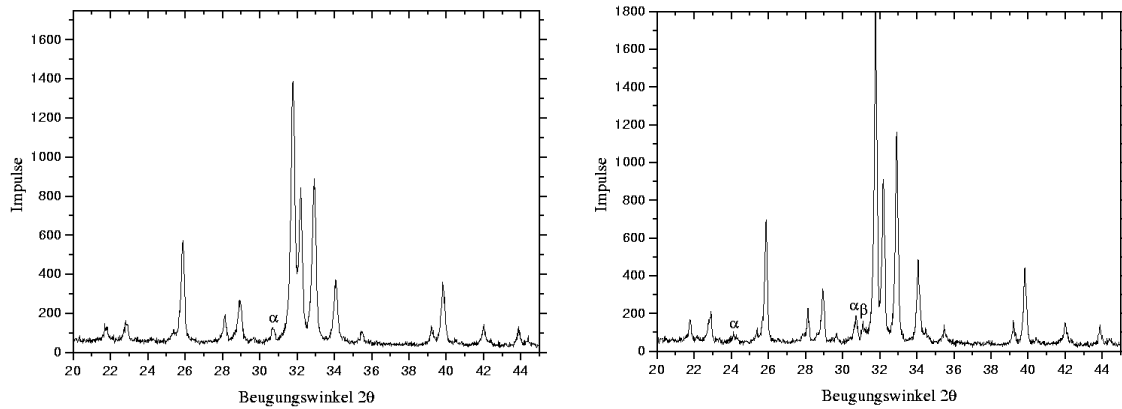


Abbildung C.10: Probe H9a\_Ti0,5 mit 0,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

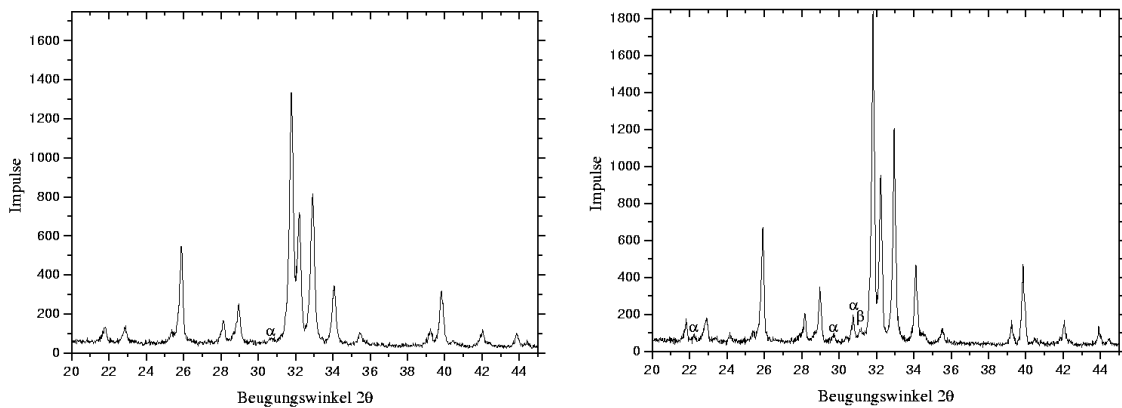


Abbildung C.11: Probe H9a\_Ti1 mit 1 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

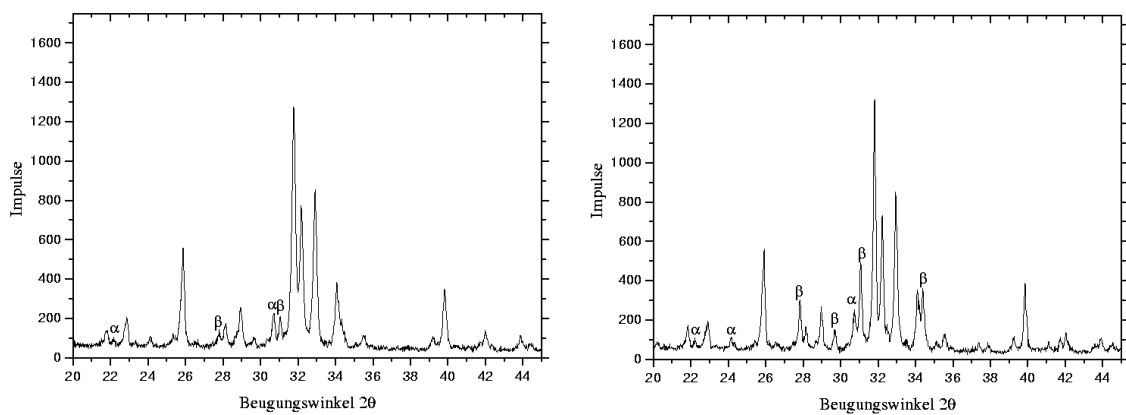


Abbildung C.12: Probe H9a\_Ti1,5 mit 1,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

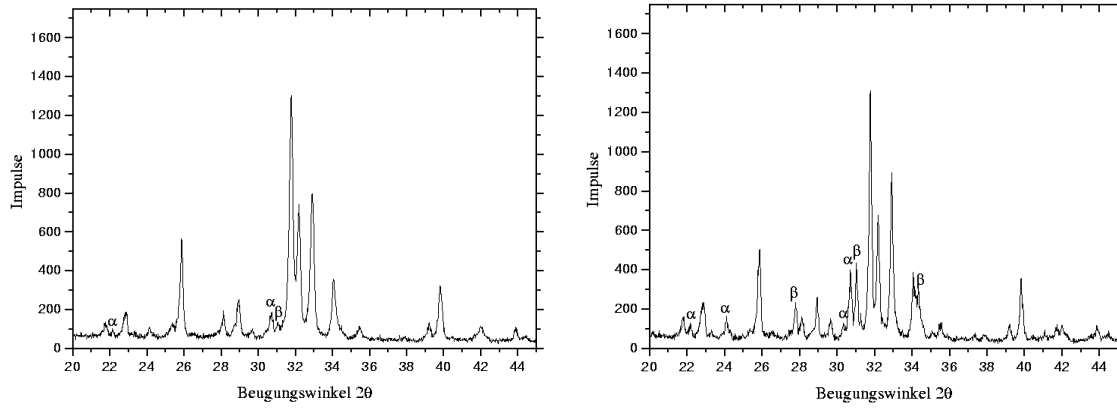


Abbildung C.13: Probe H9a\_Ti2 mit 2 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

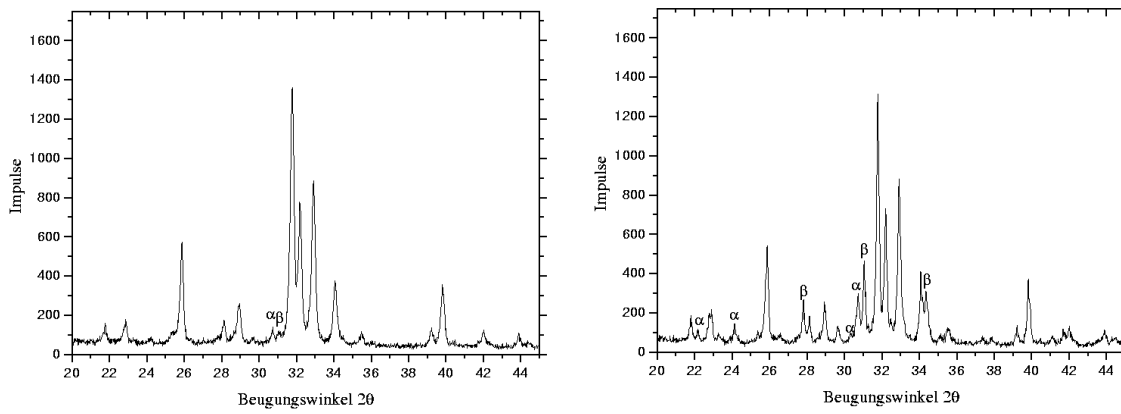


Abbildung C.14: Probe H9a\_Ti2,5 mit 2,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

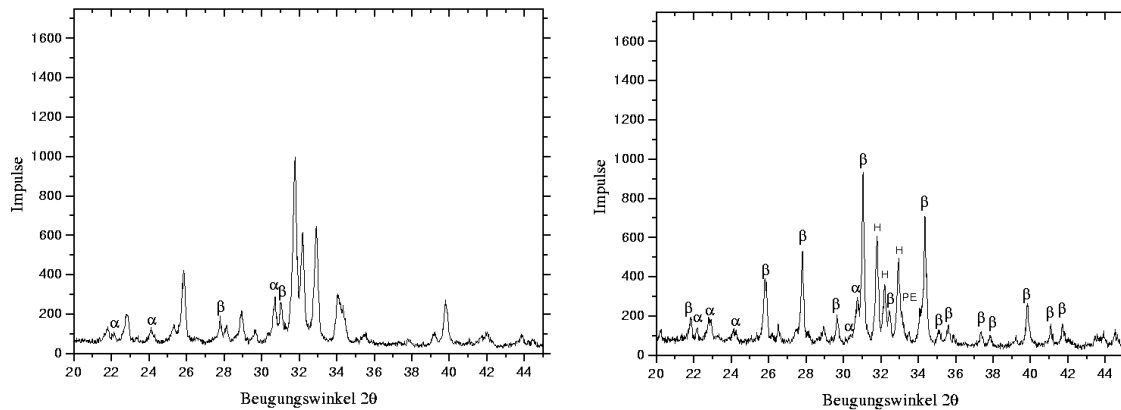


Abbildung C.15: Probe H9a\_Ti3 mit 3 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.



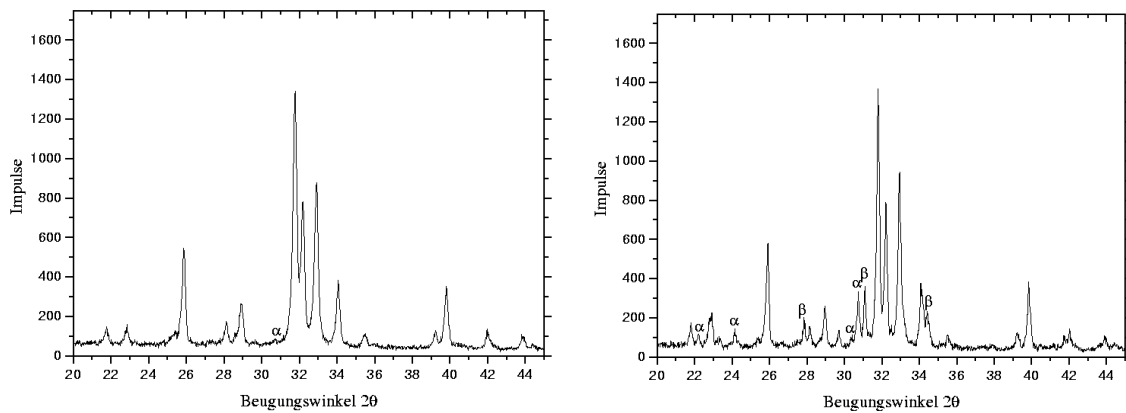


Abbildung C.16: Probe H9a\_Ti3,5 mit 3,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

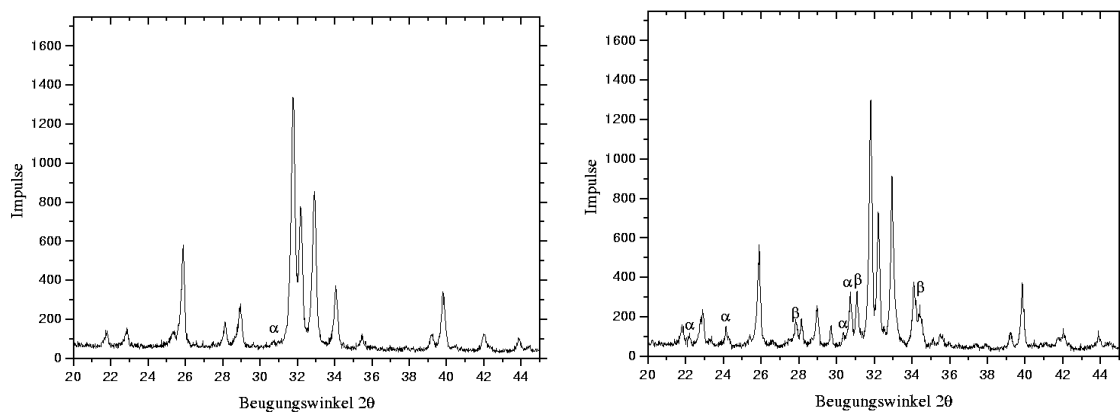


Abbildung C.17: Probe H9a\_Ti4 mit 4 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

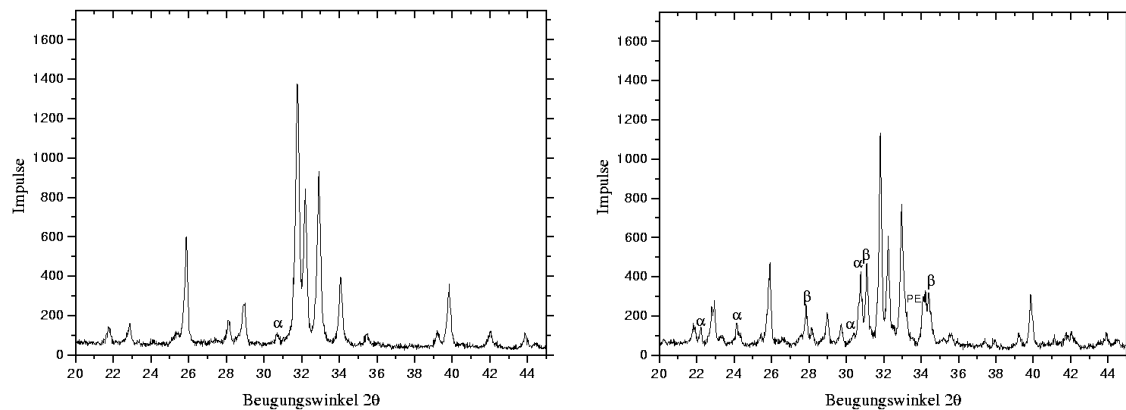


Abbildung C.18: Probe H9a\_Ti4,5 mit 4,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

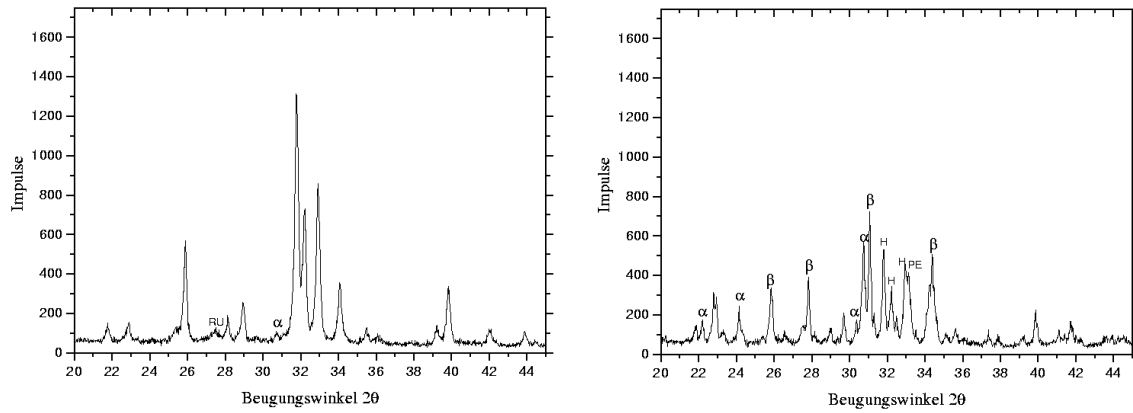


Abbildung C.19: Probe H9a\_Ti7 mit 7 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

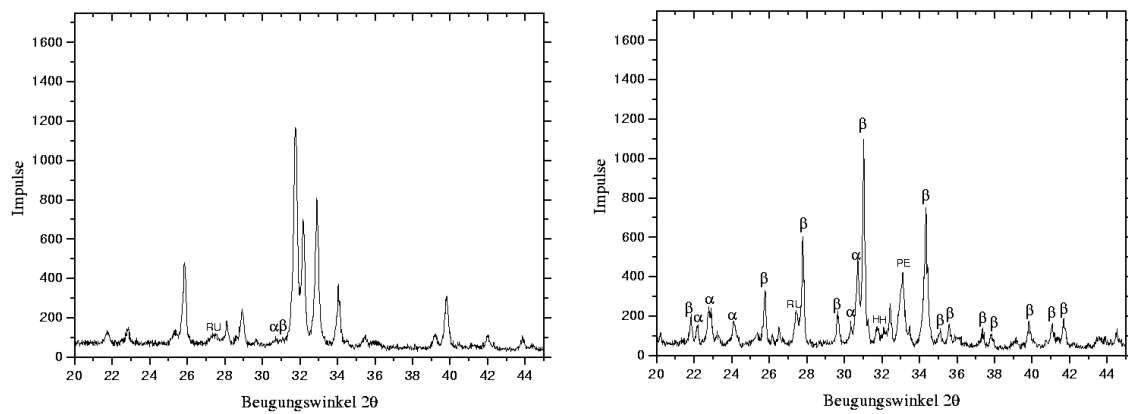


Abbildung C.20: Probe H9a\_Ti9 mit 9 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

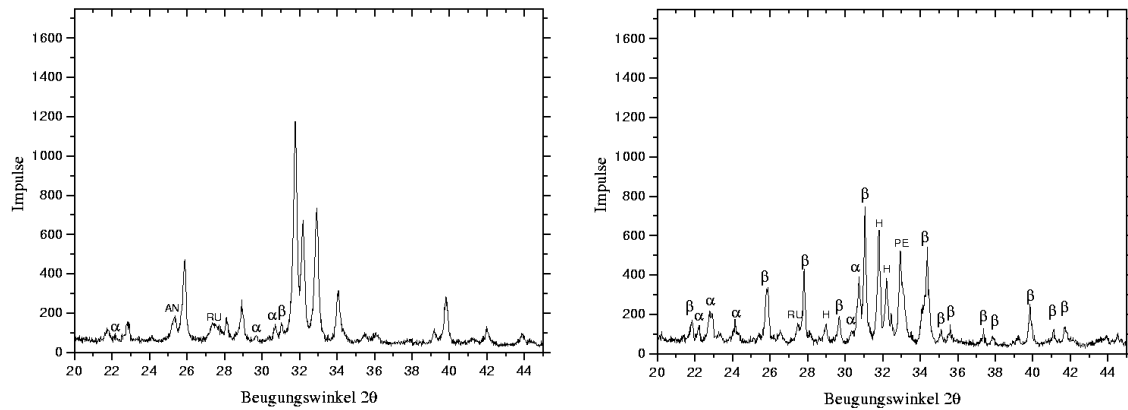


Abbildung C.21: Probe H9a\_Ti15 mit 15 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.3 Diffraktogramme der Probenserie H30

Diese Proben wurden nachträglich zur näheren Betrachtung der Titankonzentrationen von 11 % bis 19 % durchgeführt (Pilipenko[82]). Abkürzungen wie in Anhang C.1.

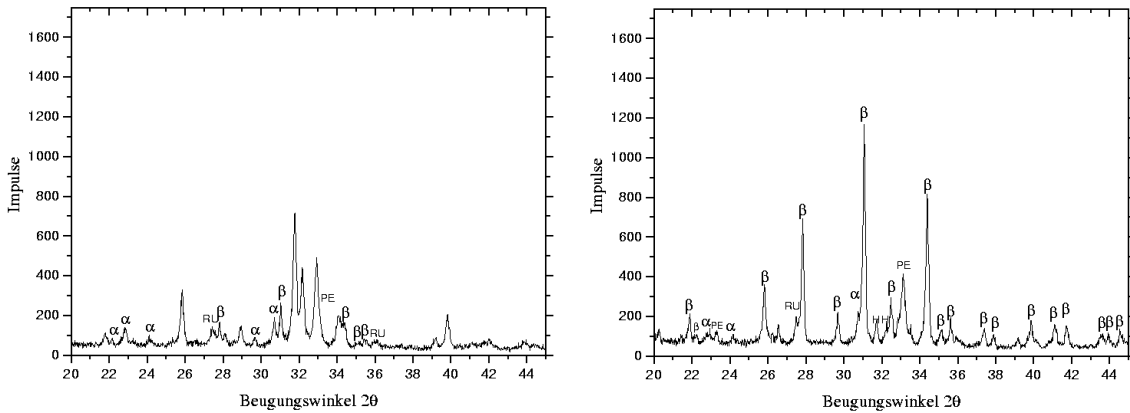


Abbildung C.22: Probe H30\_Ti11 mit 11 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

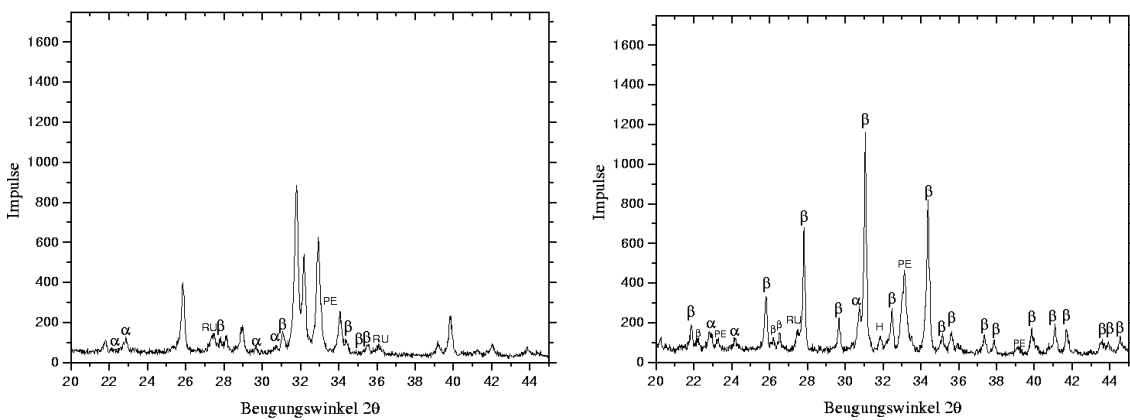


Abbildung C.23: Probe H30\_Ti12 mit 12 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

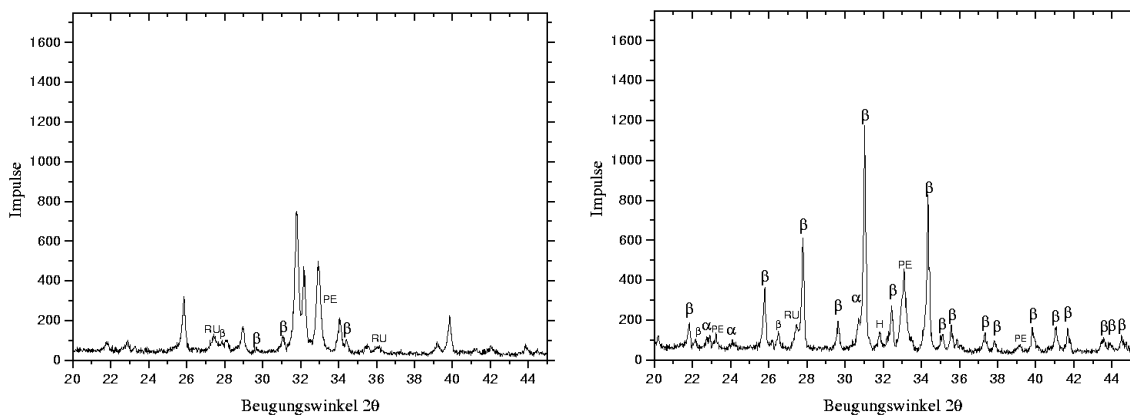


Abbildung C.24: Probe H30\_Ti13 mit 13 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

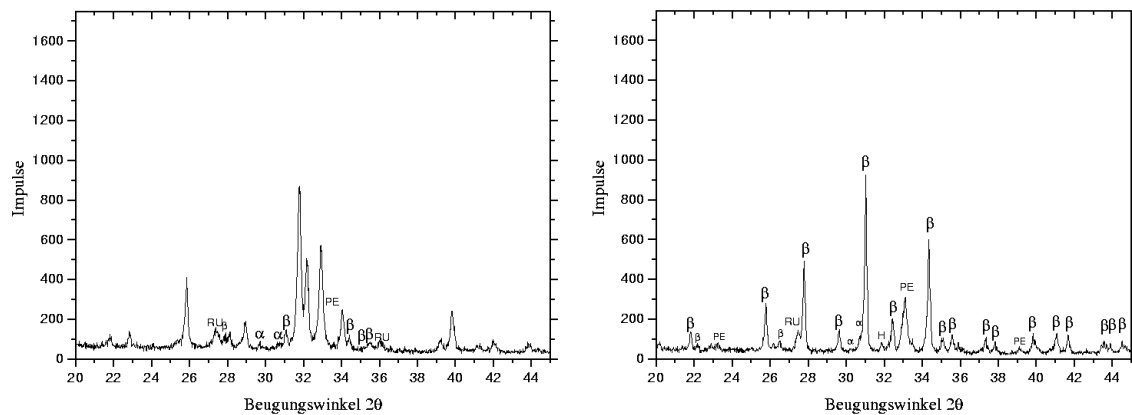


Abbildung C.25: Probe H30\_Ti14 mit 14 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

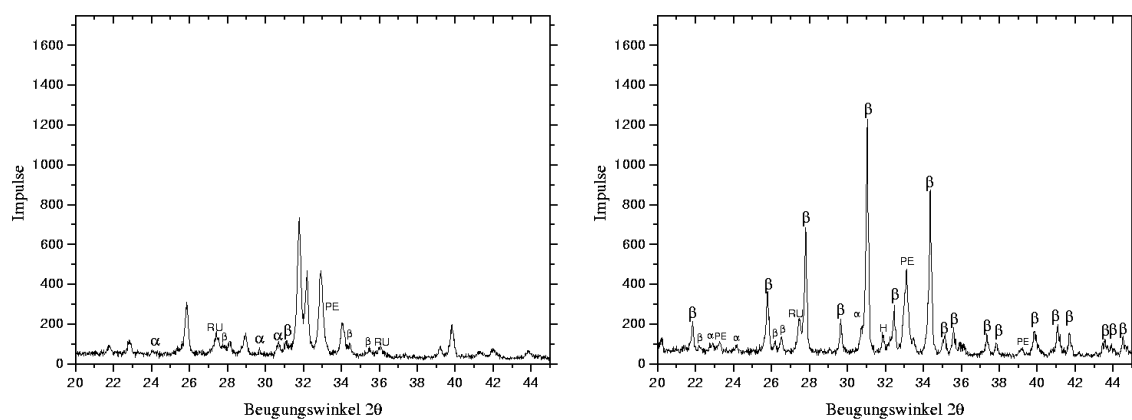


Abbildung C.26: Probe H30\_Ti15 mit 15 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

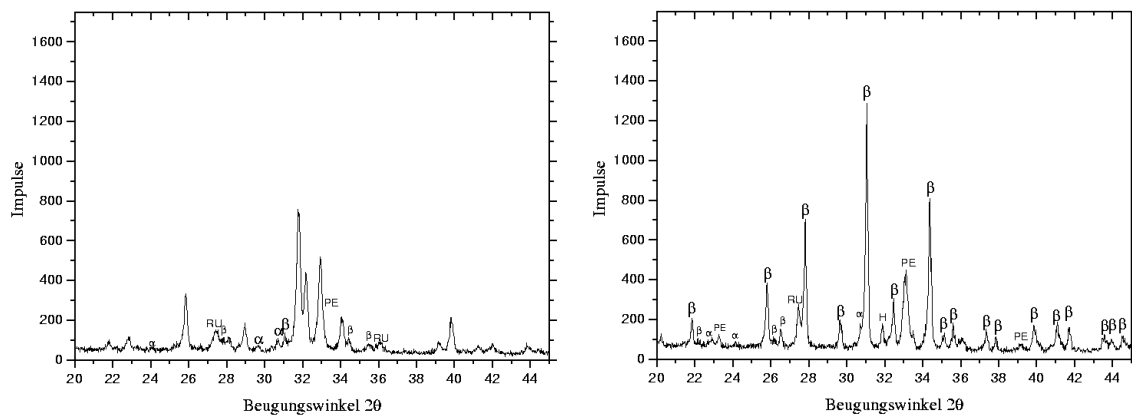


Abbildung C.27: Probe H30\_Ti16 mit 16 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

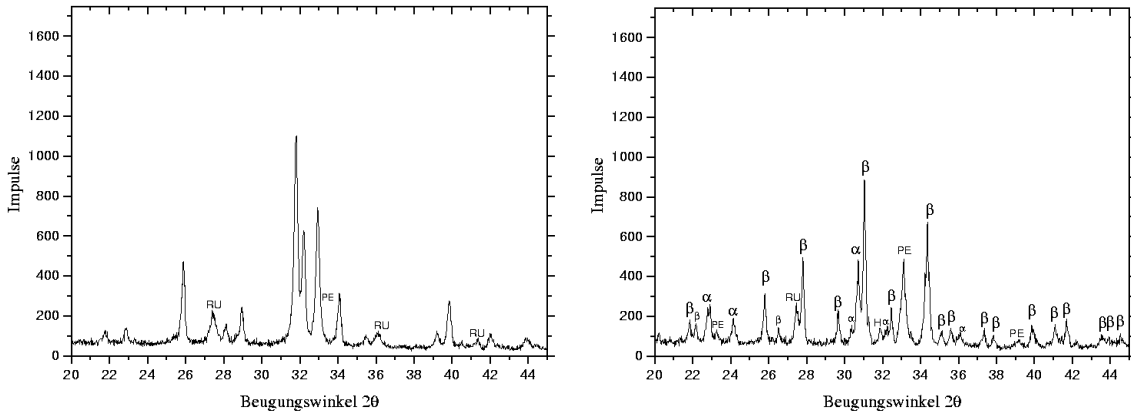


Abbildung C.28: Probe H30\_Ti17 mit 17 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

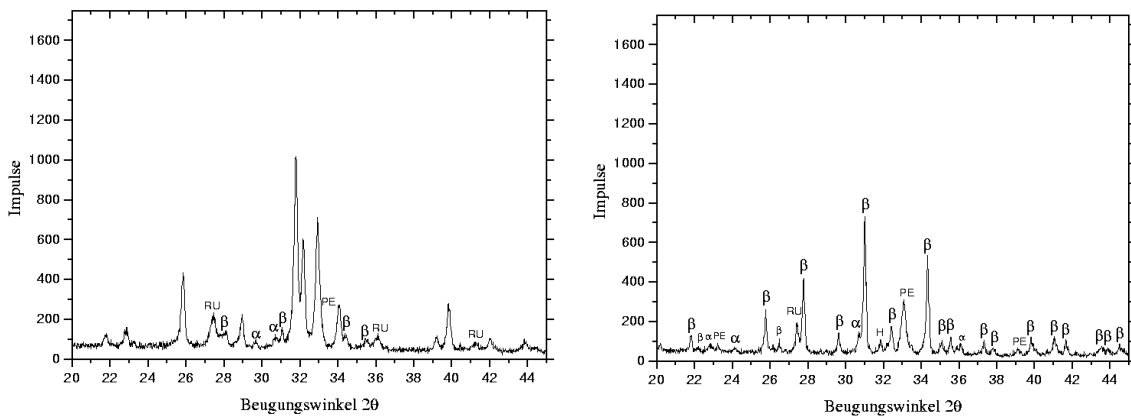


Abbildung C.29: Probe H30\_Ti18 mit 18 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

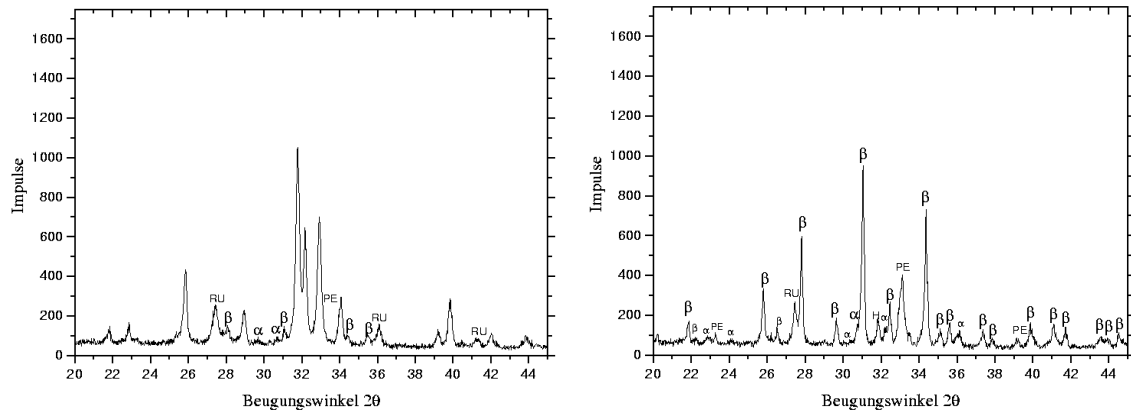


Abbildung C.30: Probe H30\_Ti19 mit 19 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.4 Diffraktogramme der Probenserie H10

In den folgenden beiden Abschnitten benutzte Abkürzungen für Peak-Markierungen (mit PDF-Nummern):

**H:** OHAp (9-0432)

$\alpha$ :  $\alpha$ -TCP (29-0359)

$\beta$ :  $\beta$ -TCP (9-0169)

**CV:**  $\text{Ca}(\text{VO}_3)_2$  (73-0971)

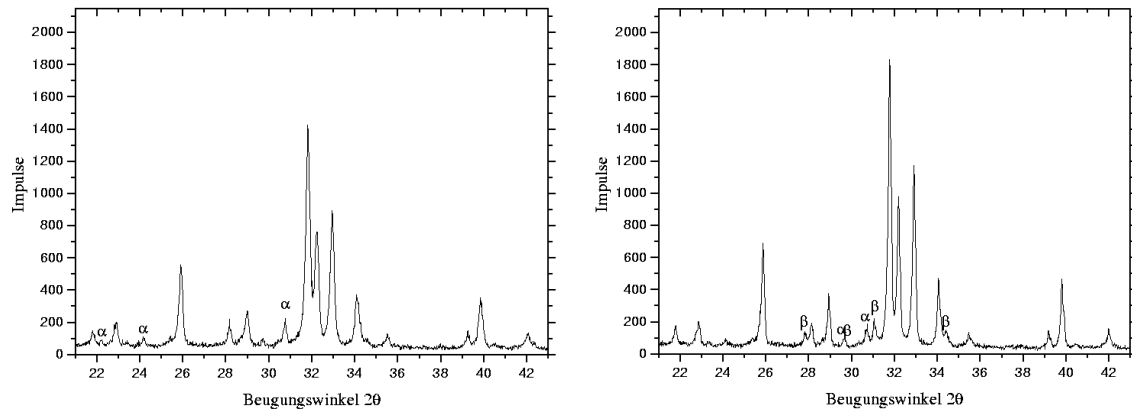


Abbildung C.31: Probe H10\_V0,5 mit 0,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

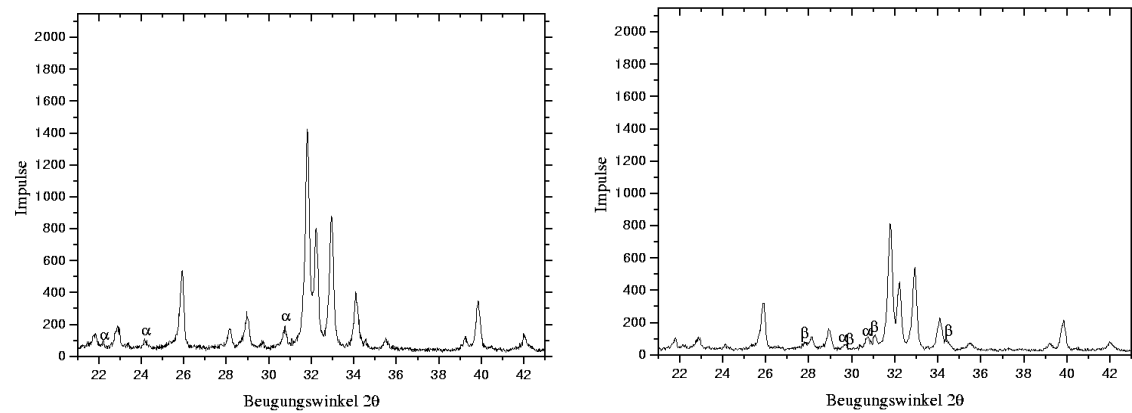


Abbildung C.32: Probe H10\_V1 mit 1 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

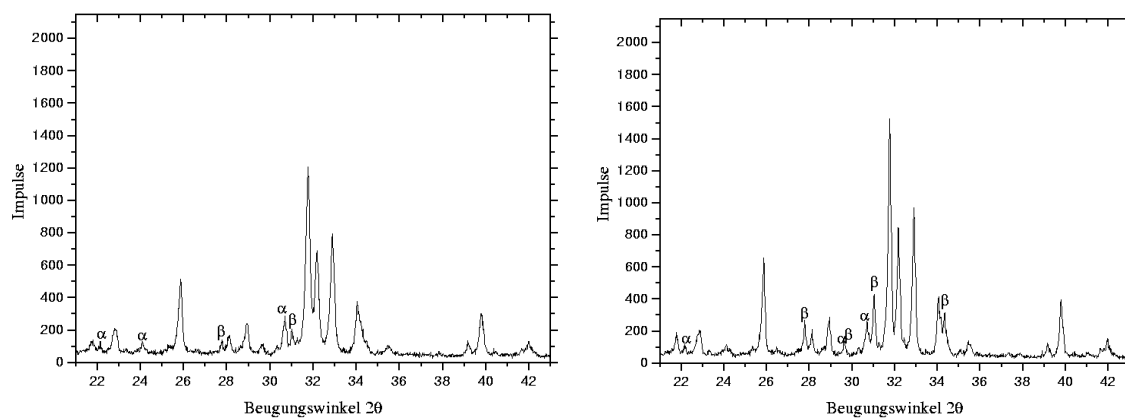


Abbildung C.33: Probe H10\_V1,5 mit 1,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

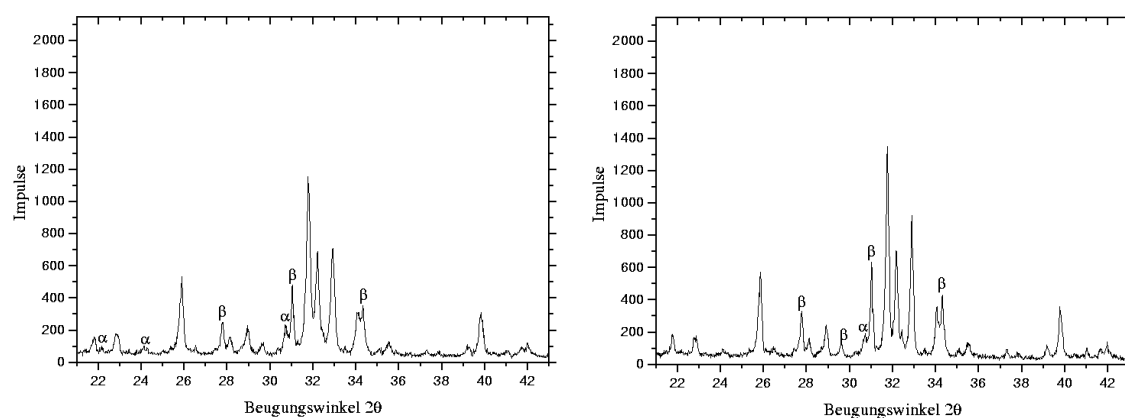


Abbildung C.34: Probe H10\_V2 mit 2 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

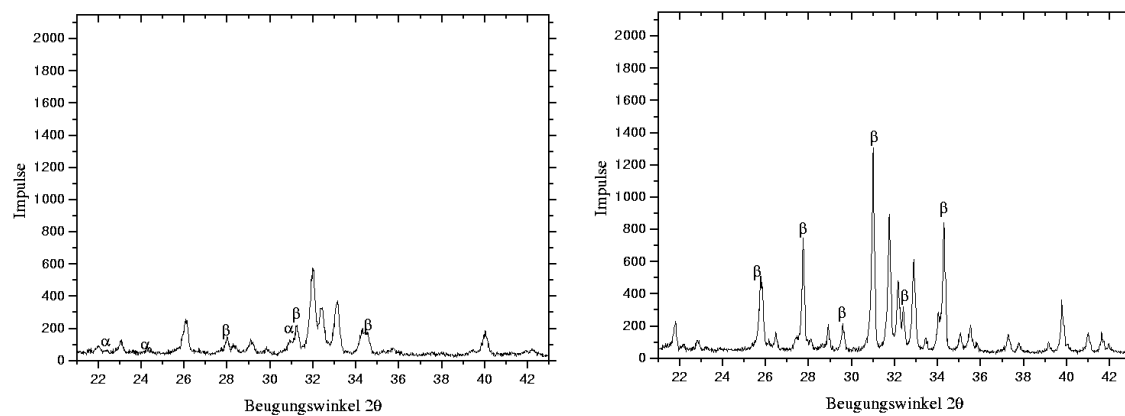


Abbildung C.35: Probe H10\_V2,5 mit 2,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

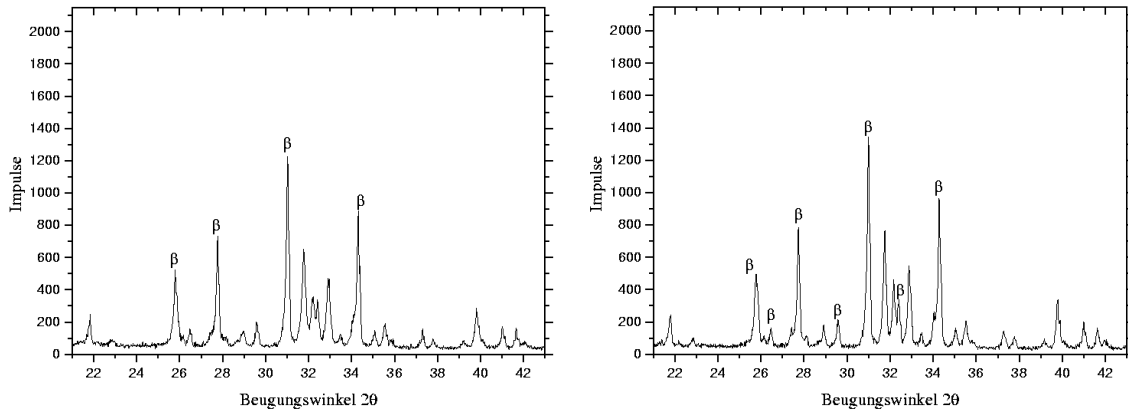


Abbildung C.36: Probe H10\_V3 mit 3 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

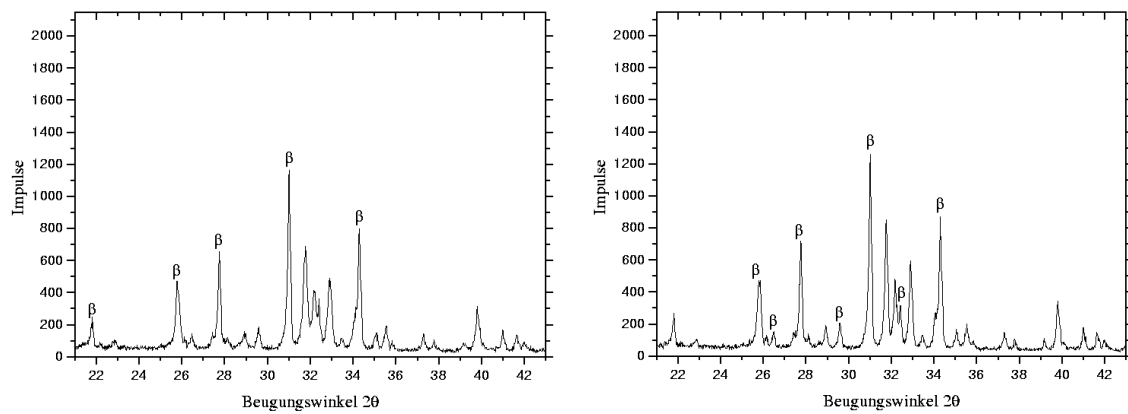


Abbildung C.37: Probe H10\_V3,5 mit 3,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

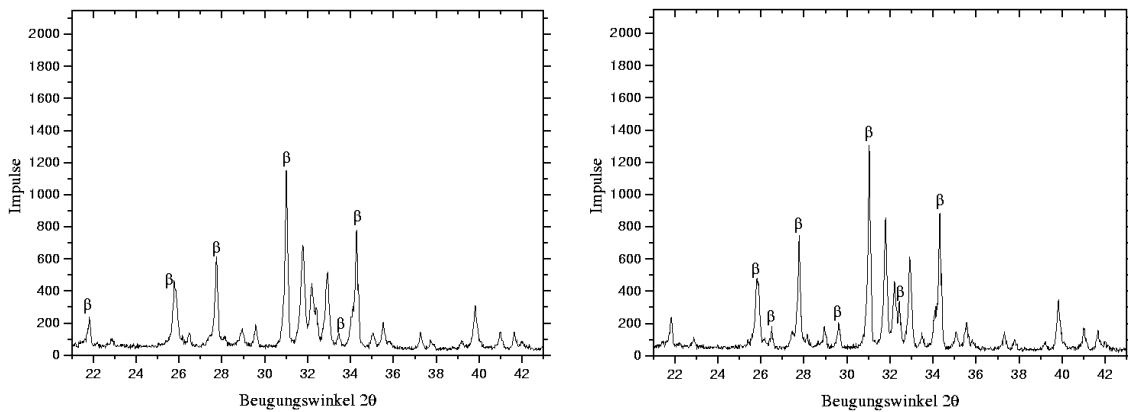


Abbildung C.38: Probe H10\_V4 mit 4 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.



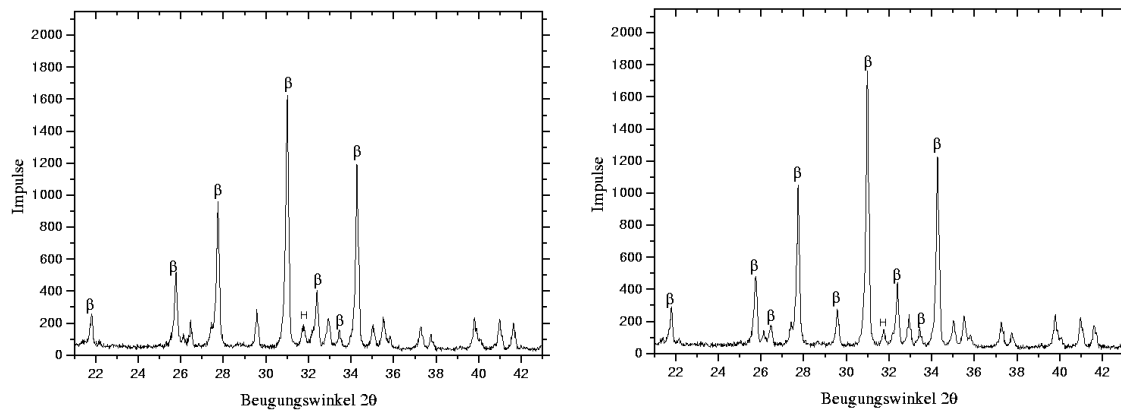


Abbildung C.39: Probe H10\_V4,5 mit 4,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

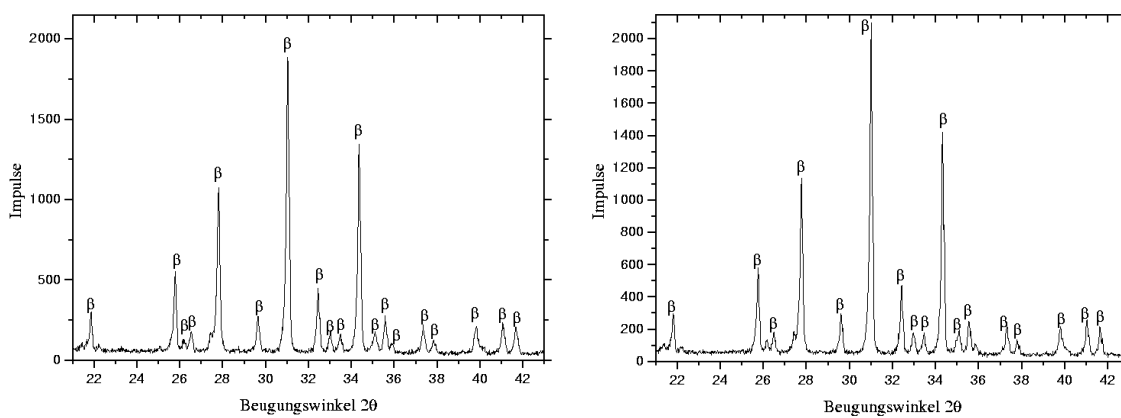


Abbildung C.40: Probe H10\_V5 mit 5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

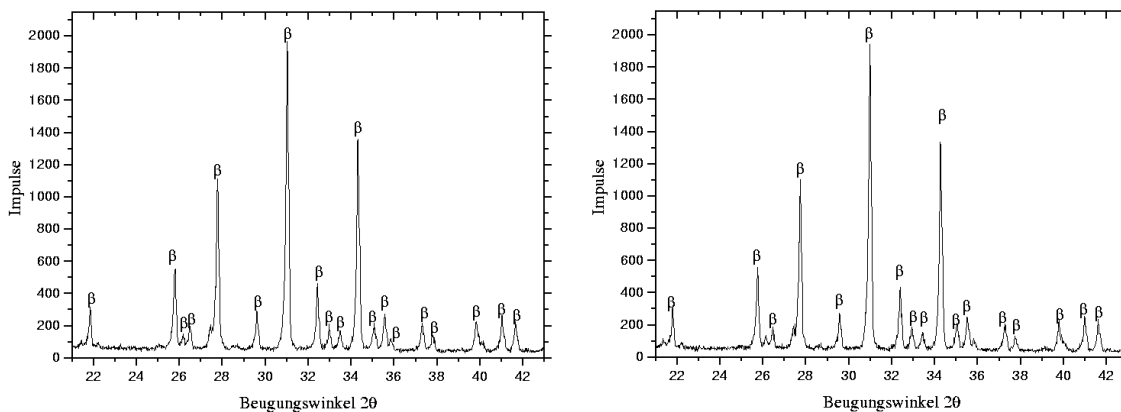


Abbildung C.41: Probe H10\_V6 mit 6 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

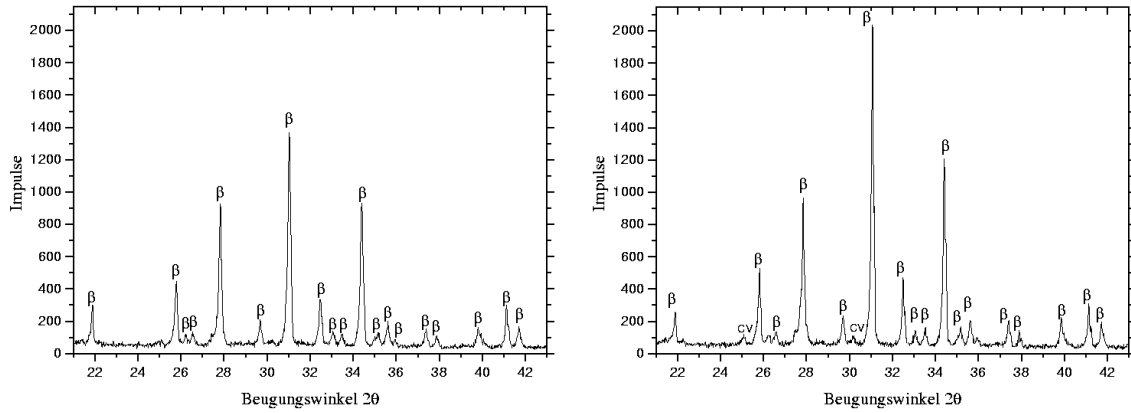


Abbildung C.42: Probe H10\_V10 mit 10 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.5 Diffraktogramme der Probenserie H14

Hier werden nur die Diffraktogramme der ersten fünf Proben gezeigt, da die Ergebnisse für höhere Vanadiumanteile sehr ähnlich ausfielen.

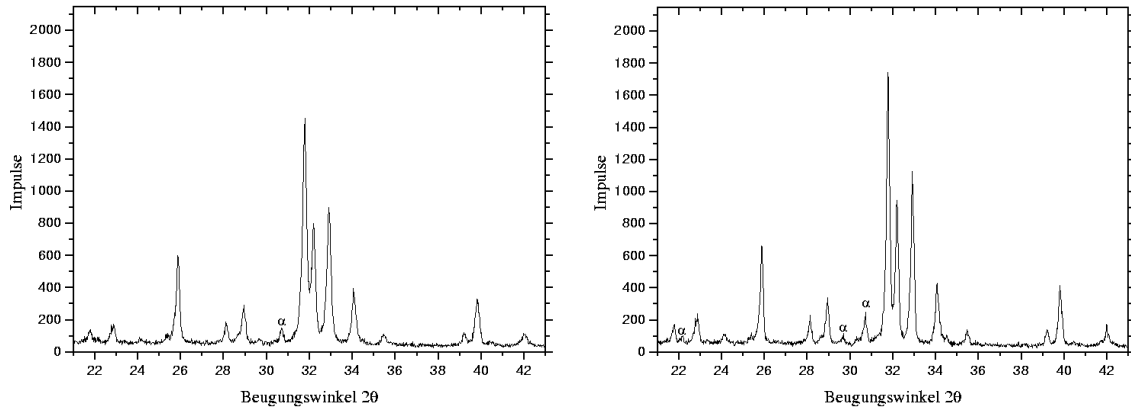


Abbildung C.43: Probe H14\_V0,5 mit 0,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

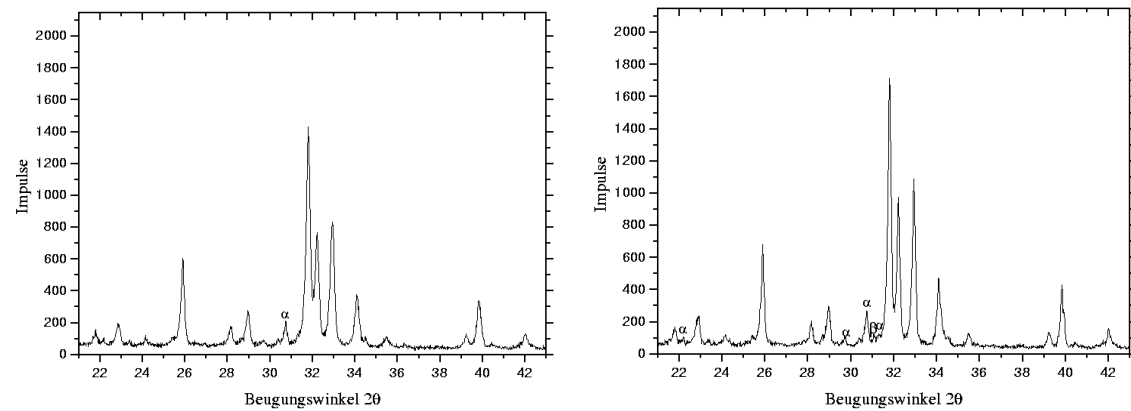


Abbildung C.44: Probe H14\_V1 mit 1 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

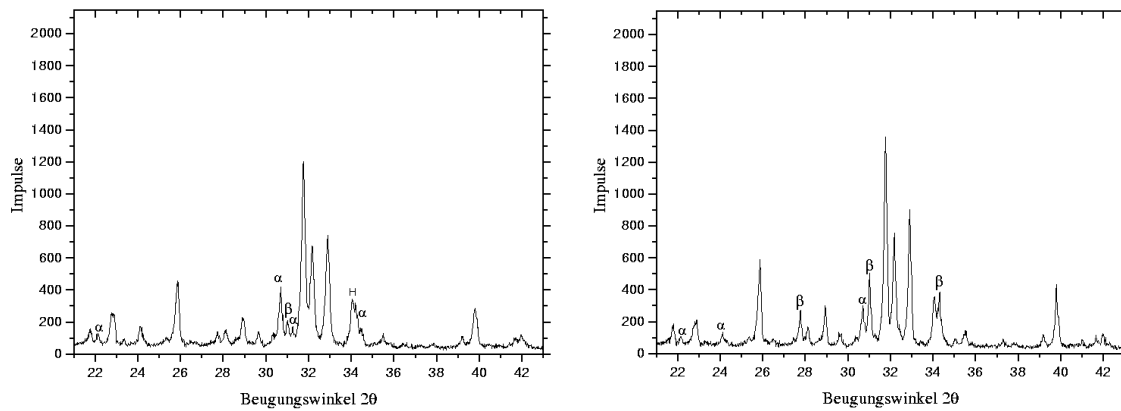


Abbildung C.45: Probe H14\_V1,5 mit 1,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

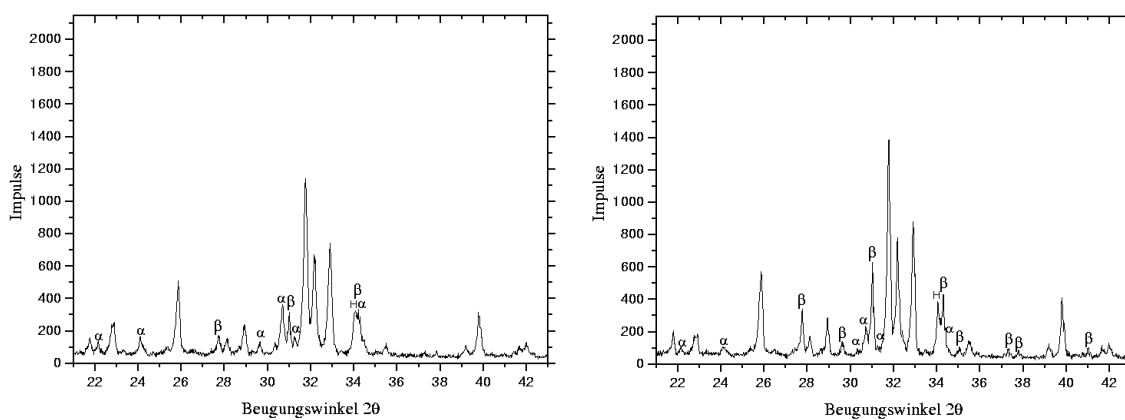


Abbildung C.46: Probe H14\_V2 mit 2 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

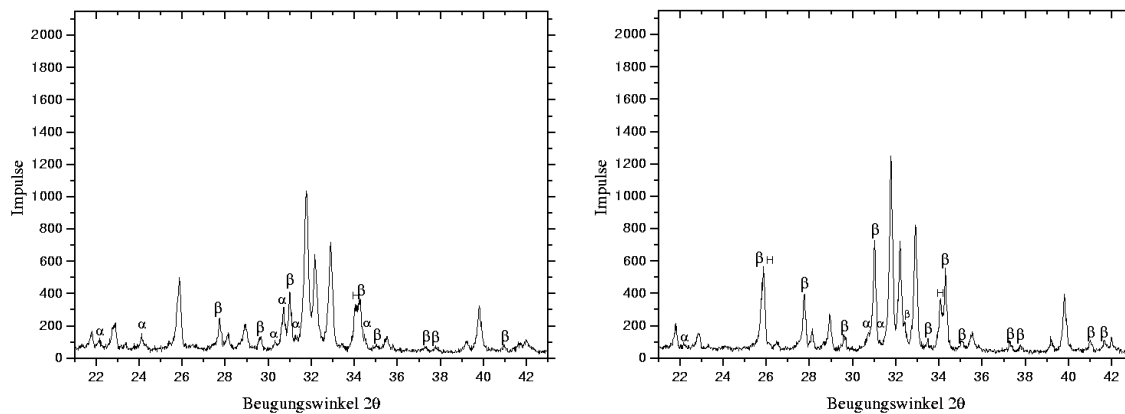


Abbildung C.47: Probe H14\_V2,5 mit 2,5 % V. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.6 Diffraktogramme der Probenserie H8

Benutzte Abkürzungen für Peak-Markierungen (mit PDF-Nummern):

**H:** OHAp (9-0432)

$\alpha$ :  $\alpha$ -TCP (29-0359)

$\beta$ :  $\beta$ -TCP (9-0169)

**C:**  $\text{Ca}_{19}\text{Co}_2(\text{PO}_4)_{14}$  (49-1081)

**CO:**  $\text{Co}_3\text{O}_4$  (78-1970)

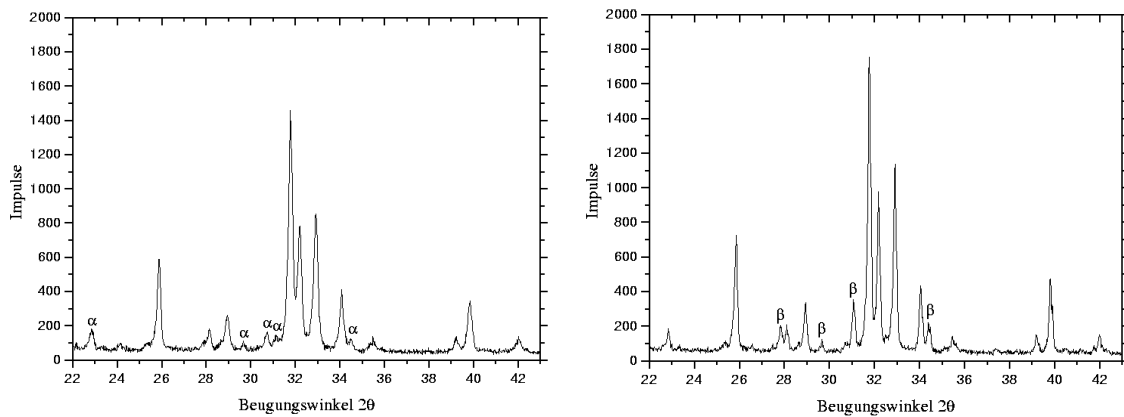


Abbildung C.48: Probe H8\_Co0,5 mit 0,5 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

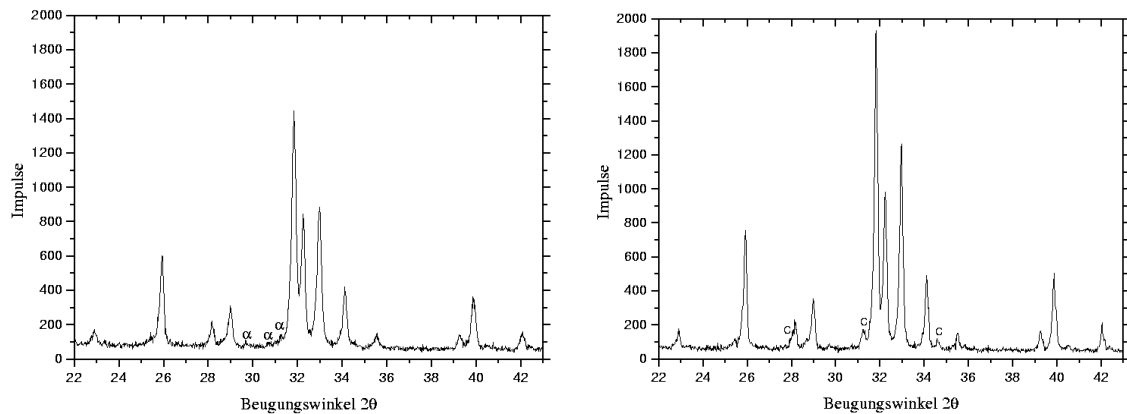


Abbildung C.49: Probe H8\_Co1 mit 1 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

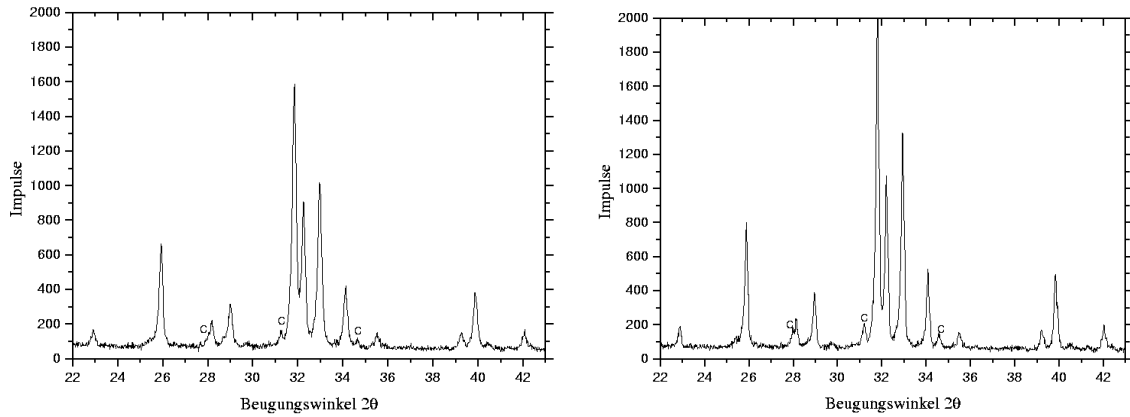


Abbildung C.50: Probe H8\_Co1,5 mit 1,5 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

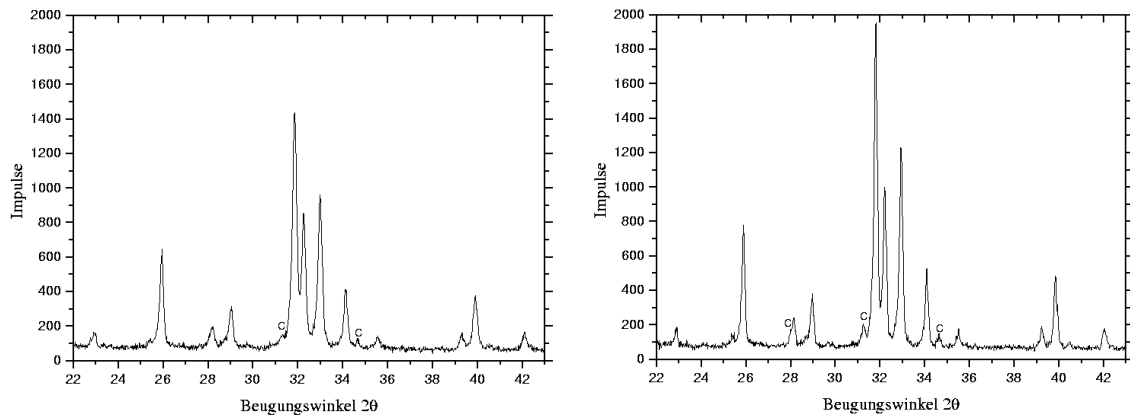


Abbildung C.51: Probe H8\_Co2 mit 2 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

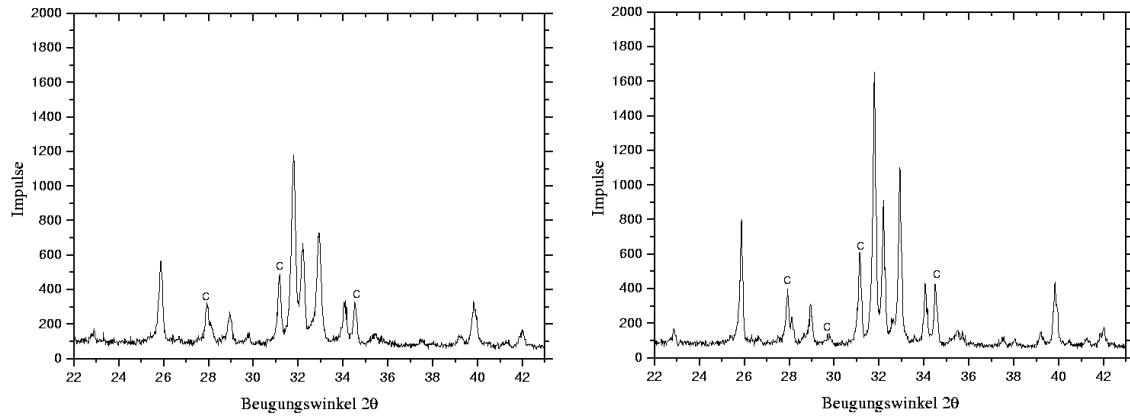


Abbildung C.52: Probe H8\_Co2,5 mit 2,5 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

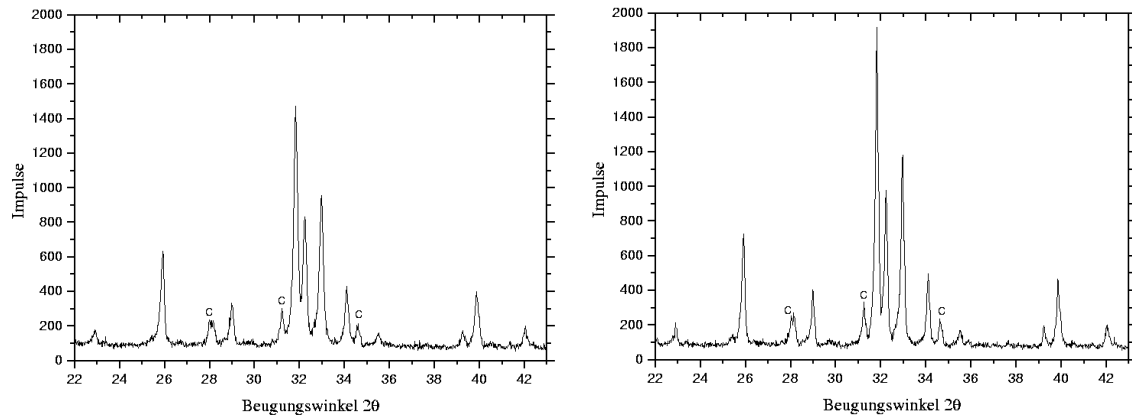


Abbildung C.53: Probe H8\_Co3 mit 3 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

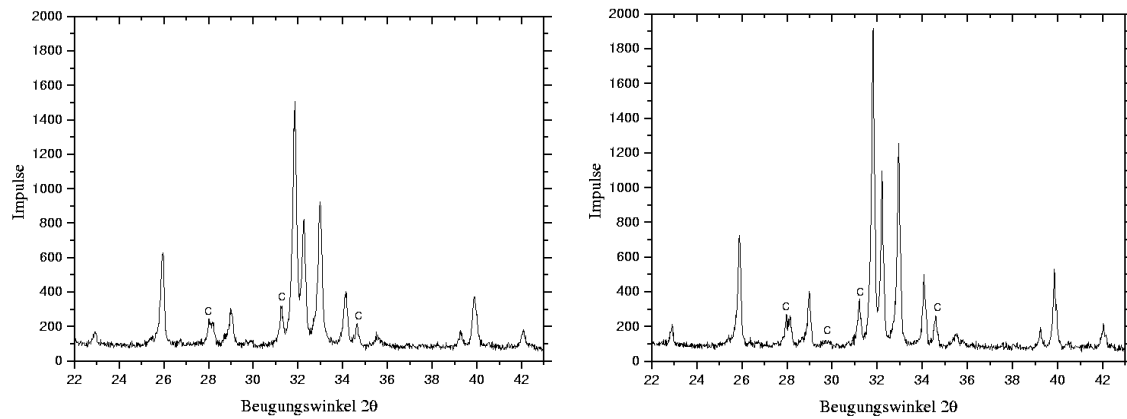


Abbildung C.54: Probe H8\_Co3,5 mit 3,5 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

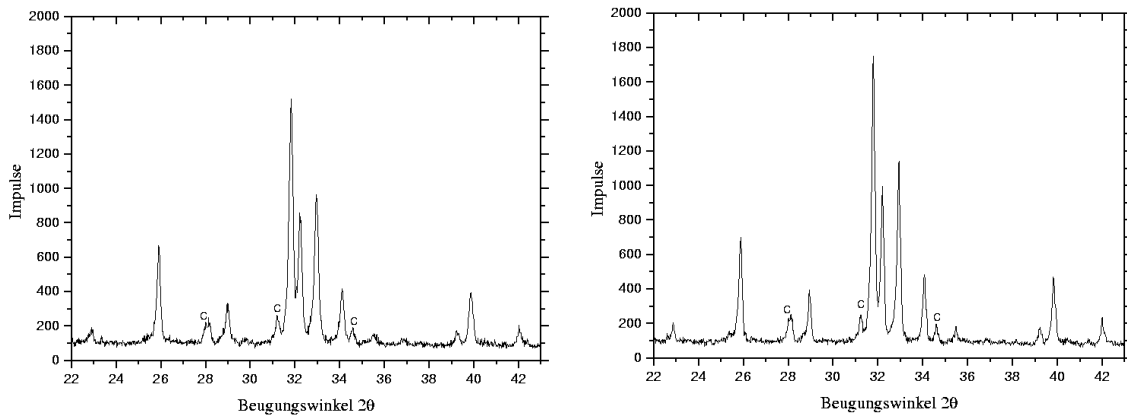


Abbildung C.55: Probe H8\_Co4 mit 4 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

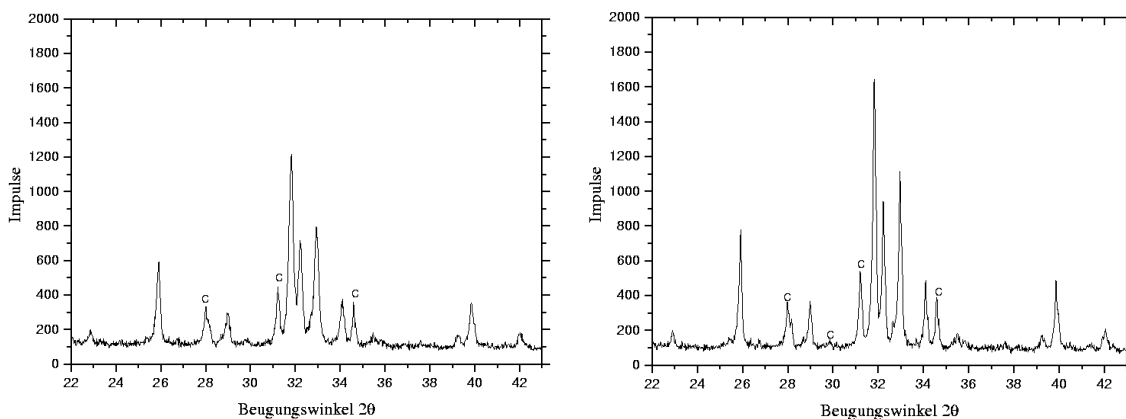


Abbildung C.56: Probe H8\_Co5 mit 5 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

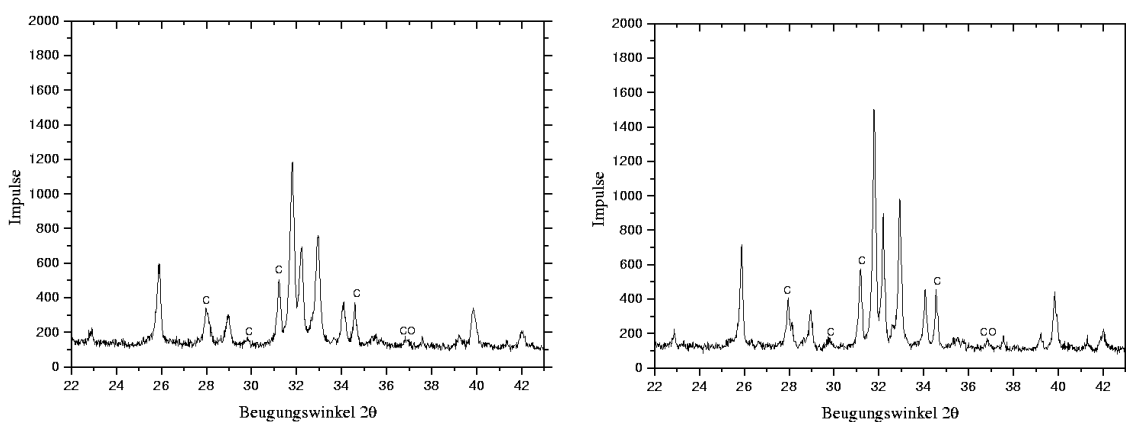


Abbildung C.57: Probe H8\_Co8 mit 8 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

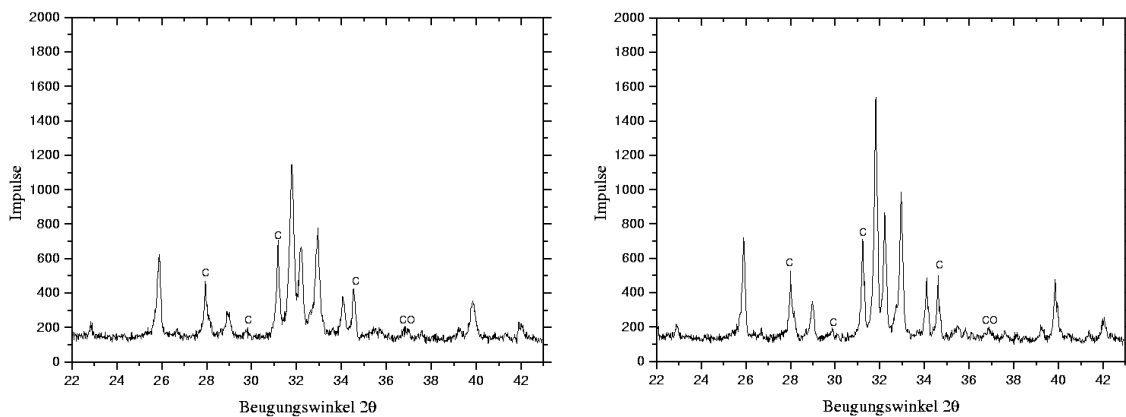


Abbildung C.58: Probe H8\_Co10 mit 10 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

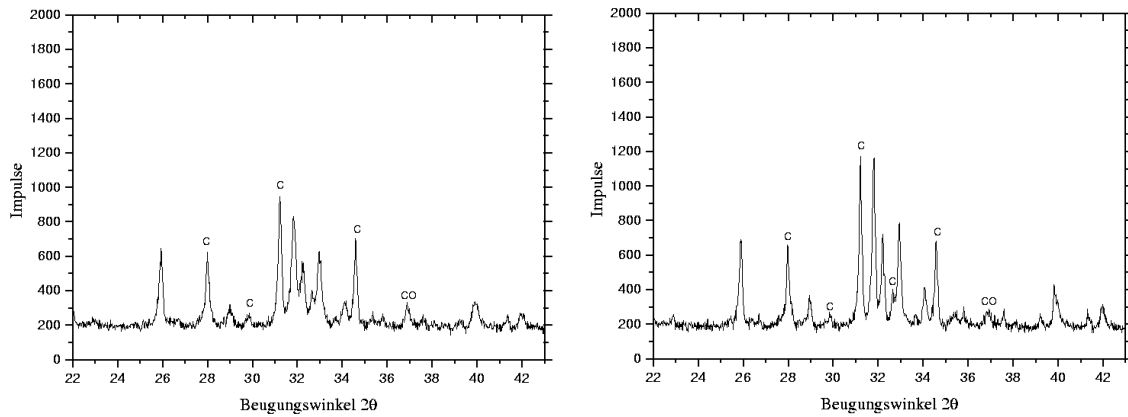


Abbildung C.59: Probe H8\_Co20 mit 20 % Co. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.7 Diffraktogramme der Probenserie H12

Benutzte Abkürzungen für Peak-Markierungen (mit PDF-Nummern):

**H:** OHAp (9-0432)

$\alpha$ :  $\alpha$ -TCP (29-0359)

$\beta$ :  $\beta$ -TCP (9-0169)

**CR:**  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  (84-1616)

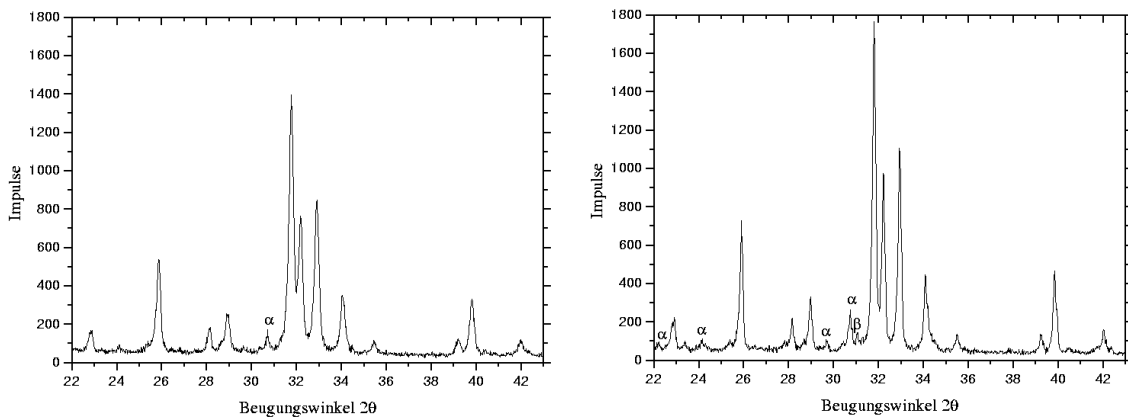


Abbildung C.60: Probe H12\_Cr0,5 mit 0,5 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.



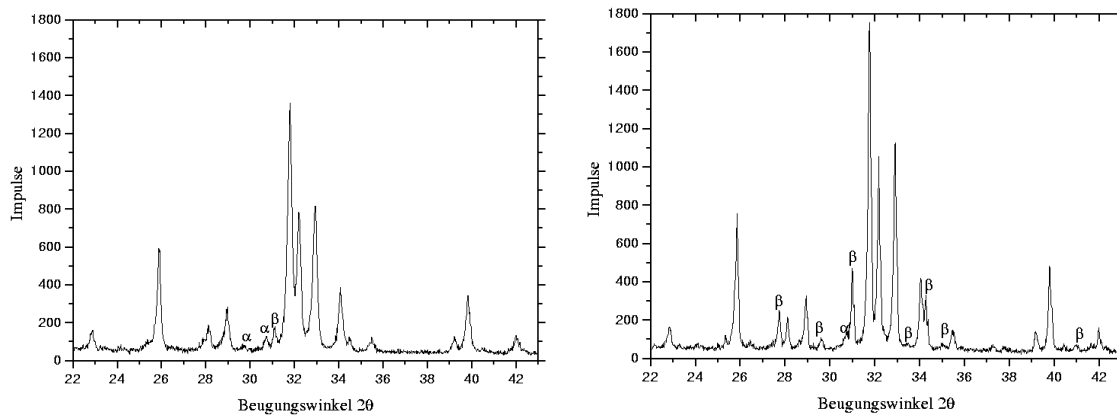


Abbildung C.61: Probe H12\_Cr1 mit 1 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

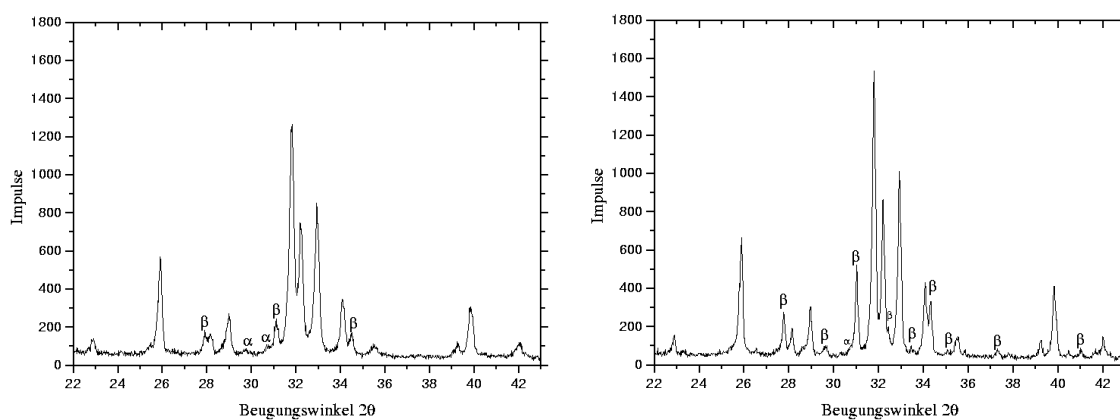


Abbildung C.62: Probe H12\_Cr1,5 mit 1,5 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

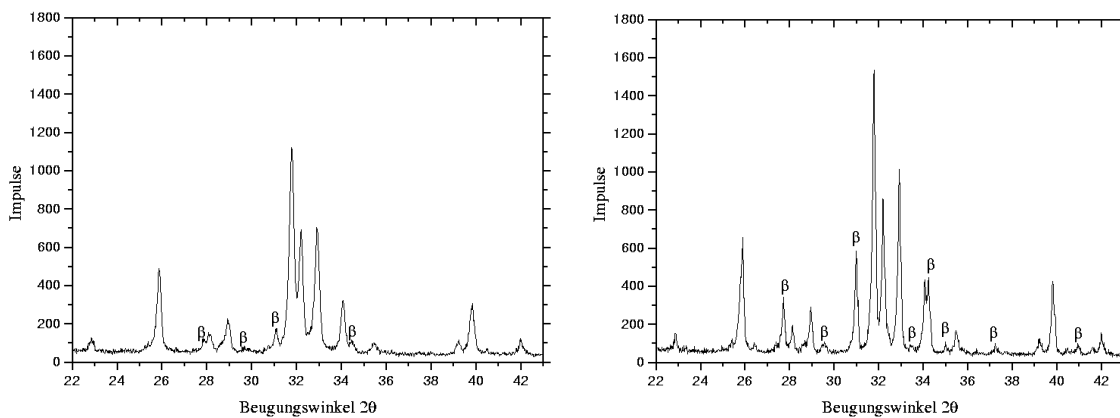


Abbildung C.63: Probe H12\_Cr2 mit 2 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

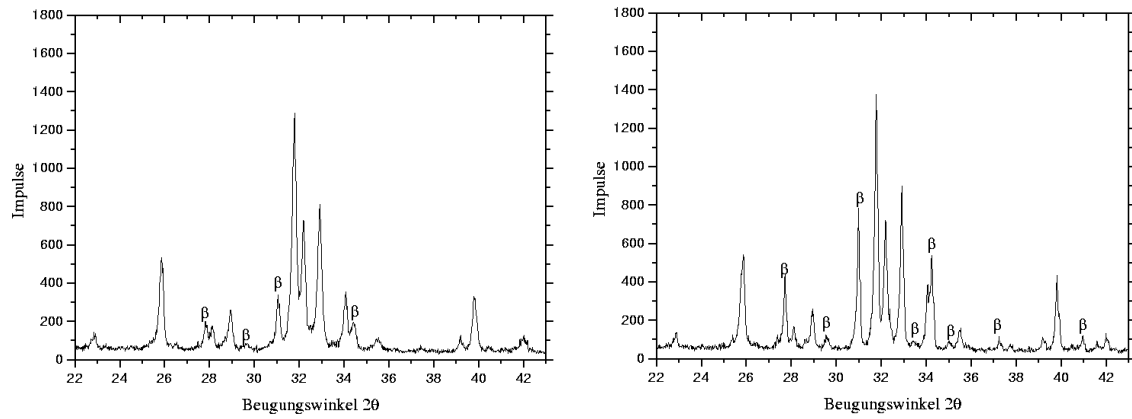


Abbildung C.64: Probe H12\_Cr2,5 mit 2,5 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

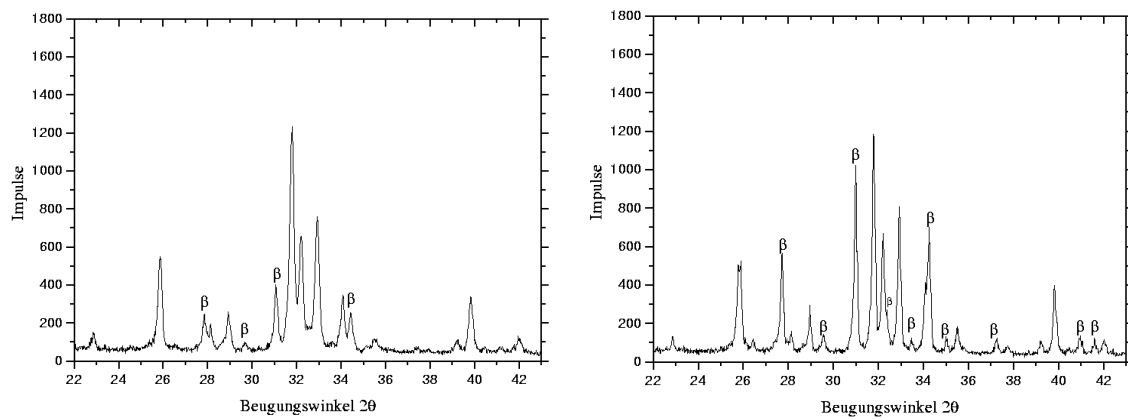


Abbildung C.65: Probe H12\_Cr3 mit 3 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

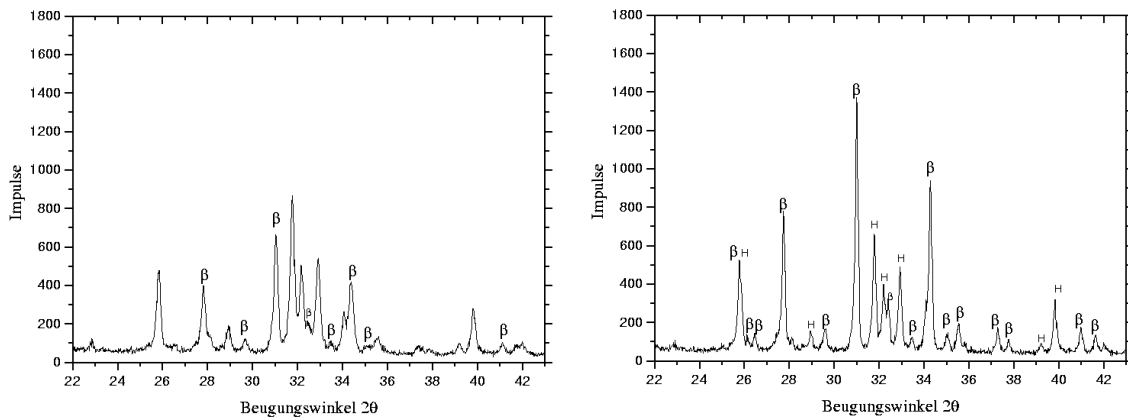


Abbildung C.66: Probe H12\_Cr3,5 mit 3,5 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

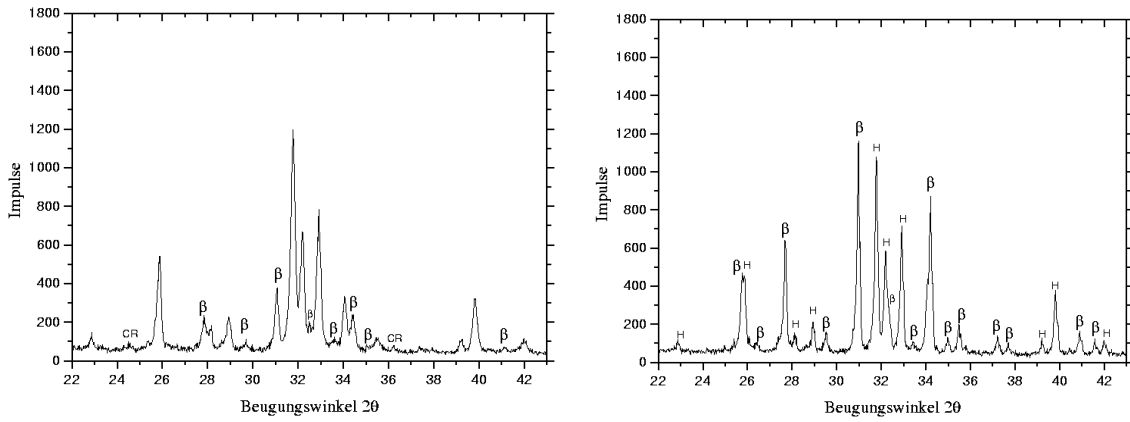


Abbildung C.67: Probe H12\_Cr4 mit 4 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

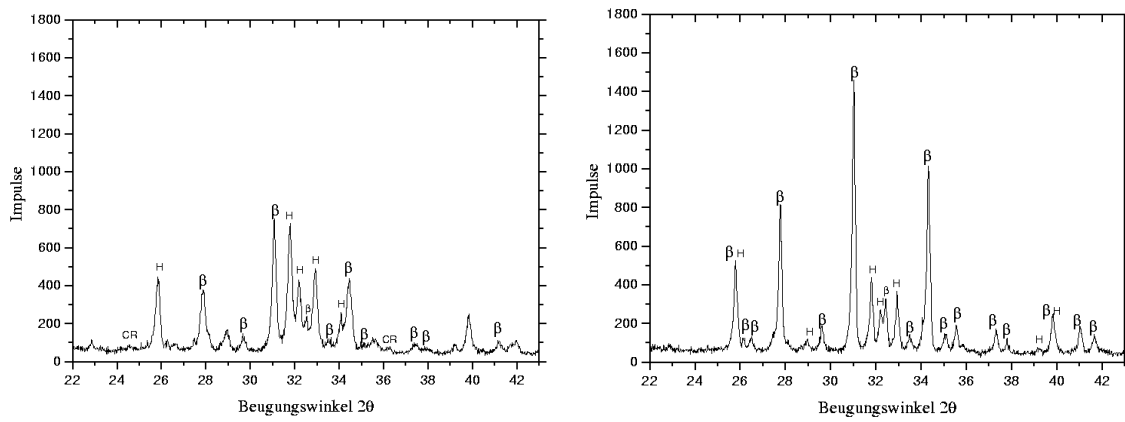


Abbildung C.68: Probe H12\_Cr5 mit 5 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

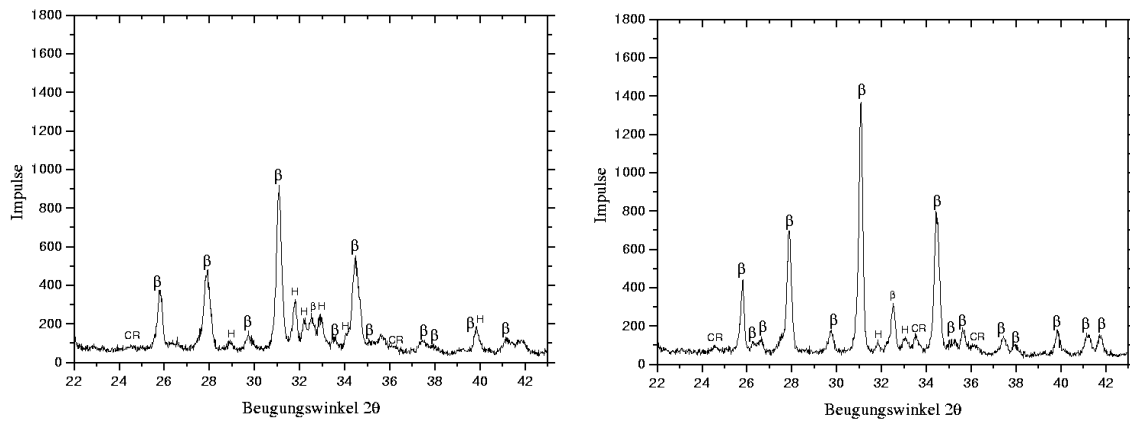


Abbildung C.69: Probe H12\_Cr8 mit 8 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

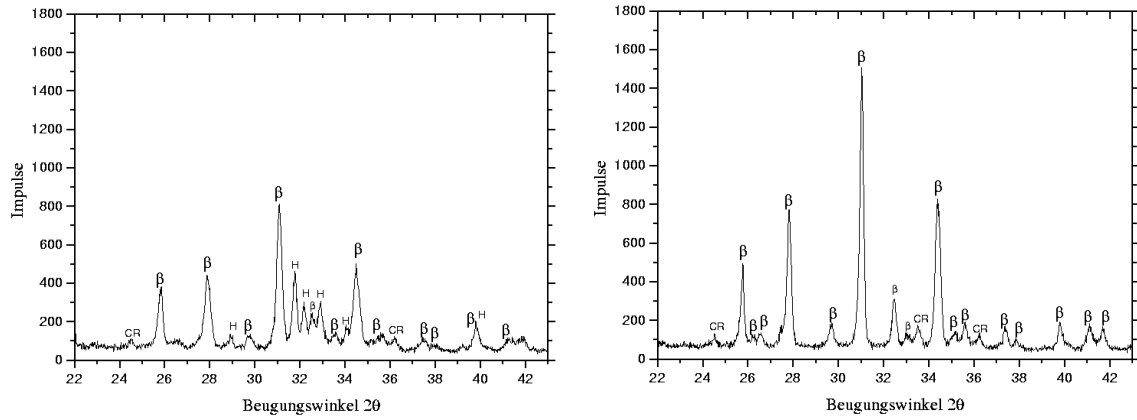


Abbildung C.70: Probe H12\_Cr10 mit 10 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

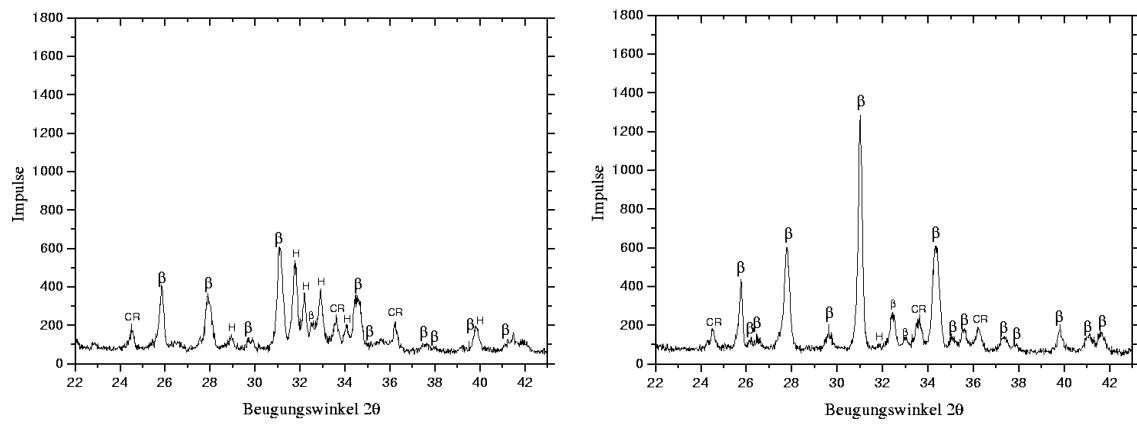


Abbildung C.71: Probe H12\_Cr20 mit 20 % Cr. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.8 Diffraktogramme der Probenserie H11

Benutzte Abkürzungen für Peak-Markierungen (mit PDF-Nummern):

**H:** OHAp (9-0432)

$\alpha$ :  $\alpha$ -TCP (29-0359)

$\beta$ :  $\beta$ -TCP (9-0169)

**AP:**  $\text{Ca}_9\text{Al}(\text{PO}_4)_7$  (48-1192)

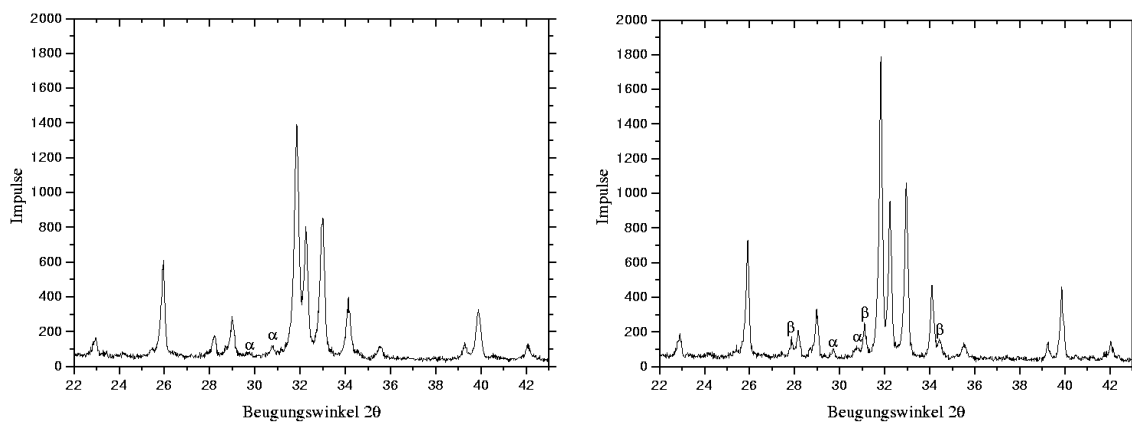


Abbildung C.72: Probe H11\_A10,1 mit 0,1 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

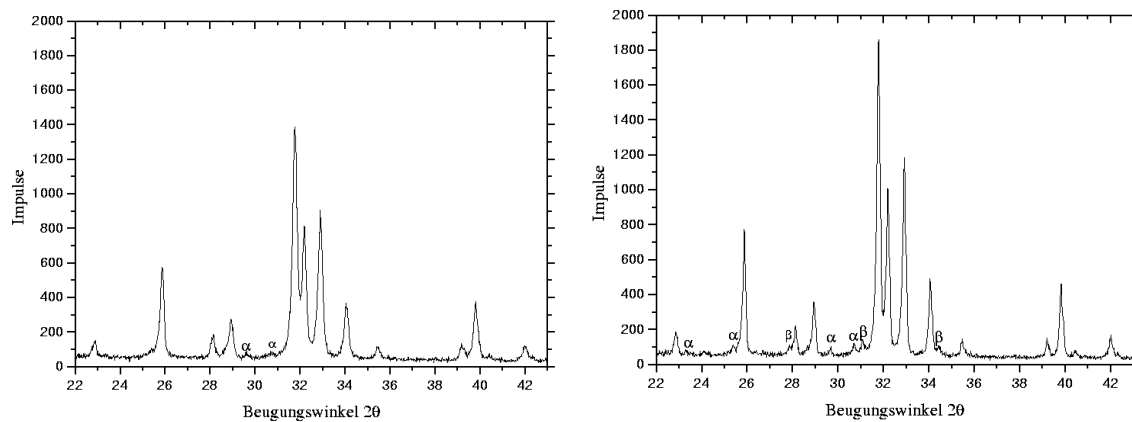


Abbildung C.73: Probe H11\_A10,2 mit 0,2 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

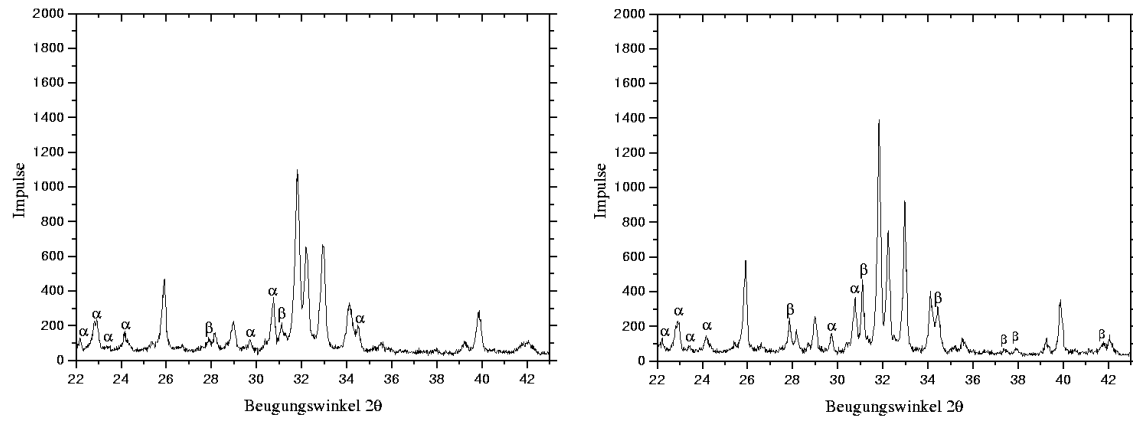


Abbildung C.74: Probe H11\_A10,3 mit 0,3 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

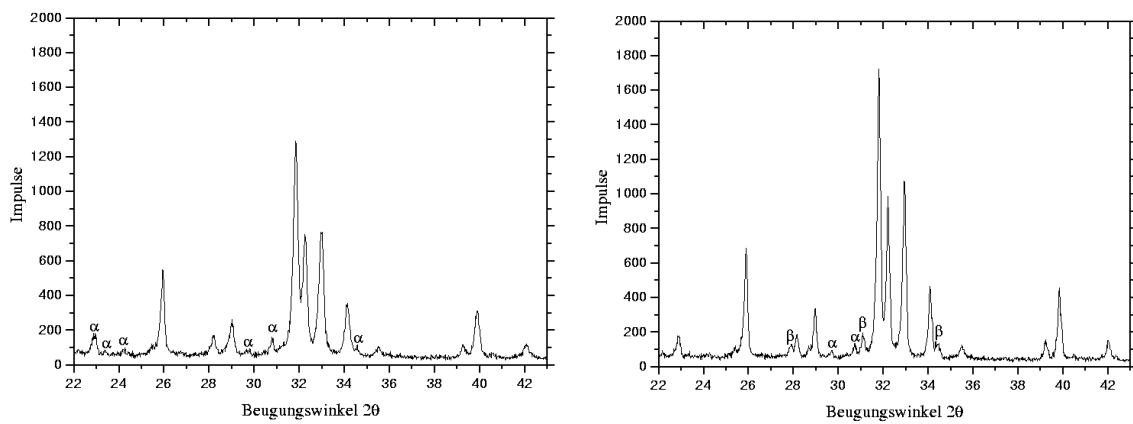


Abbildung C.75: Probe H11\_A10,4 mit 0,4 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

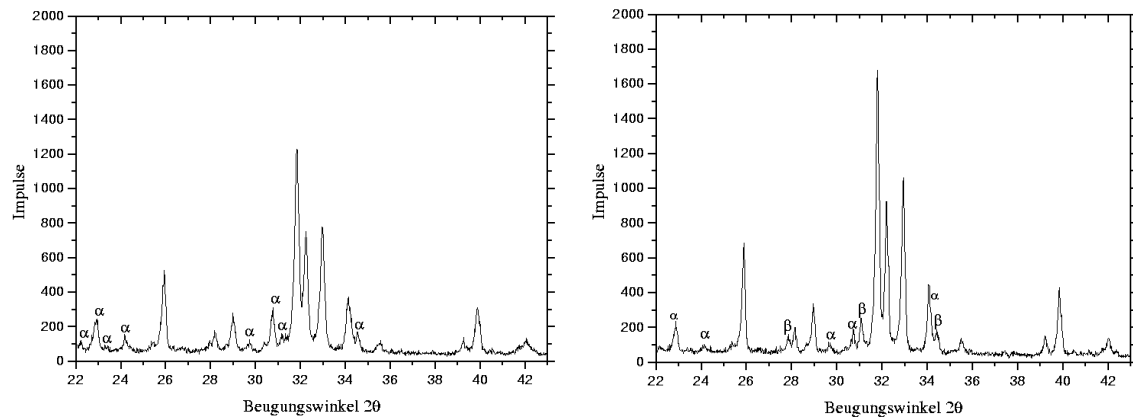


Abbildung C.76: Probe H11\_A10,5 mit 0,5 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

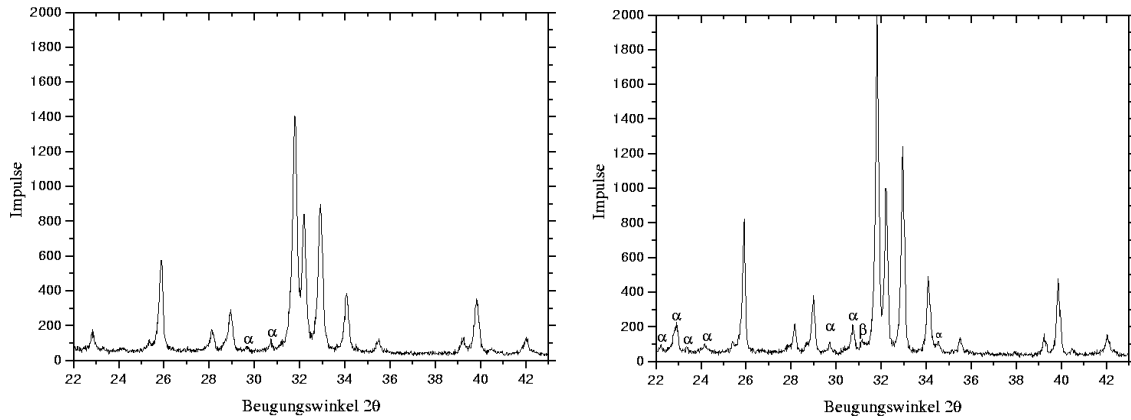


Abbildung C.77: Probe H11\_A10,6 mit 0,6 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

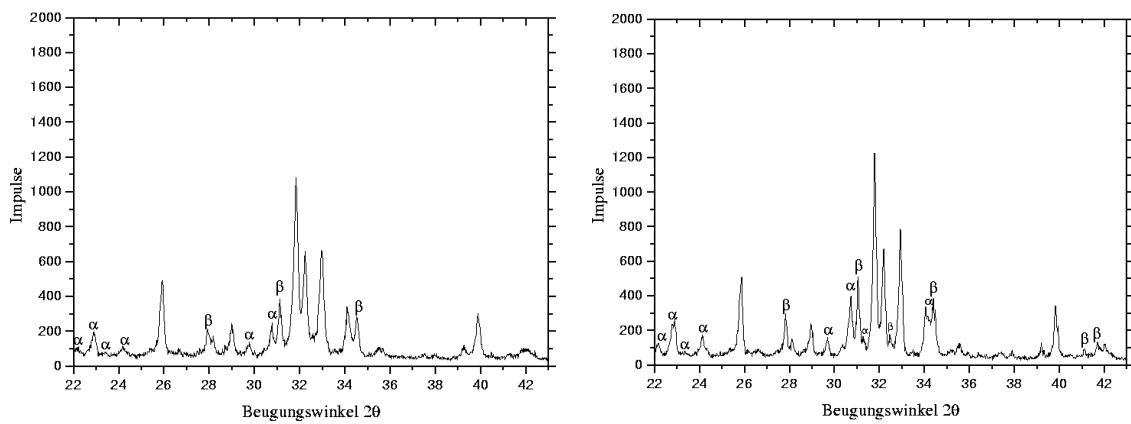


Abbildung C.78: Probe H11\_A10,7 mit 0,7 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

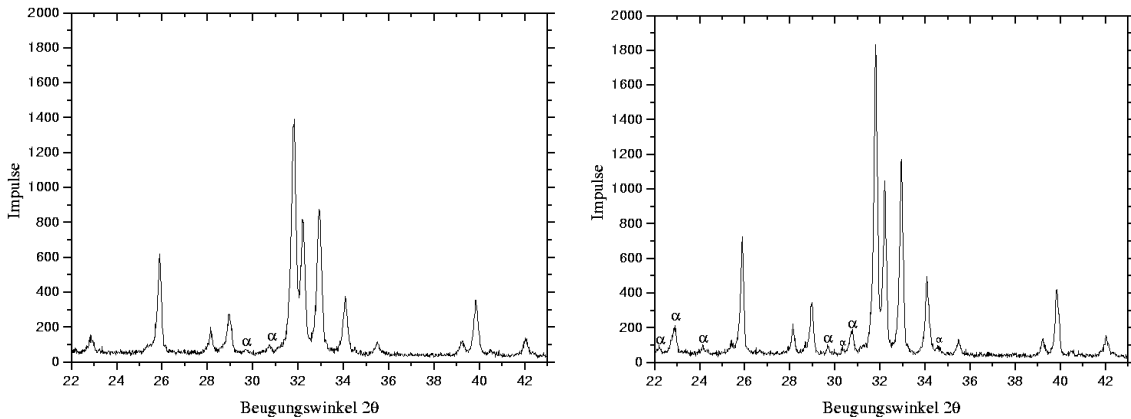


Abbildung C.79: Probe H11\_A10,8 mit 0,8 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

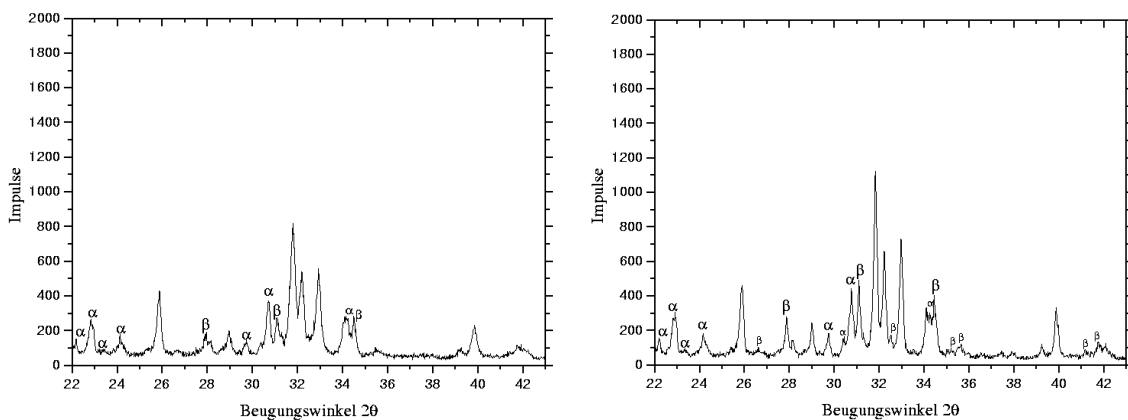


Abbildung C.80: Probe H11\_A11 mit 1 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

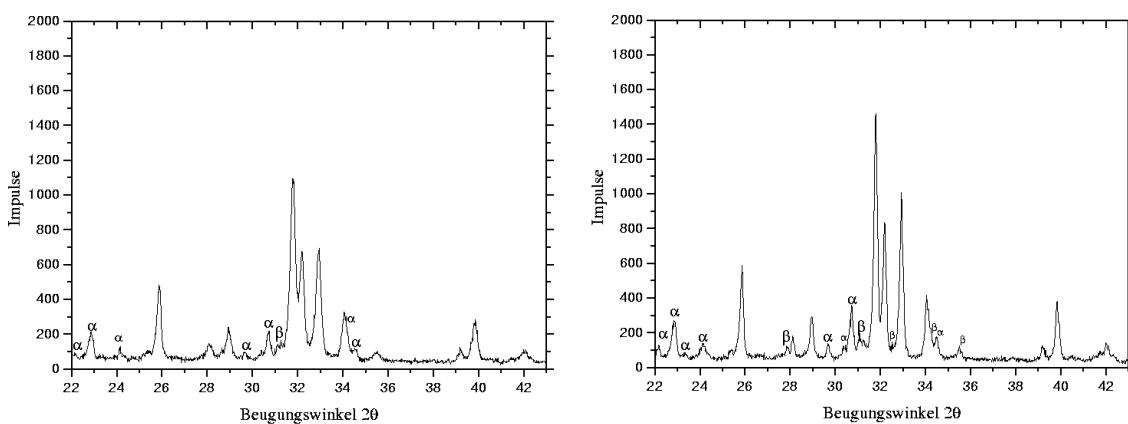


Abbildung C.81: Probe H11\_A11,2 mit 1,2 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

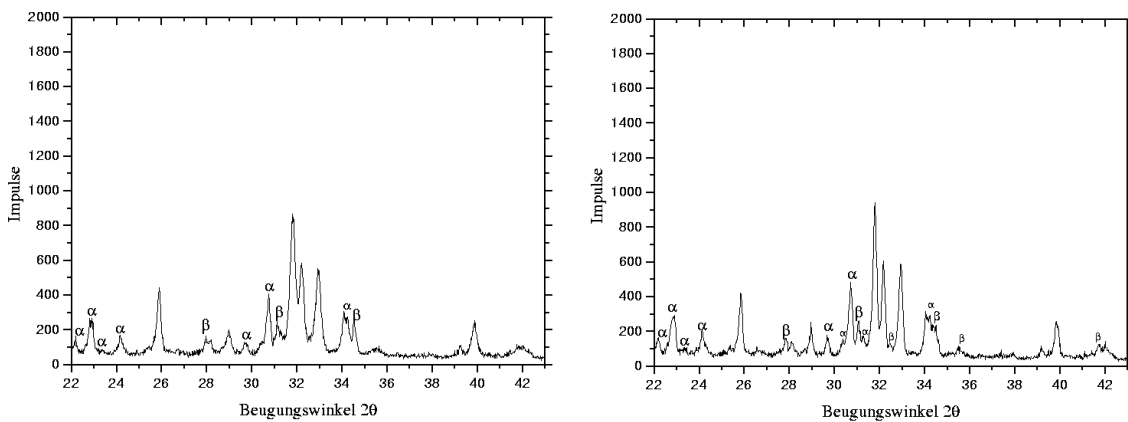


Abbildung C.82: Probe H11\_A11,6 mit 1,6 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.



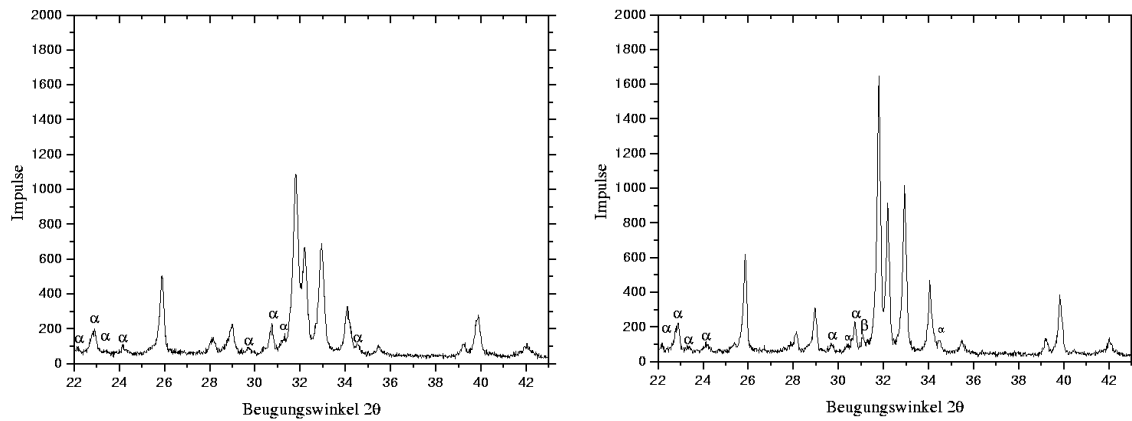


Abbildung C.83: Probe H11\_Al2 mit 2 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.9 Diffraktogramme der Probenserie H24

Abkürzungen wie im letzten Abschnitt.

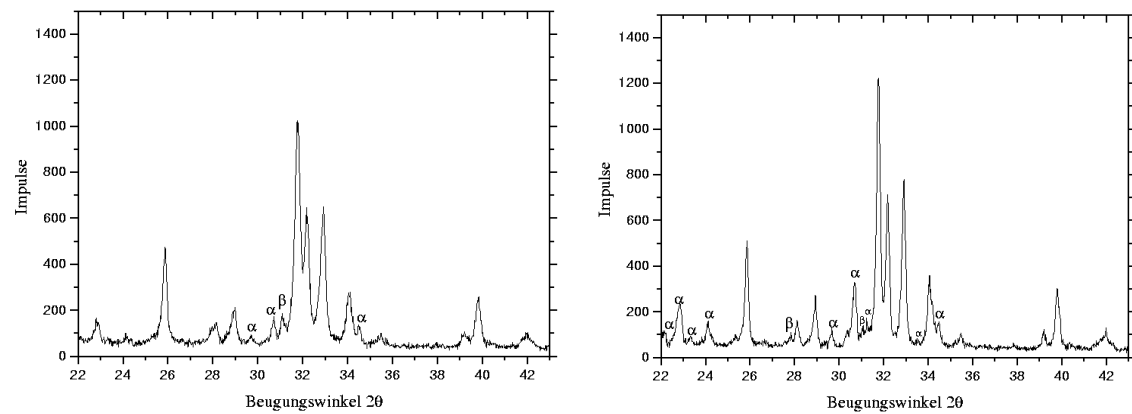


Abbildung C.84: Probe H24\_Al3 mit 3 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

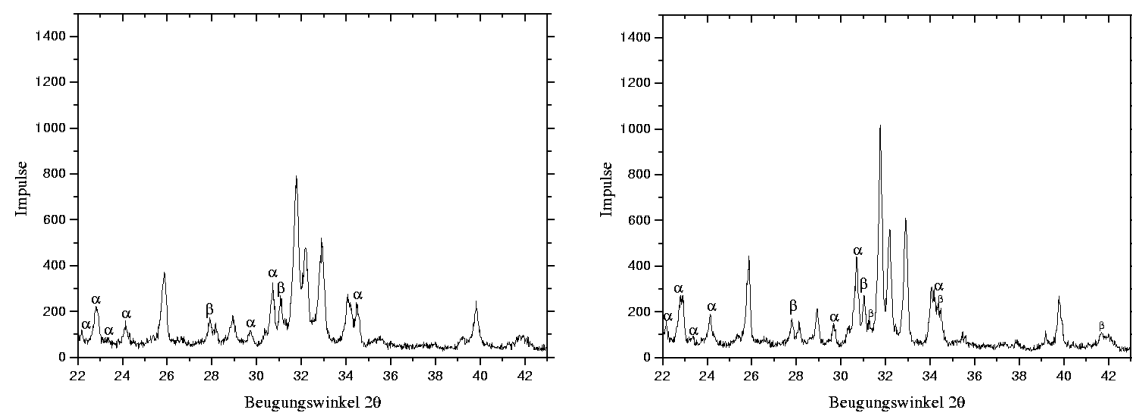


Abbildung C.85: Probe H24\_Al5 mit 5 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

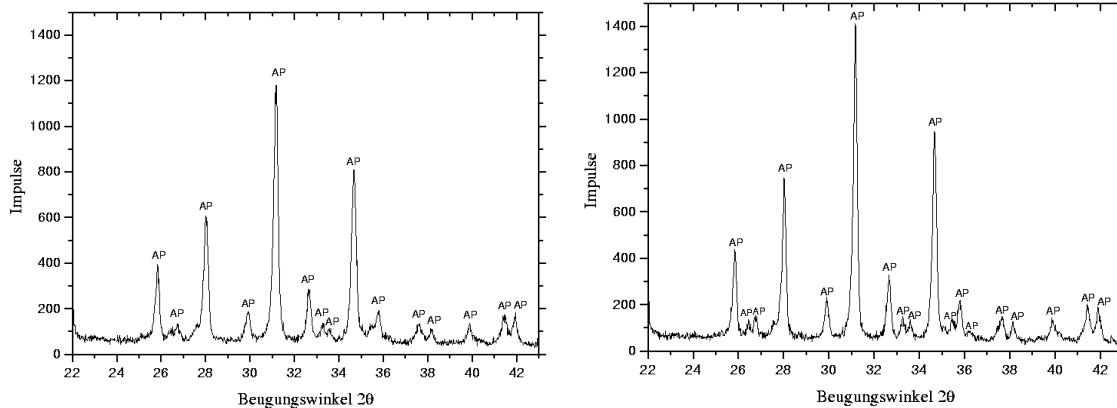


Abbildung C.86: Probe H24\_A110 mit 10 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

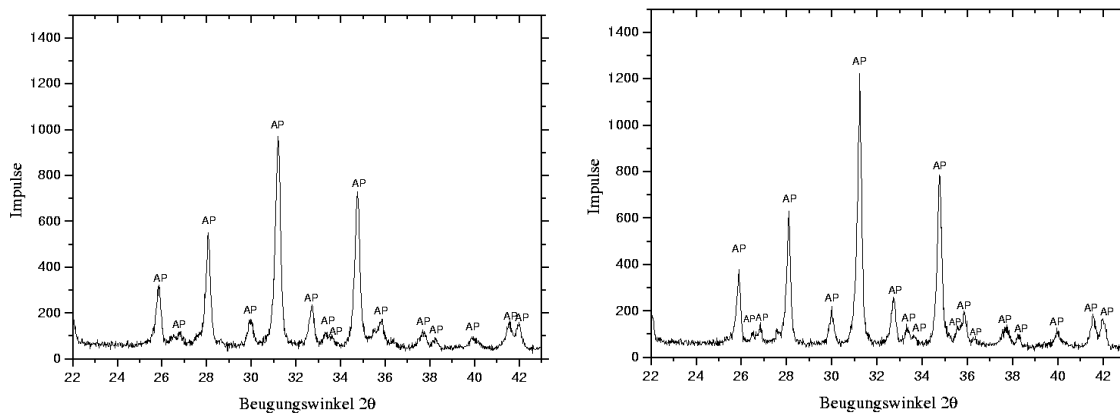


Abbildung C.87: Probe H24\_A115 mit 15 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

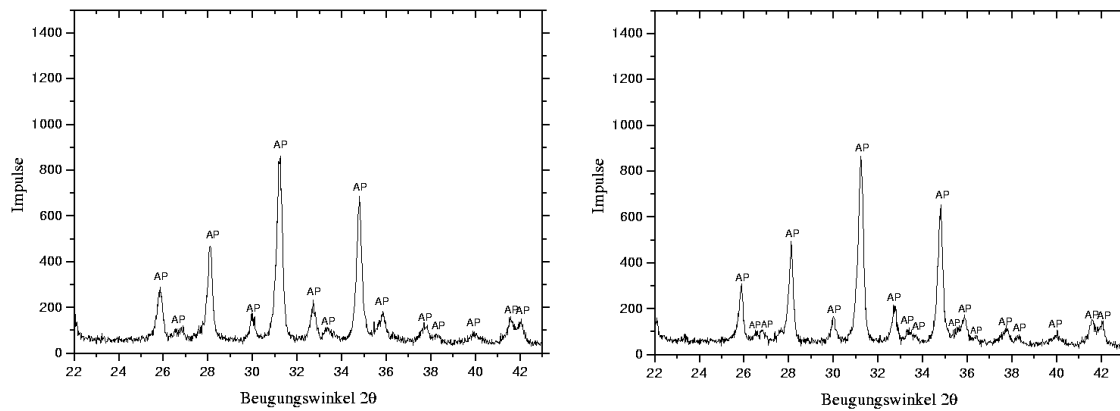


Abbildung C.88: Probe H24\_A120 mit 20 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

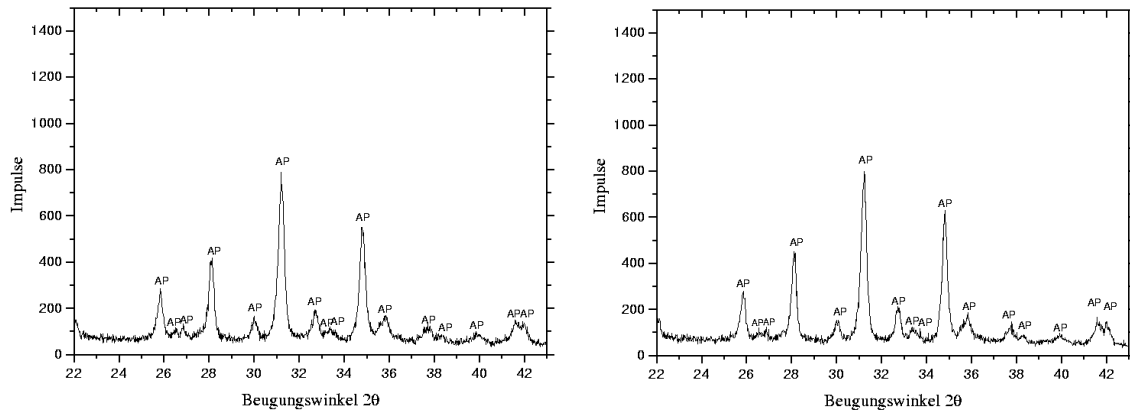


Abbildung C.89: Probe H24\_Al30 mit 30 % Al. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.10 Diffraktogramme der Probenserie H16

In den nächsten beiden Abschnitten benutzte Abkürzungen für Peak-Markierungen (mit PDF-Nummern):

**H:** OHAp (9-0432)

**H#:** chlorhaltiges Apatit  $\text{Ca}_{9,54}\text{P}_{5,98}\text{Cl}_{1,6}(\text{OH})_{2,74}$  (70-0795)

**H\*:** modifiziertes Apatit  $\text{Ca}_{8,86}(\text{PO}_4)_6(\text{H}_2\text{O})_2$  (82-1943)

$\alpha$ :  $\alpha$ -TCP (29-0359)

$\beta$ :  $\beta$ -TCP (9-0169)

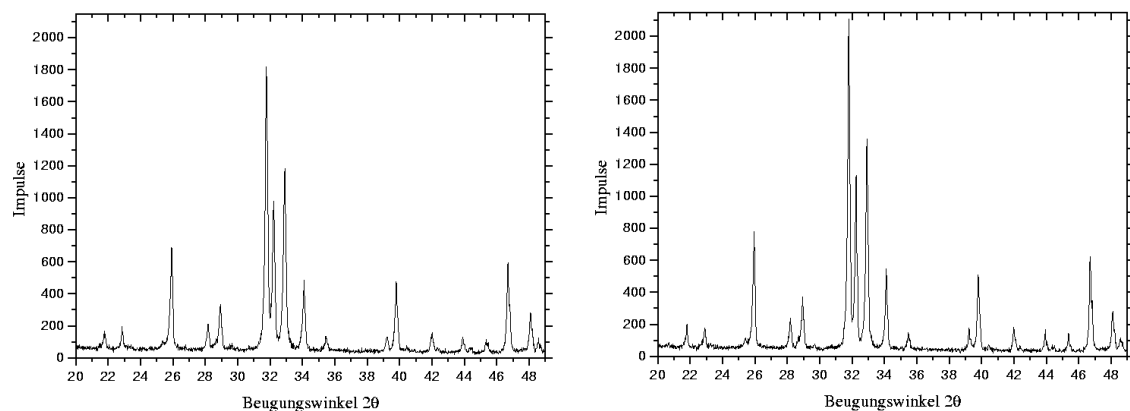


Abbildung C.90: Probe H16\_Ti1 mit 1 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

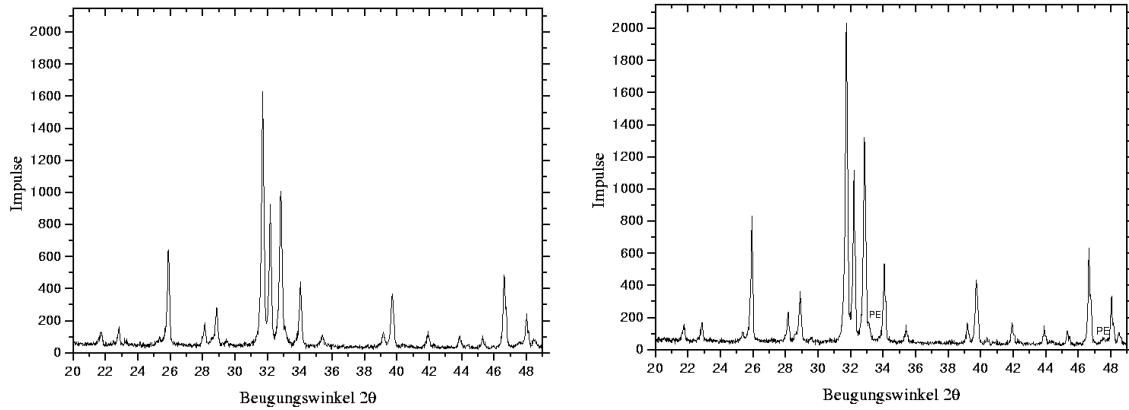


Abbildung C.91: Probe H16\_Ti2 mit 2 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

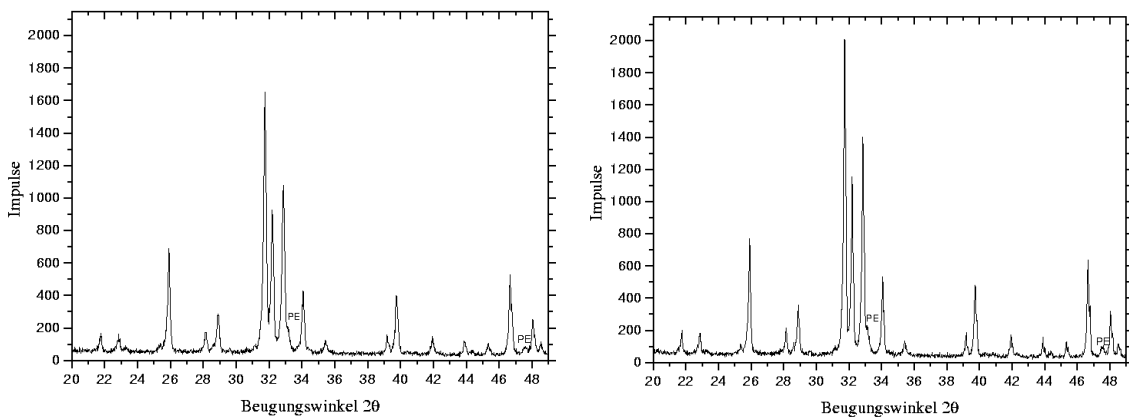


Abbildung C.92: Probe H16\_Ti3 mit 3 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

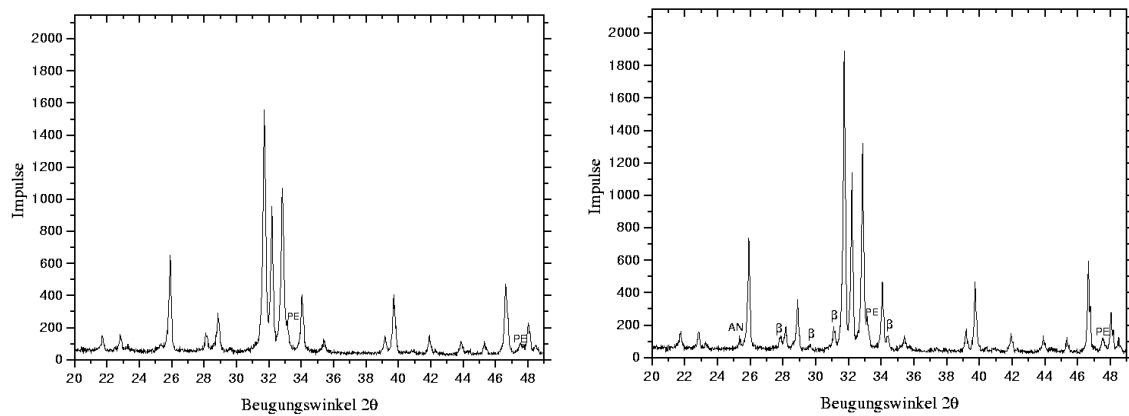


Abbildung C.93: Probe H16\_Ti4 mit 4 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

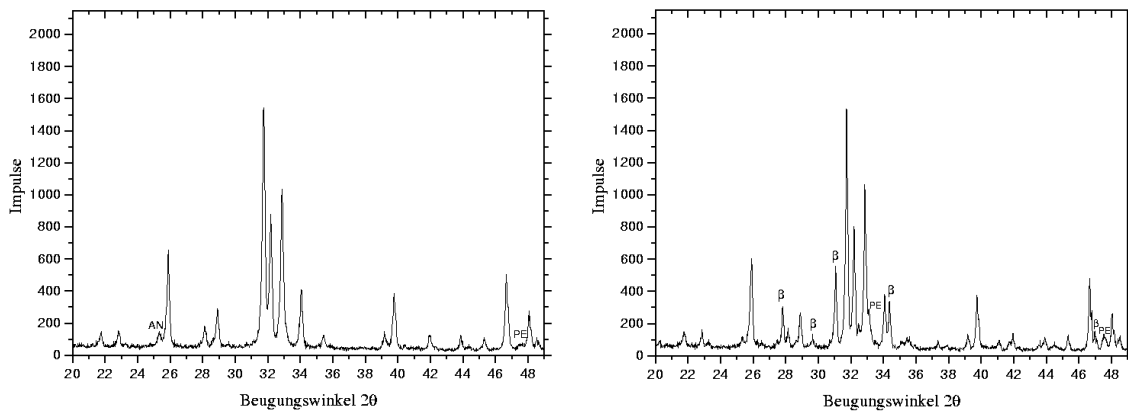


Abbildung C.94: Probe H16\_Ti5 mit 5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

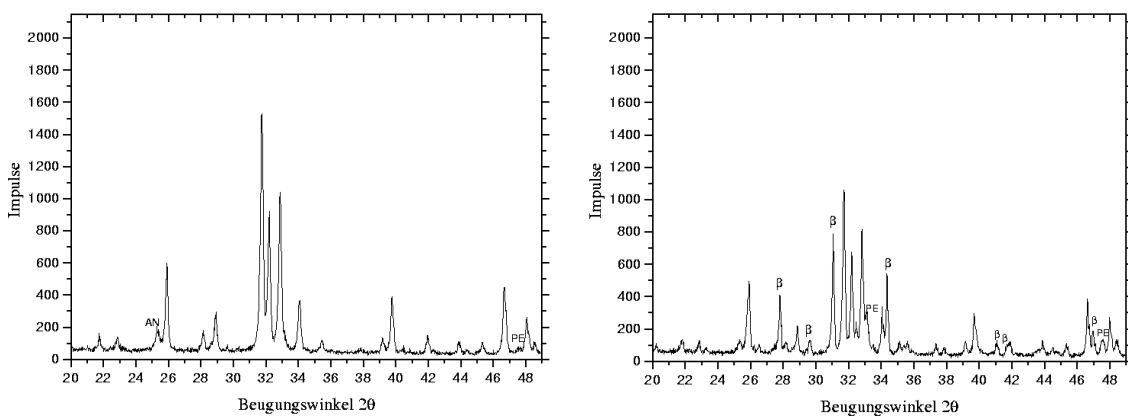


Abbildung C.95: Probe H16\_Ti7 mit 7 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

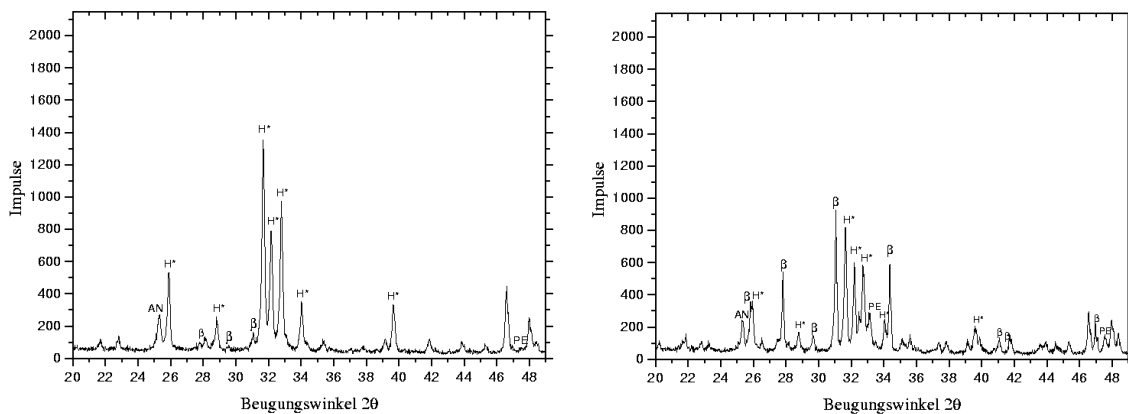


Abbildung C.96: Probe H16\_Ti10 mit 10 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

## C.11 Diffraktogramme der Probenserie H17

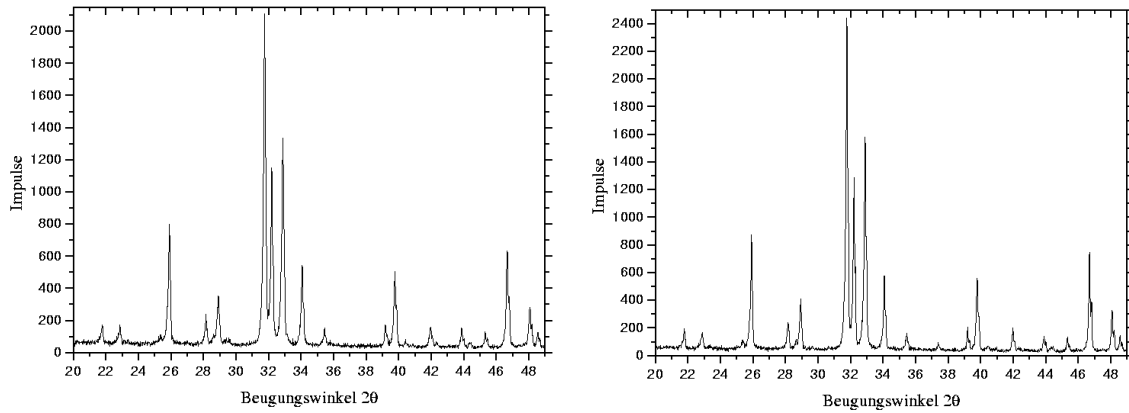


Abbildung C.97: Probe H17\_Ti0,5 mit 0,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

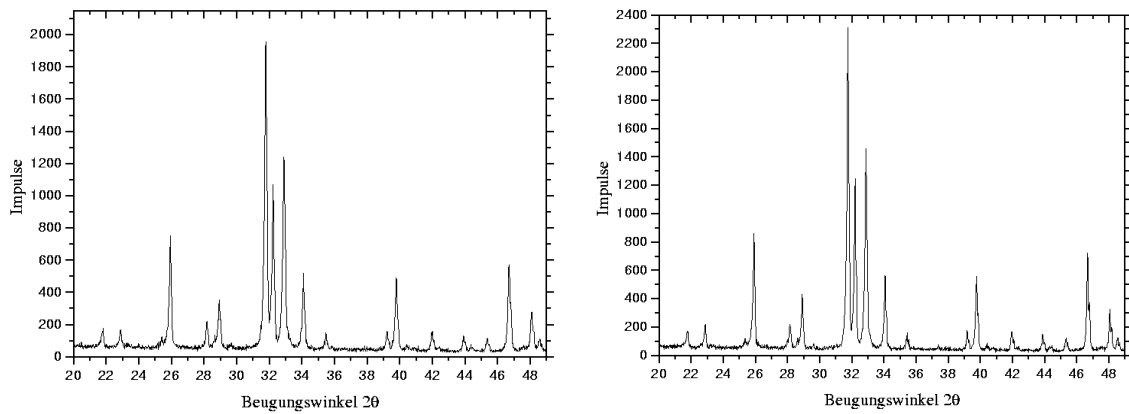


Abbildung C.98: Probe H17\_Ti1,5 mit 1,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

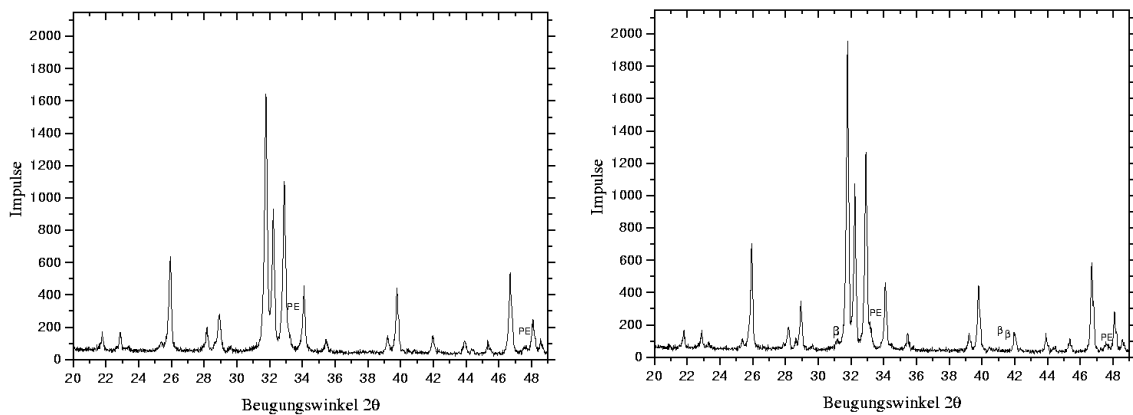


Abbildung C.99: Probe H17\_Ti2,5 mit 2,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

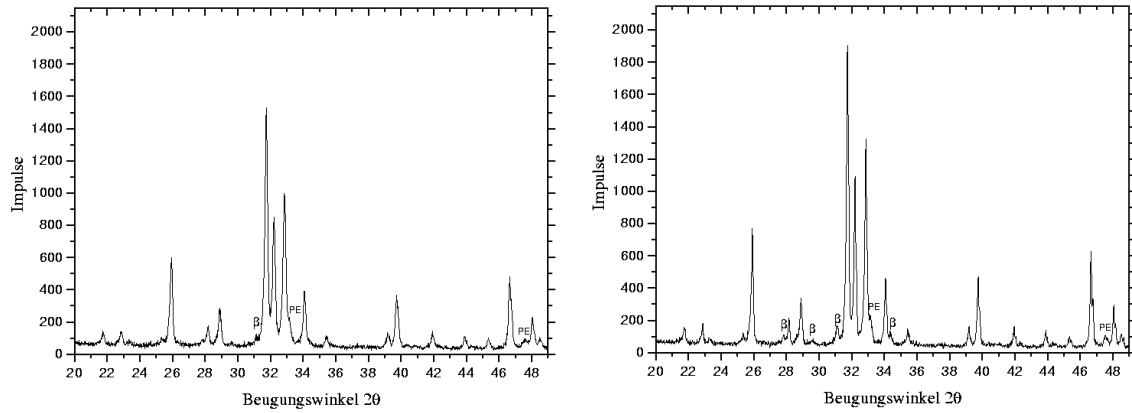


Abbildung C.100: Probe H17\_Ti3,5 mit 3,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

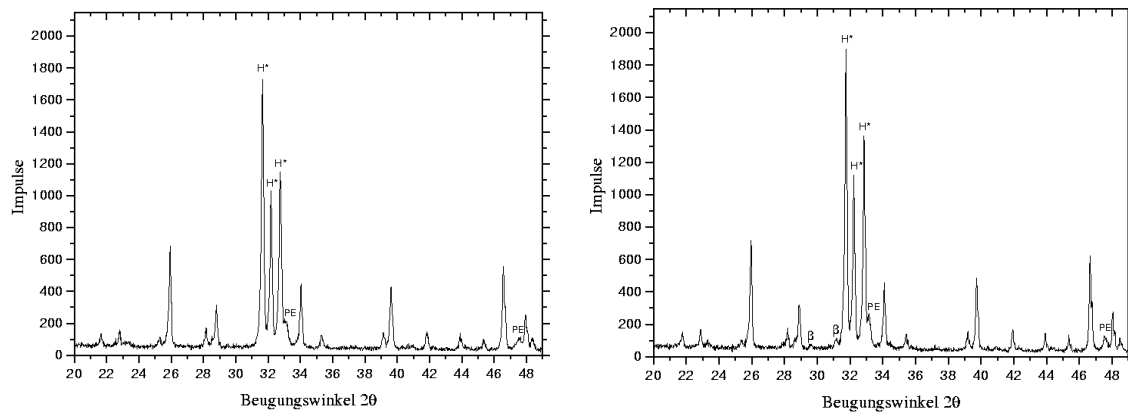


Abbildung C.101: Probe H17\_Ti4,5 mit 4,5 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

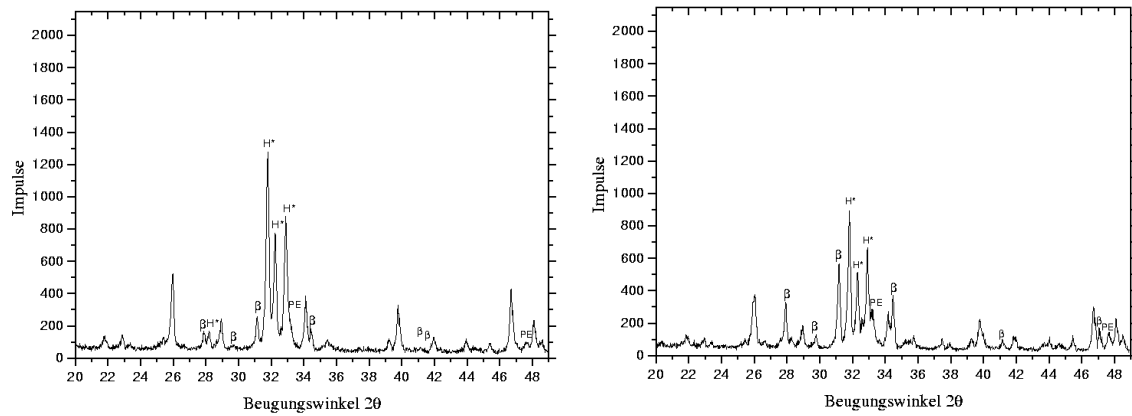


Abbildung C.102: Probe H17\_Ti6 mit 6 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.

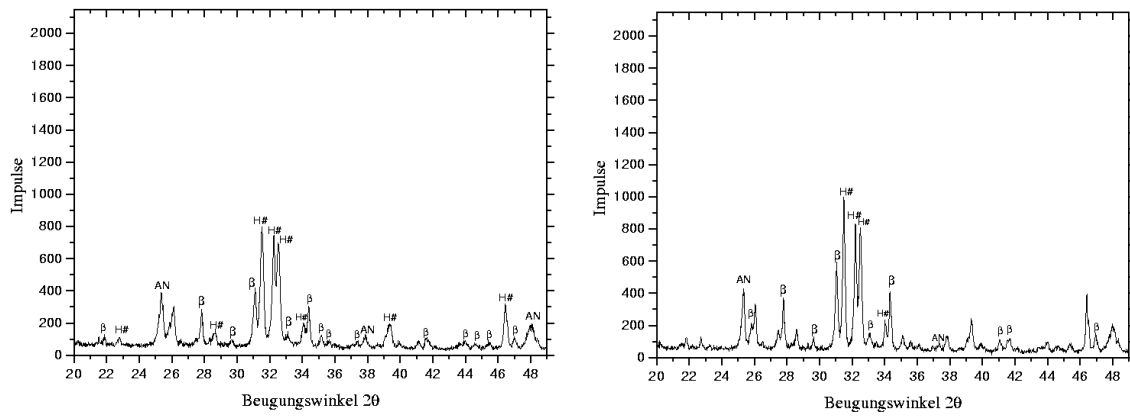


Abbildung C.103: Probe H17\_Ti15 mit 15 % Ti. Links: 900 °C. Rechts: 1000 °C.



# Anhang D

## Ergänzende Diagramme

Auf den folgenden Seiten werden einige Diagramme präsentiert, die aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht mit in den Auswertungsteil übernommen wurden.

### D.1 OHAp-Synthese im basischen Milieu

#### D.1.1 Titan

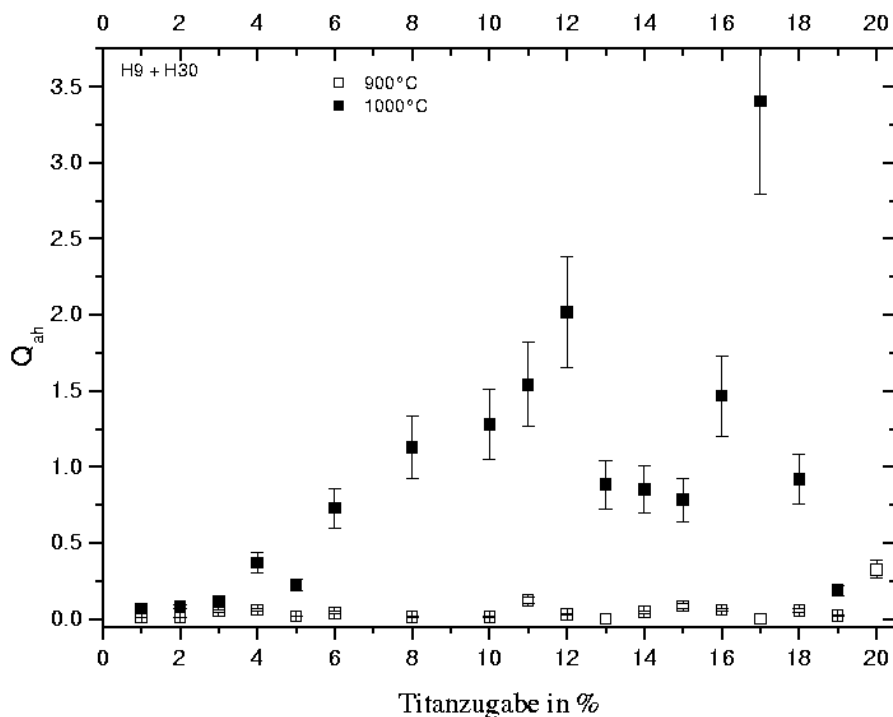


Abbildung D.1:

$Q_{ah}$ -Werte (Gl. 4.1) für Titan im basischen OHAp-Modellsystem. Das Diagramm enthält die Versuchsreihe H9 und die nachträglich angefertigte Serie H30 (Pilipenko[82]) bei 900 °C und 1000 °C.

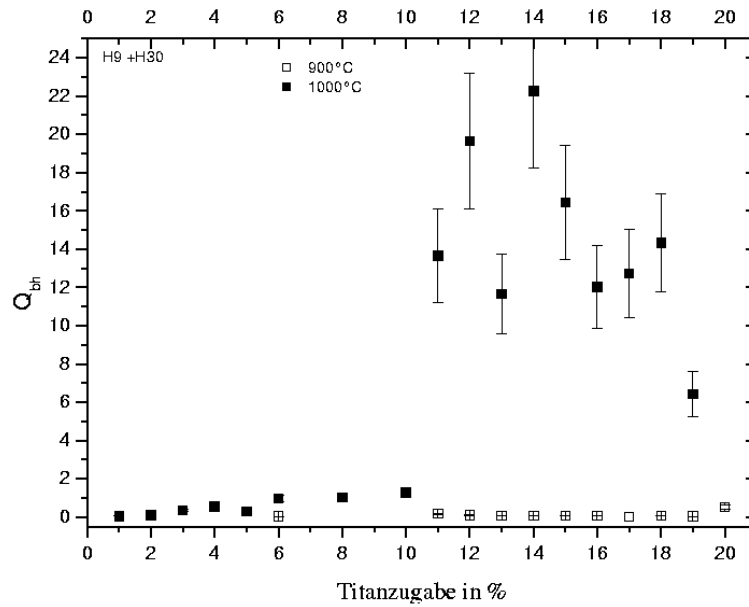


Abbildung D.2:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Titan im basischen OHAp-Modellsystem. Das Diagramm enthält die Versuchsreihe H9 und die nachträglich angefertigte Serie H30[82] bei 900 °C und 1000 °C.

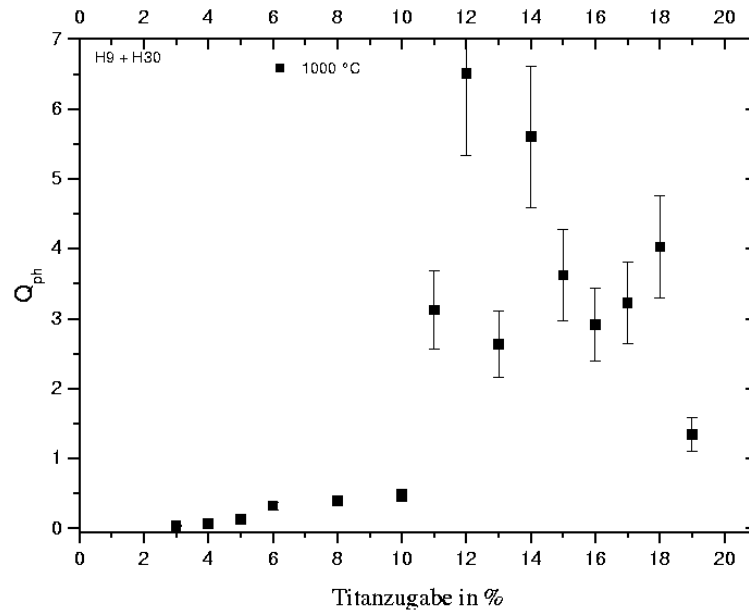


Abbildung D.3:

$Q_{ph}$ -Werte (Gl. 4.1) für Titan im basischen OHAp-Modellsystem. Das Diagramm enthält die Versuchsreihe H9 und die nachträglich angefertigte Serie H30[82] bei 1000 °C.

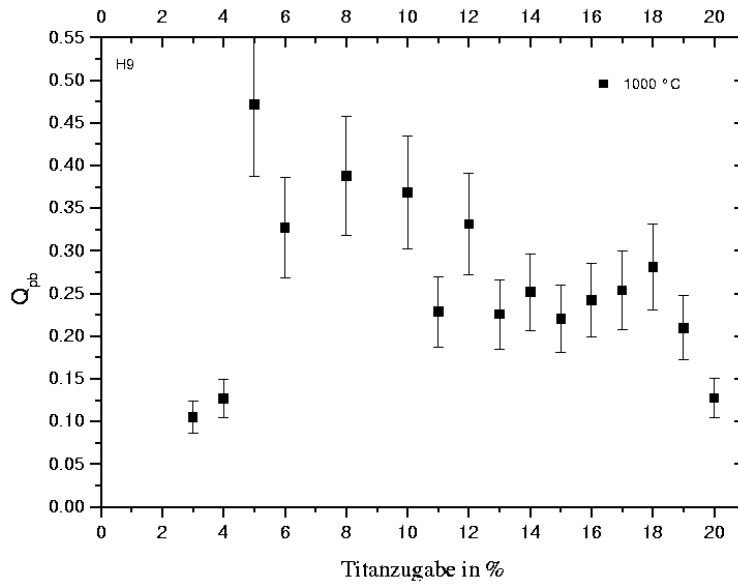


Abbildung D.4:

$Q_{pb}$ -Werte<sup>1</sup> für Titan im basischen OHAp-Modellsystem. Das Diagramm enthält die Versuchsreihe H9 und die nachträglich angefertigte Serie H30[82] bei 1000 °C.

## D.1.2 Vanadium

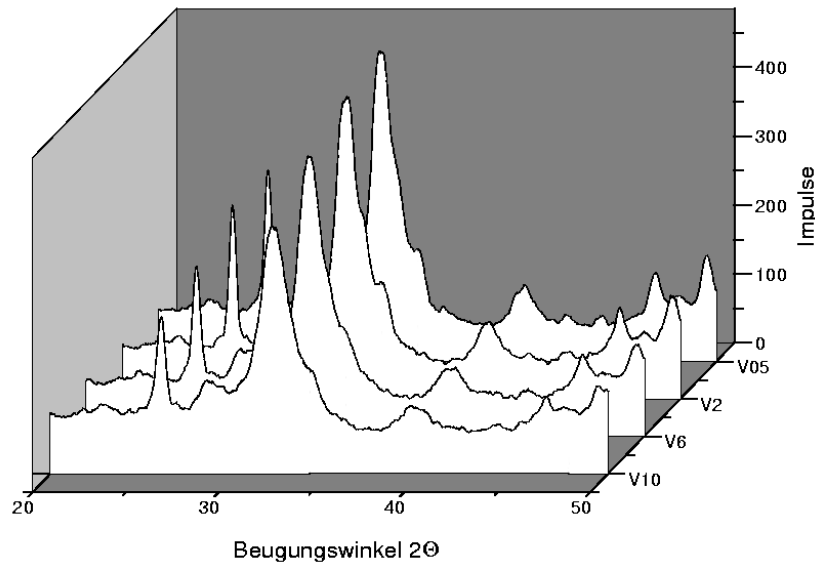


Abbildung D.5:

Einige Diffraktogramme der im basischen Milieu produzierten Serie H14 mit verschiedenen Vanadiumanteilen (0,5 %, 2 %, 6 % und 10 %), ungeheizt.

<sup>1</sup>Aufgrund der bei hohen Titankonzentrationen nur schwach ausgeprägten Apatitphase wurde zusätzlich der  $Q_{pb}$ -Wert berechnet, indem die Intensität der Perowskitpeaks durch die Intensität des Hauptpeaks von  $\beta$ -TCP dividiert wurde.

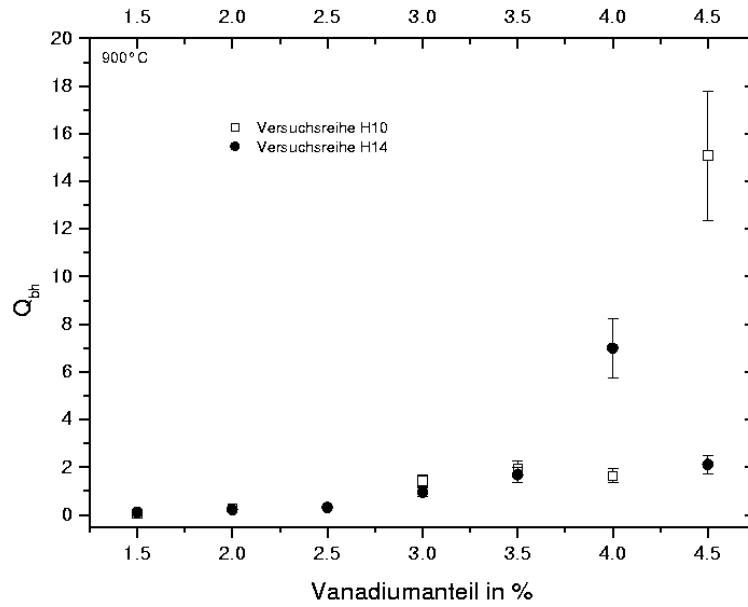


Abbildung D.6:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem. Vergleich der Versuchsreihen H10 und H14 bei 900 °C.

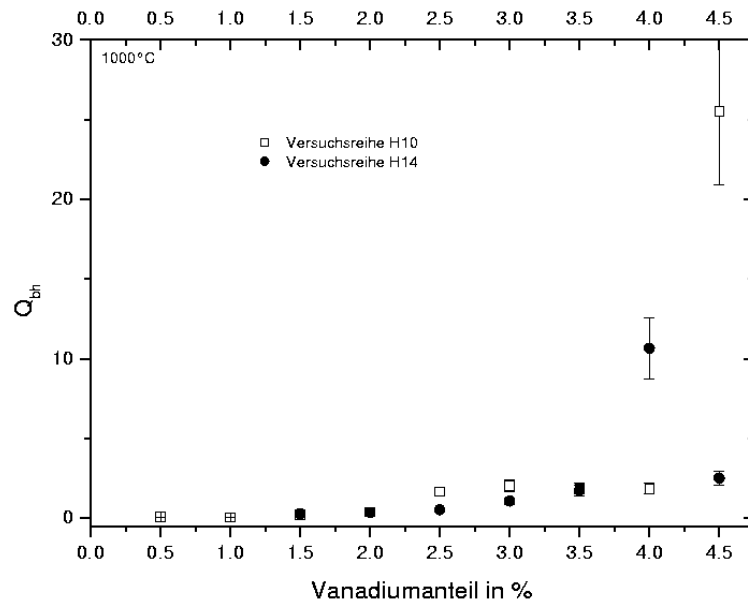


Abbildung D.7:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem. Vergleich der Versuchsreihen H10 und H14 bei 1000 °C.

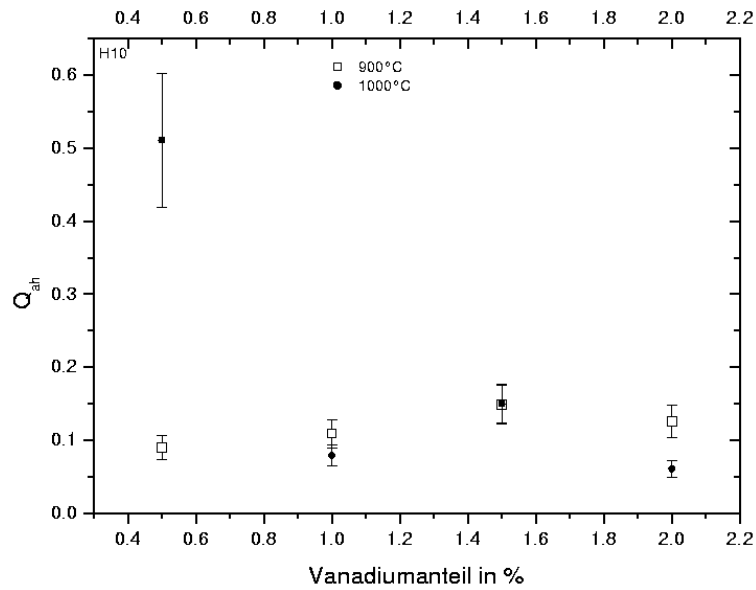


Abbildung D.8:

$Q_{ah}$ -Werte (Gl. 4.1) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H10 bei 900 °C und 1000 °C.

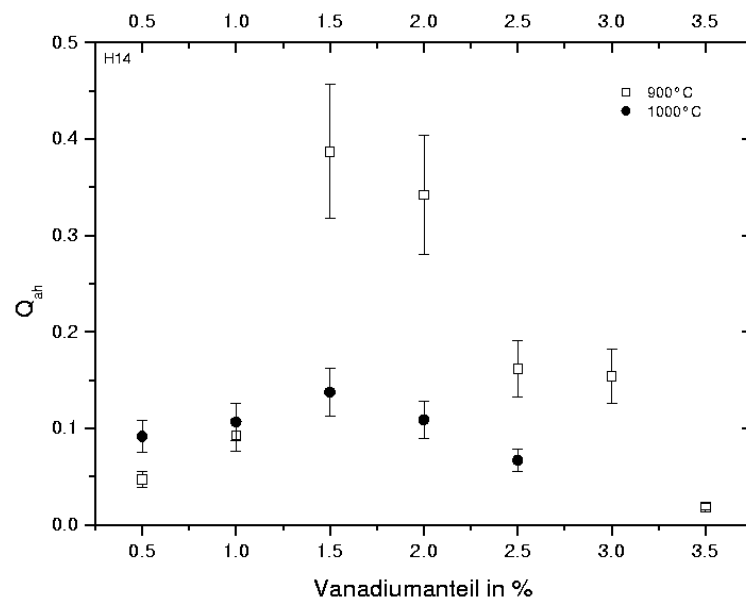


Abbildung D.9:

$Q_{ah}$ -Werte (Gl. 4.1) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H14 bei 900 °C und 1000 °C.

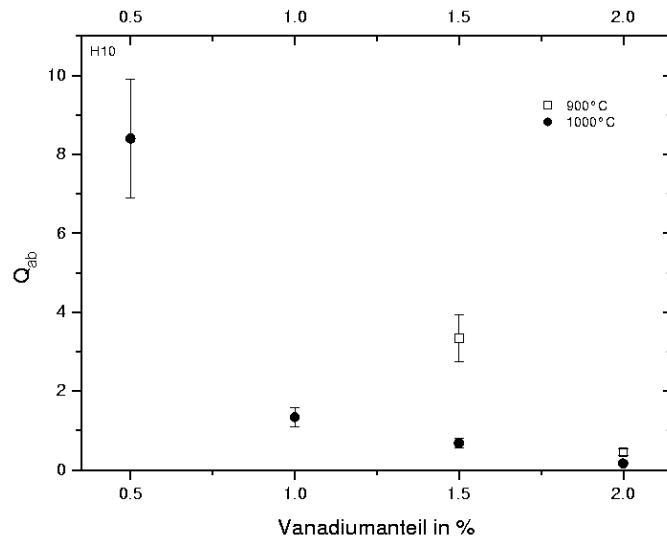


Abbildung D.10:

$Q_{ab}$ -Werte (Gl. 4.3) für Vanadium im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H10 bei 900 °C und 1000 °C.

### D.1.3 Chrom

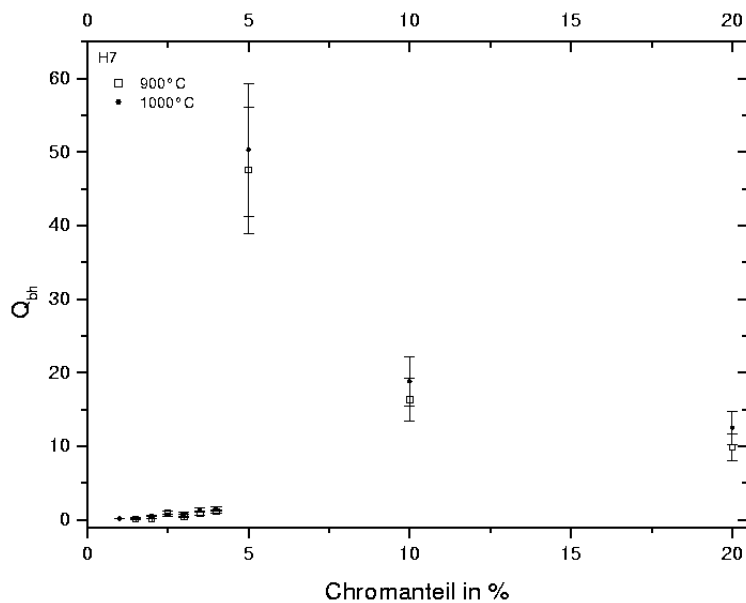


Abbildung D.11:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H7 bei 900 °C und 1000 °C, vollständige Darstellung.

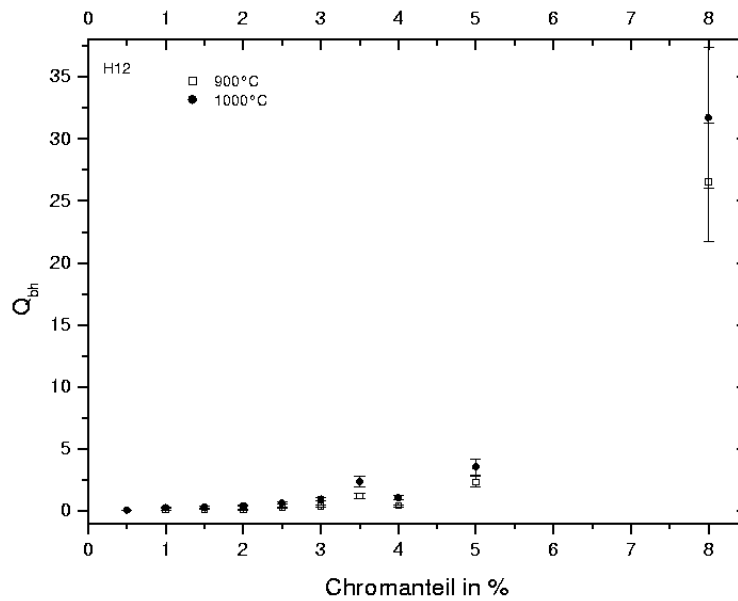


Abbildung D.12:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H12 bei 900 °C und 1000 °C, vollständige Darstellung.

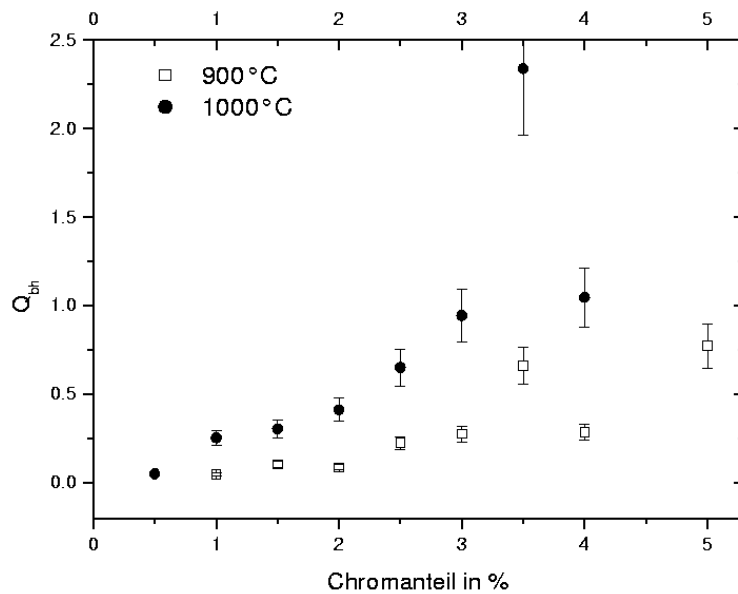


Abbildung D.13:  $Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihe H12 bei 900 °C und 1000 °C. Vergrößerung von Abb. D.12.

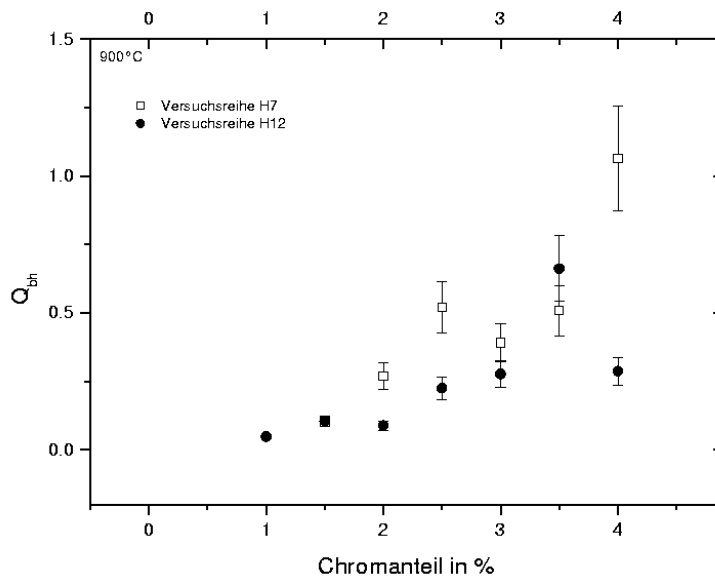


Abbildung D.14:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H7 und H12 bei 900 °C.

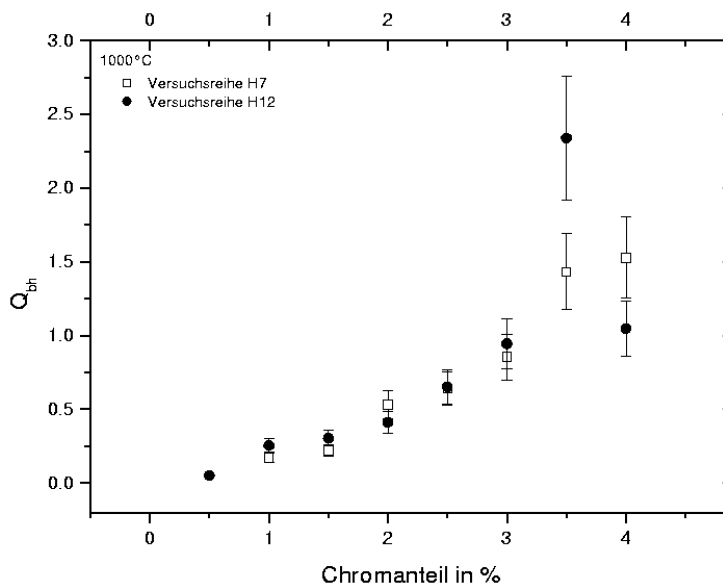


Abbildung D.15:

$Q_{bh}$ -Werte (Gl. 4.1) für Chrom im basischen OHAp-Modellsystem, Versuchsreihen H7 und H12 bei 1000 °C.



## D.1.4 Synthese von Hydroxylapatit in SBF

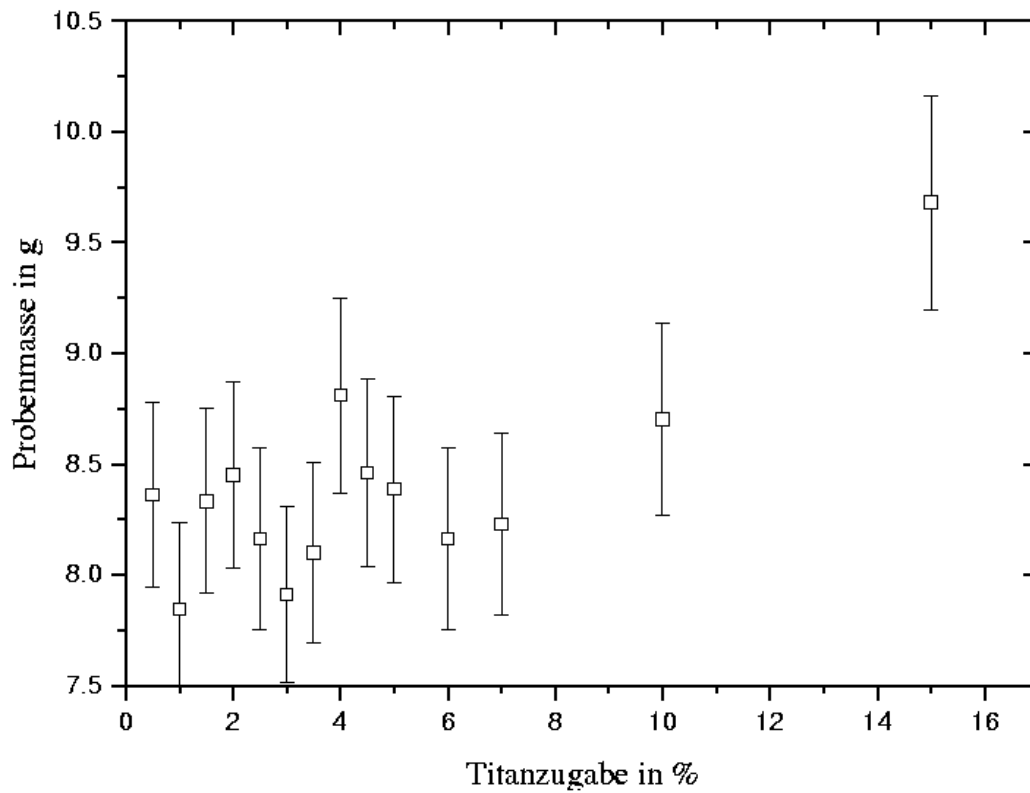


Abbildung D.16:

Trockenmassen der in SBF erzeugten Reaktionsprodukte der Serien H16 und H17 in Abhängigkeit vom prozentualen Titananteil. Die Fehlerbalken basieren auf der Abschätzung der systematischen Ungenauigkeit.

### D.1.5 Synthese von Hydroxylapatit in SBF unter Zusatz von Albumin

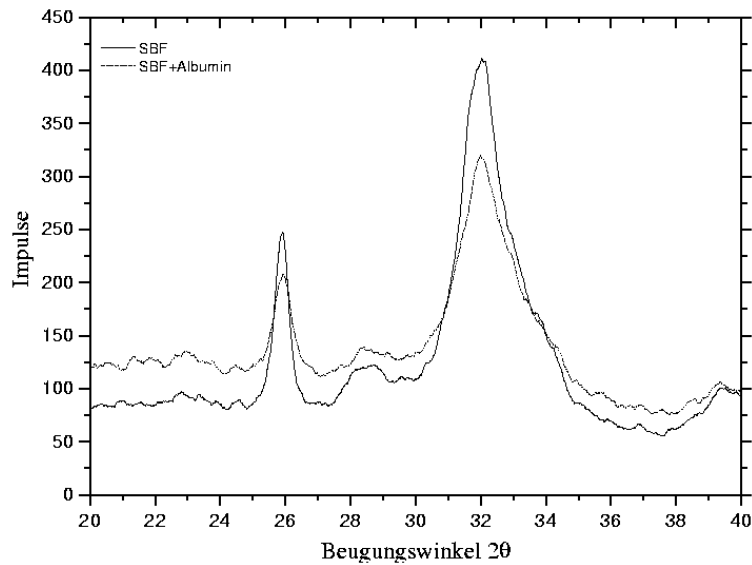


Abbildung D.17:

Diffraktogramme von ungeheiztem in SBF produziertem Apatit, mit und ohne Albumin.

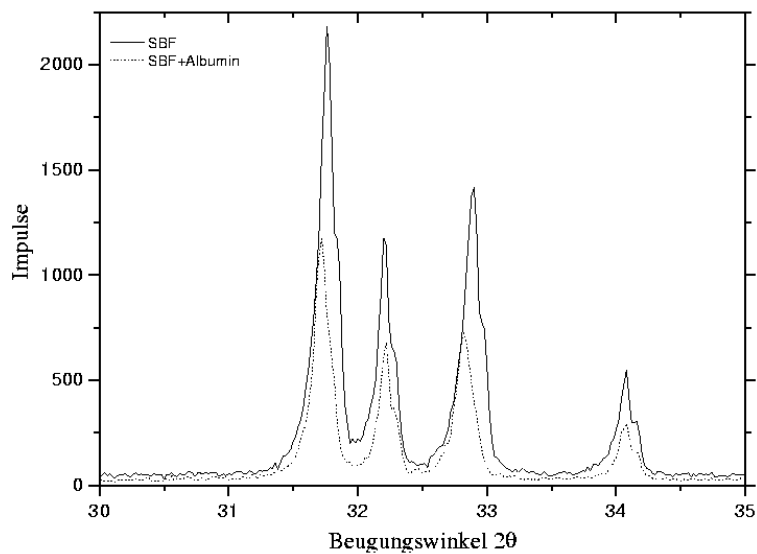


Abbildung D.18:

Diffraktogramme von in SBF produziertem Apatit, mit und ohne Albumin. Die Proben wurden eine Stunde bei 900 °C geheizt.

# Literaturverzeichnis

- [1] ADLER, C.-P., W. KRAUSE und G. GEBERT: *Knochen und Gelenke*. Schattauer, Stuttgart – New York, 1992.
- [2] ALBREKTSSON, T.: *Tissue Reactions to Metallic Biomaterials*, pages 35–41. In: Older, J: *Implant Bone Interface*. Springer, London – Berlin – Heidelberg – New York – Paris – Tokyo – Hong Kong, first edition, 1990.
- [3] ALDINGER, G.: *Problematik der Hüftendoprothesenverankerung – Ursachen der Lockerungen und therapeutische Konsequenzen*, Seiten 128–133. In: Ascherl, R., F. Lechner, W. Siebels, H.M. Tensi, G. Blümel : *Die gelockerte Hüftprothese – Ursachen und therapeutische Konsequenzen*. Schattauer, Stuttgart – New York, 1. Auflage, 1990.
- [4] ANISSIAN: *Cobalt ions influence proliferation and function of human osteoblast-like cells*. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 73(3):369–374, 2002.
- [5] ARNOLD, S.: *Quantitative Strukturuntersuchungen der Biomineralisation des hexagonalen Minerals Apatit mit Methoden der energiefilternden Elektronenmikroskopie*. Doktorarbeit, Westfälische Wilhelms-Universität, Münster, 1999.
- [6] BALZLI, B.: *Sprenghwirkung einer Art*. *Spiegel*, (26), 2000.
- [7] BANSE, X.: *When density fails to predict bone strength*. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 73(Suppl. 303):2–57, 2002.
- [8] BARRALET, J., J.C. KNOWLES, S. BEST, and W. BONFIELD: *Thermal decomposition of synthesized carbonate hydroxyapatite*. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13:529–533, 2002.
- [9] BÄTHIS, H.: *Untersuchungen zur Knochenstruktur an Hohlschaft-Hüftendoprothesen*. Doktorarbeit, Justus-Liebig-Universität, Gießen, 2000.

- [10] BENDER, S.A., J.D. BUMGARDNER, M.D. ROACH, K. BESSHO, and J.L. ONG: *Effect of protein on the dissolution of HA coatings*. Biomaterials, 21:299–305, 2000.
- [11] BENDIG, M. und H. HIRSCHMÜLLER. Zeitschrift für analytische Chemie, 120:385, 1940.
- [12] BESSHO, K., K. FUJIMURA, and T. IIZUKA: *Experimental long-term study of titanium ions eluted from pure titanium plates*. Journal of Biomedical Materials Research, 29:901–904, 1995.
- [13] BETTS, F. and A.S. POSNER: *An X-ray radial distribution study of amorphous calcium phosphate*. Materials Research Bulletin, 9:353–360, 1974.
- [14] BIRBAUMER, N. und R.F. SCHMIDT (Herausgeber): *Biologische Psychologie*. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York – Tokyo, 2. Auflage, 1991.
- [15] BLUMENTHAL, N.C. and V. COSMA: *Inhibition of apatite formation by titanium and vanadium ions*. Journal of Biomedical Materials Research, 23(A1):13–22, 1989.
- [16] BLUMENTHAL, N.C. and A.S. POSNER: *Surface Poisoning of Synthetic and Biological Apatites*. Colloids and Surfaces, 26:123–132, 1987.
- [17] BONAR, L., S. LEES, and H. MOOK: *Neutron diffraction studies of collagen in fully mineralized bone*. Journal of Molecular Biology, 181:265–270, 1985.
- [18] BOSKEY, A.L.: *Mineral Analysis Provides Insights into the Mechanism of Biomineralization*. Calcified Tissue International, 72:533–536, 2003.
- [19] BOSKEY, A.L. and A.S. POSNER: *Conversion of Amorphous Calcium Phosphate to Microcrystalline Hydroxyapatite. A pH-Dependent, Solution-Mediated, Solid-Solid Conversion*. Journal of Physical Chemistry, 77:2313–2317, 1973.
- [20] BOSKEY, A.L. and A.S. POSNER: *Magnesium stabilization of amorphous calcium phosphate: a kinetic study*. Materials Research Bulletin, 9:907–947, 1974.
- [21] BOURGEOIS, B., O. LABOUX, L. OBADIA, O. GAUTHIER, E. BETTI, E. AGUADO, G. DACULSI, and J.M. BOULER: *Calcium-deficient apatite: A first in vivo study concerning bone ingrowth*. Journal of Biomedical Materials Research, 65(3):402–408, 2003.

- [22] BUMA, P., P.J.M. VAN LOON, H. VERSLEYEN, H. WEINANS, T.J.J.H. SLOOFF, K. DE GROOT, and R. HUISKES: *Histological and biomechanical analysis of bone and interface reactions around hydroxyapatite-coated intramedullary implants of different stiffness: a pilot study on the goat*. *Biomaterials*, 18(18):1251–1260, 1997.
- [23] CHARNLEY, J.: *Arthroplasty of the hip – A new operation*. *Lancet*, 1:1129–1133, 1961.
- [24] CÜNEYT TAS, A.: *Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37 °C in synthetic body fluids*. *Biomaterials*, 21:1429–1438, 2000.
- [25] DANILCHENKO, S.: *Comparative XRD investigation of biogenic and synthetic apatites*. In LEKKI, J., Z. STACHURA, and B. SULKIO-CLEFF (editors): *The Second Sumy–Crakow–Münster Symposium on Nuclear Analytical Methods*, pages 64–71, The Henryk Niewodniczański Institute of Nuclear Physics, Kraków, Poland, March 2001.
- [26] DOROZHKIN, S.V. and M. EPPLE: *Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates*. *Angewandte Chemie International Edition*, 41:3130–3146, 2002.
- [27] DORR, L.D., R. BLOEBAUM, J. EMMANUAL, and R. MELDRUM: *Histologic, biochemical, and ion analysis of tissue and fluids retrieved during total hip arthroplasty*. *Clinical Orthopaedy*, 261:82–95, 1990.
- [28] DUCHEYNE, P., G. WILLEMS, M. MARTENS, and J. HELSEN: *In vivo metal-ion release from porous titanium fiber material*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 18:293–308, 1984.
- [29] EANES, E.D.: *Thermochemical studies on amorphous calcium phosphate*. *Calcified Tissue Research*, 5:133–145, 1970.
- [30] EFTEKHAR, N.S.: *Principles of total hip arthroplasty*. The C.V. Mosby Company, Saint Louis, first edition, 1978.
- [31] EKTESSABI, A.M., T. OTSUKA, Y. TSUBOI, Y. HORINO, Y. MOKUNO, K. FUJII, T. ALBREKTSSON, L. SENNERBY, and C. JOHANSSON: *Preliminary experimental results on mapping of the elemental distribution of the organic tissues surrounding titanium-alloy implants*. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 109/110:278–283, 1996.
- [32] ELLIOTT, J.C.: *Structures and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*. Elsevier, Amsterdam – London – New York – Tokyo, first edition, 1994.

- [33] FERGUSON, A.B., P.D. LAING, and E.S. HODGE: *The Ionization of Metal Implants in Living Tissues*. Journal of Bone Joint Surgery – American Volume, 42(1):77–90, 1960.
- [34] FILIES, O.: *Röntgenreflektometrie zur Analyse von Dünnschichtsystemen – Charakterisierung ultradünner Schichten*. Doktorarbeit, Institut für Kernphysik, Münster, 1997. Band I.
- [35] FÖLDES, I., M. RAPCSÁK, SZILÁGYI, and V.S. ORGANOV: *Effects of space flight on bone formation and resorption*. Acta Physiologica Hungarica, 75:271–285, 1990.
- [36] FRATZL, P., N. FRATZL-ZELMAN, K. KLAUSHOFER, G. VOGL, and K. KOLLER: *Nucleation and Growth of Mineral Crystals in Bone Studied by Small-Angle X-Ray Scattering*. Calcified Tissue International, 48:407–413, 1991.
- [37] GAUTHIER, O., J.M. BOUTER, P. WEISS, J. BOSCO, and E. AGUADO: *Kinetic study of bone ingrowth and ceramic resorption associated with implantation of different injectable calcium phosphate bone substitutes*. Journal of Biomedical Materials Research, 47(1):28–35, 1999.
- [38] GIERSE, H. und T. WESSOLOWSKI: *Der Stellenwert der zementierten und zementfreien Hüftendoprothesen in deutschen Kliniken*, Seiten 145–153. In: Gierse, H. und B. Maaz: *Methoden in der Hüftendoprothetik: Prothesenmaterialien und Befestigungstechniken bei der Implantatverankerung*. ecomed, Landsberg/Lech, 1. Auflage, 1994.
- [39] GREGORY, T.M., E.C. MORENO, J.M. PATEL, and W.E. BROWN: *Solubility of  $\beta$ - $Ca_3(PO_4)_2$  in the system  $Ca(OH)_2$ - $H_3PO_4$ - $H_2O$  at 5, 15, 25, and 37 °C*. Journal of Research for the National Bureau of Standards, 78A:667–674, 1974.
- [40] HALLAB, N.J., A. SKIPOR, and J.J. JACOBS: *Interfacial kinetics of titanium- and cobalt-based implant alloys in human serum: Metal release and biofilm formation*. Journal of Biomedical Materials Research, 65A:311–318, 2003.
- [41] HODGE, A.J. and J.A. PETRUSKA: *Recent studies with the electron microscope on ordered aggregates of the tropocollagen molecule*. In: Ramachandran, G.N. (ed.): *Aspects of protein structure*. Academic Press, London, pages 289–300, 1963.

- [42] ICHINOSE, S., T. MUNETA, I. SEKIYA, S. ITOH, H. AOKI, and M. TAGAMI: *The study of metal ion release and cytotoxicity in Co-Cr-Mo and Ti-Al-V alloy in total knee prosthesis – scanning electron microscopic observation.* Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 14:79–86, 2003.
- [43] JACOBS, J.J., J.L. GILBERT, and R.M. URBAN: *Corrosion of Metal Orthopaedic Implants.* The Journal of Bone and Joint Surgery, 80(2):268–282, 1998.
- [44] JAHNEN-DECHENT, W., C. SCHÄFER, A. HEISS, and J. GRÖTZINGER: *Systemic inhibition of spontaneous calcification by the serum protein  $\alpha_2$ -HS glycoprotein/fetuin.* Zeitschrift für Kardiologie, 90(Suppl. 3):III/47–III/56, 2001.
- [45] JCPDS–INTERNATIONAL CENTER FOR DIFFRACTION DATA: *Powder Diffraction File 1–40*, 1990.
- [46] JEANJEAN, J., U. VINCENT, and M. FEDOROFF: *Structural Modification of Hydroxyapatite Induced by Sorption of Cadmium Ions.* Journal of Solid State Chemistry, 108:68–72, 1994.
- [47] JONES, F.H.: *Teeth and bones: applications of surface science to dental materials and related biomaterials.* Surface Science Reports, 42:75–205, 2001.
- [48] JUNQUEIRA, L.C., J. CARNEIRO, R.O. KELLEY und T.H. SCHIEBLER: *Histologie.* Springer, Berlin – Heidelberg – New York, 4. Auflage, 1996.
- [49] KALFAS, I.H.: *Principles of bone healing.* Neurosurgical Focus, 10(4):1–4, 2001.
- [50] KANAZAWA, T., T. UMEGAKI, and N. UCHIYAMA: *Thermal crystallization of amorphous calcium phosphate to  $\alpha$ -tricalcium phosphate.* Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 32:399–406, 1982.
- [51] KLEBER, H.P. und D. SCHLEE: *Biochemie – Teil 1: Allgemeine und funktionelle Biochemie.* Gustav Fischer Verlag, Jena, 2. Auflage, 1991.
- [52] KLUG, H.P. and L.E. ALEXANDER: *X-Ray Diffraction Procedures.* Wiley Interscience, Chichester – New York, second edition, 1974.
- [53] KOKUBO, T., H. KUSHITANI, S. SAKKA, T. KITSUGI, and T. YAMAMURO: *Solutions able to reproduce in vivo surface changes in bioactive glass-ceramic A-W<sup>3</sup>.* Biomedical Materials Research, 24:721–724, 1990.
- [54] KOUTSOUKOS, P., Z. AMJAD, M.B. TOMSON, and G.H. NANCOLLAS: *Crystallization of Calcium Phosphates. A Constant Composition Study.* Journal of the American Chemical Society, 102(5):1553–1557, 1980.

- [55] LATSCHA, H.P. und H.A. KLEIN: *Chemie*. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York – Tokyo, 6. Auflage, 1994.
- [56] LAYANI, J.D., I. MAYER, and F.J.G. CUISINIER: *Carbonated hydroxyapatites precipitated in the presence of Ti*. Journal of Inorganic Biochemistry, 81:57–63, 2000.
- [57] LIAO, C.J., F.H. LIN, K.S. CHEN, and J.S. SUN: *Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere*. Biomaterials, 20:1807–1813, 1999.
- [58] LIAO, H., T. WURTZ, and J. LI: *Influence of titanium ion on mineral formation and properties of osteoid nodules in rat calvaria cultures*. Journal of Biomedical Materials Research, 47:220–227, 1999.
- [59] LIND, M., S. OVERGAARD, C. BÜNGER, and K. SØBALLE: *Improved bone anchorage of hydroxyapatite coated implants compared with tricalcium-phosphate coated implants in trabecular bone in dogs*. Biomaterials, 20:803–808, 1999.
- [60] LINTNER, F., K. ZWEYMÜLLER, G. BÖHM, and G. BRAND: *Reactions of Surrounding Tissue to the Cementless Hip Implant Ti-6Al-4V After an Implantation Period of Several Years*. Archives of Orthopaedic and Traumatic Surgery, 107:357–363, 1988.
- [61] LOPEZ-VALERO, I., C. GOMEZ-LORENTE, and R. BOISTELLE: *Effects of sodium and ammonium ions on occurrence, evolution and crystallinity of calcium phosphates*. Journal of Crystal Growth, 121:297–304, 1992.
- [62] LUCKENBACH, REINER und OSKAR WEISSBACH (Herausgeber): *Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie – Viertes Ergänzungswerk – Vierter Band – Dritter Teil*. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York – Tokyo, 4. Auflage, 1980.
- [63] MANJUBALA, I., M. SIVAKUMAR, R.V. SURESHKUMAR, and T.P. SASTRY: *Bioactivity and Osseointegration Study of Calcium Ceramic of Different Chemical Composition*. Journal of Biomedical Materials Research, 63(2):200–208, 2002.
- [64] MANN, S. and S. WEINER: *Biom mineralization: Structural Questions at All Length Scales*. Journal of Structural Biology, 126:179–181, 1999.
- [65] MARKS, S. and S.T. POPOFF: *The regulation of development, structure, and function of the skeleton*. American Journal of Anatomy, 183:1–44, 1988.



- [66] MAYER, I., H. COHEN, J.C. VOEGEL, and F.J.G. CUISINIER: *Synthesis, characterization and high temperature analysis of Al-containing hydroxyapatites*. Journal of Crystal Growth, 172:219–225, 1997.
- [67] MEYER, J.L. and B.O. FOWLER: *Lattice defects in nonstoichiometric calcium hydroxyapatite. A chemical approach*. Inorganic Chemistry, 21:3029–3035, 1982.
- [68] MEYER, R.J. und E. PIETSCH: *Gmelins Handbuch der anorganischen Chemie – Titan*, Band 41. Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstraße, 8. Auflage, 1951.
- [69] MEYER, R.J. und E. PIETSCH: *Gmelins Handbuch der anorganischen Chemie – Vanadium – Teil B – Lieferung 2*, Band 48. Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstraße, 8. Auflage, 1951.
- [70] MORAIS, S., N. DIAS, J.P. SOUSA, M.H. FERNANDES, and G.S. CARVALHO: *In vitro osteoblastic differentiation of human bone marrow cells in the presence of metal ions*. Journal of Biomedical Materials Research, 44(2):176–190, 1999.
- [71] MORAIS, S., J.P. SOUSA, M.H. FERNANDES, and G.S. CARVALHO: *In vitro biomineralization by osteoblast-like cells I. Retardation of tissue mineralization by metal salts*. Biomaterials, 19:13–21, 1998.
- [72] MORSCHER, E.: Seiten 1–7. Die zementlose Fixation von Hüftendoprothesen. Springer, Berlin – Heidelberg – New York – Tokyo, 1. Auflage, 1983.
- [73] MULLINS, W.M. and C.R. ELSASS: *An Avrami analysis of the effects of serum and human albumin on calcium hydroxyapatite crystal growth*. The Biochemical Journal, 297:326–328, 1993.
- [74] NEALE, S.D., D.R. HAYNES, D.W. HOWIE, D.W. MURRAY, and N.A. ATHANASOU: *The effect of particle phagocytosis and metallic wear particles on osteoclast formation and bone resorption in vitro*. The Journal of Arthroplasty, 15(5):654–662, 2000.
- [75] OLDER, J.: *Charnley low-friction arthroplasty: a worldwide retrospective review at 15 to 20 years*. Journal of Arthroplasty, 17(6):675–680, 2002.
- [76] ONUMA, K. and A. ITO: *Cluster Growth Model for Hydroxyapatite*. Chemistry of Materials, 10:3346–3351, 1998.
- [77] OZAWA, S. and S. KASUGAI: *Evaluation of implant materials (hydroxyapatite, glass-ceramics, titanium) in rat bone marrow stromal cell culture*. Biomaterials, 17:23–29, 1996.

- [78] PANATTONI, G.L., P. D'AMELIO, M. DI STEFANO, and G.C. ISAIA: *Ossification Centers of Human Femur*. *Calcified Tissue International*, 66:255–258, 2000.
- [79] PETERSEN, M.M., P.T. NIELSEN, J.B. LAURITZEN, and B. LUND: *Changes in bone mineral density of the proximal tibia after uncemented total knee arthroplasty*. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 66(6):513–516, 1995.
- [80] PETERSEN, M.M., C. OLSEN, J.B. LAURITZEN, and B. LUND: *Changes in Bone Mineral Density of the Distal Femur Following Uncemented Total Knee Arthroplasty*. *The Journal of Arthroplasty*, 10(1):7–11, 1995.
- [81] PETERS, F. and M. EPPLE: *Simulating arterial wall calcification in vitro: biomimetic crystallization of calcium phosphates under controlled conditions*. *Zeitschrift für Kardiologie*, 90(Suppl. 3):III/81–III/85, 2001.
- [82] PILIPENKO, V.V.: *Private Mitteilungen*, Juli 2003.
- [83] PILIPENKO, V.V., C. MOSEKE, O. BOELLING, L.F. SUKHODUB, , and B. SULKIO-CLEFF: *XRD–investigation of the hydroxyapatite structure affected by metal ions*. *Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine*, (5):121–123, 2002.
- [84] PLITZ, W.: *Biomechanische Aspekte zur zementierten bzw. zementfreien Verankerungstechnik bei Hüftendoprothesen*, Seiten 35–39. In: Gierse, H. und B. Maaz: *Methoden in der Hüftendoprothetik: Prothesenmaterialien und Befestigungstechniken bei der Implantatverankerung*. ecomed, Landsberg/Lech, 1. Auflage, 1994.
- [85] PSCHYREMBEL, W., C. ZINK und O. DORNBLÜTH: *Klinisches Wörterbuch*. Walter de Gruyter, Berlin – New York, 256. Auflage, 1990.
- [86] PULEO, D.A. and W.W. HUH: *Acute Toxicity of Metal Ions in Cultures of Osteogenic Cells Derived from Bone Marrow Stromal Cells*. *Journal of Applied Biomaterials*, 6:109–116, 1995.
- [87] RAE, T.: *The toxicity of metals used in orthopaedic prostheses – An experimental study using cultured human synovial fibroblasts*. *Journal of Bone and Joint Surgery – British Volume*, 63(3):435–440, 1981.
- [88] RASIG, M.: *Biochemie*. BI Wissenschaftsverlag, Mannheim – Leipzig – Wien – Zürich, 1. Auflage, 1995.
- [89] REITER, A., J.C. GELLRICH, J. BACHMANN und A. BRAUN: *Verlauf der periprothetischen Mineralisationsdichte nach Implantation des zementfreien Bicontact–Schafte; Einfluss verschiedener Parameter – ein prospektives Follow-up über 4 Jahre*. *Zeitschrift für Orthopädie*, 141:283–288, 2003.

- [90] RUEGER, J.M.: *Knochenersatzmittel – Heutiger Stand und Ausblick*. Der Orthopäde, 27:72–79, 1998.
- [91] SCHERER, M.A., J. CHEUNG-CHI-WING, M. ROTHE und F. LECHNER: *Metallallergie und Prothesenlockerung – Gibt es Zusammenhänge?*, Seiten 198–209. In: Ascherl, R., F. Lechner, W. Siebels, H.M. Tensi, G. Blümel : Die gelockerte Hüftprothese – Ursachen und therapeutische Konsequenzen. Schattauer, Stuttgart – New York, 1. Auflage, 1990.
- [92] SCHNEIDER, R.: *Der Mechanismus der Schaftlockerung*, Seiten 112–116. In: Ascherl, R., F. Lechner, W. Siebels, H.M. Tensi, G. Blümel : Die gelockerte Hüftprothese – Ursachen und therapeutische Konsequenzen. Schattauer, Stuttgart – New York, 1. Auflage, 1990.
- [93] SHI, D., G. JIANG, and J. BAUER: *The Effect of Structural Characteristics on the In Vitro Bioactivity of Hydroxyapatite*. Journal of Biomedical Materials Research, 63(2):71–78, 2002.
- [94] SOCABIM SARL, BRUKER AXS, PARIS: *DiffractionPlus<sup>2000</sup> Evaluation Program*, 2000.
- [95] SOCABIM SARL, BRUKER AXS, PARIS: *DiffractionPlus<sup>2000</sup> TOPAS - General profile and structure analysis software for powder diffraction data*, 2000.
- [96] SONG, Y., H.H. HAHN, and E. HOFFMANN: *The effects of pH and Ca/P ratio on the precipitation of calcium phosphate*. 74(1):107–118, July 1993.
- [97] SUDARSANAN, K. and R.A. YOUNG: *Structural Interactions of F, Cl and OH in Apatites*. Acta Crystallographica, B34:1401–1407, 1978.
- [98] SUKHODUB, L.F., C. MOSEKE, A.B. BRIK, O. BOELLING, and B. SULKIO-CLEFF: *Properties of Hydroxylapatite Coatings for Biological Implants Deduced from Complementary Instrumental Methods*. Mineralogical Journal (Ukraine), 23(5/6):65–74, 2001.
- [99] SUKHODUB, L.F., V.V. PILIPENKO, C. MOSEKE, A.N. KALINKEVICH, L.B. SUKHODUB, O. BOELLING, and B. SULKIO-CLEFF: *Characterization and identification of hydroxyapatites obtained from aqueous solutions in presence of titanium ions by time-of-flight PDMS*. Reports of the National Academy of Sciences of Ukraine, (4):126–128, 2002.
- [100] THOMPSON, G.J. and D.A. PULEO: *Ti-6Al-4V ion solution inhibition of osteogenic cell phenotype as a function of differentiation timecourse in vitro*. Biomaterials, 17(20):1949–1954, 1996.

- [101] TOMAS, H., G.S. CARVALHO, M.H. FERNANDES, A.P. FREIRE, and L.M. ABRANTES: *Effects of Co-Cr corrosion products and corresponding separate metal ions on human osteoblast-like cell cultures*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 7:291-296, 1995.
- [102] TOMAZIK, B.B., I. MAYER, and W.E. BROWN: *Ion incorporation into octacalcium phosphate hydrolyxates*. Journal of Crystal Growth, 108:670-682, 1991.
- [103] TRIGATTI, B.L. and G.E. GERBER: *A direct role for serum albumin in the cellular uptake of long-chain fatty acids*. The Biochemical Journal, 308:155-159, 1995.
- [104] UNGETHÜM, M.: *Werkstoffe (Kunststoff, Keramik, Metall) und Konstruktionsmerkmale zementloser Prothesen*. In: Hipp, E., Grading, R., Rechl, H. (Hrsg.): Zementlose Hüftgelenksendoprothetik. Demeter, Gräfeling, Seiten 30-38, 1988.
- [105] VIGNOLES, M., G. BONEL, and R.A. YOUNG: *Occurrence of nitrogenous species in precipitated B-type carbonated hydroxyapatites*. Calcified Tissue International, 40:64-70, 1987.
- [106] WAGMAN, D.D., W.H. EVANS, V.B. PARKER, R.H. SCHUMM, I. HALOW, S.M. BAILEY, K.L. CHURNEY, and R.L. NUTTALL: *NBS tables of chemical thermodynamic properties - selections for inorganic and C<sub>1</sub> and C<sub>2</sub> organic substances in SI units*. Journal of Physical and Chemical Reference Data, 11(Suppl. 2), 1982.
- [107] WANG, P.E. and T.K. CHAKI: *Sintering behaviour and mechanical properties of hydroxyapatite and dicalcium phosphate*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 4:150-158, 1993.
- [108] WEAST, R. and OTHERS: *Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press, Cleveland Ohio, 60<sup>th</sup> edition, 1979.
- [109] WEINER, S. and L. ADDADI: *Design strategies in mineralized biological apatites*. Journal of Materials Chemistry, 7(5):698-702, 1997.
- [110] WELCH, J.H. and W. GUTT: *High-temperature studies of the system calcium oxide-phosphorus pentoxide*. Journal of the Chemical Society, pages 4442-4444, 1961.
- [111] WILKE, A., S. v. HIRSCHHEYDT, J. ORTH, H. KIENAPFEL, P. GRISS und R.P. FRANKE: *Die humane Knochenmarkszellkultur - Eine sensitive Methode zur Beurteilung der Biokompatibilität von Materialien, die in der Orthopädie verwendet werden*. Zeitschrift für Orthopädie, 133:159-165, 1995.

- [112] WILKE, A., J. ORTH, R. FUHRMANN, H. KIENAPFEL, P. GRISS, and R.P. FRANKE: *Biocompatibility analysis of different biomaterials in human bone marrow cell cultures*. Journal of Biomedical Materials Research, 40:301–306, 1998.
- [113] WILLERT, H.G. und G. BUCHHORN: *Pathogenese und Morphologie aseptischer und septischer Implantatlockerungen*, Seiten 161–179. In: Ascherl, R., F. Lechner, W. Siebels, H.M. Tensi, G. Blümel : Die gelockerte Hüftprothese – Ursachen und therapeutische Konsequenzen. Schattauer, Stuttgart – New York, 1. Auflage, 1990.
- [114] WOODMAN, J.L., J.J. JACOBS, J.O. GALANTE, and R.M. URBAN: *Metal Ion Release from Titanium-Based Prosthetic Segmental Replacements of Long Bones in Baboons: A Long-Term Study*. Journal of Orthopaedic Research, 1:421–430, 1984.
- [115] ZHOU, J., X. THANG, and J. CHEN: *High temperature characteristics of synthetic hydroxyapatite*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 4:83–85, 1993.



# Danksagung

Herrn *Prof. Dr. R. Santo* und Herrn *Dr. B. Sulkio-Cleff* danke ich für die Möglichkeit zur Anfertigung dieser Arbeit.

Meinen Eltern *Alfred und Monika Moseke* danke ich für ihre Unterstützung in allen Phasen der Arbeit.

Meiner Freundin *Natalie* danke ich für ihren moralischen Beistand und ihre Geduld.

Außerdem möchte ich folgenden Freunden und Mitarbeitern danken:

- Herrn *Prof. Dr. L.F. Sukhodub* für hilfreiche Diskussionen.
- Frau *L.B. Sukhodub* und Frau *Dipl. Biol. V.V. Pilipenko* für ihre Hilfe bei der Durchführung der chemischen Experimente und für ihre Diskussionsbereitschaft.
- Herrn *Dipl. Phys. O. Bölling*, der immer für Anregungen und Diskussionen zur Verfügung stand.

Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Kernphysik, die dazu beigetragen haben, die Arbeit am Institut so angenehm wie möglich zu gestalten.

Hiermit versichere ich, dass ich diese Arbeit selbständig und ausschließlich unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel verfasst habe.

Münster, Oktober 2003





# Lebenslauf

Name Claus Moseke  
Geburtsdatum 3. Mai 1970  
Geburtsort Emsbüren  
Eltern Alfred Moseke  
Monika Moseke geb. Epping  
Familienstand ledig

## Schulbildung:

1976–1980 Grundschule Südeschule Rheine  
1980–1989 Kopernikus–Gymnasium Rheine  
18. Mai 1989 Abitur

## Studium:

1991–1998 Studium der Physik an der Westfälischen  
Wilhelms–Universität Münster  
22. September 1993 Vordiplomprüfung  
1996 mündliche Diplom–Hauptprüfungen  
1996–1998 Diplomarbeit am Institut für Kernphysik,  
Münster unter der Anleitung von Akad. Dir.  
Dr. B. Sulkio–Cleff und Prof. Dr. R. Santo  
Thema: Kristallstruktur und Zinnabrieb von  
aufgeschmolzenem und nichtaufgeschmolzenem  
Weißblech  
18. Juni 1998 Diplom in Physik

## Promotion:

Juli 1998 Beginn der Dissertation am Institut  
für Kernphysik, Münster

.....