

## Herstellung von nano-skaligen Hydroxylapatitsuspensionen zur Beschichtung von Titan-Implantatwerkstoffen

M. Sauer, R. Nonninger, H. Schmidt  
 Institut für Neue Materialien, GmbH, Saarbrücken

### Zusammenfassung

Als Ausgangsmaterial für die Beschichtung von porösen Titansubstraten wurde nichtstöchiometrisches nanoskaliges, Hydroxylapatit (n-HAP) mit mittlerer Primärpartikelgröße von 30 x 8 nm und Ca/P-Verhältnissen von 1,62-1,66 hergestellt. Durch Oberflächenmodifizierung der n-HAP-Pulver mit 5 Gew.% (3,6,9)-Trioxaundecandisäure (TOUDS) wurden stabile Suspensionen hergestellt, die für die Beschichtung poröser Titansubstrate geeignet sind. Eine Imprägnation der so erhaltenen n-HAP-Schichten mit einer im Sol-Gel-Verfahren gewonnenen HAP/Tricalciumphosphat (TCP)-Bindephase ermöglicht die Sinterung bei 600 °C. Auf den Porenwänden konnten so bioaktive Beschichtungen mit 0,05 bis 2 µm Schichtdicke erzielt werden, ohne daß Ablöseerscheinungen der Schicht auftraten.

### Einleitung

Bioaktive Calciumphosphatkeramiken, insbesondere Hydroxylapatit (HAP), finden eine breite Anwendung als Komponente in Knochenersatzmaterialien (1) und als Beschichtungsmaterial für Orthopädieimplantate aus metallischen Werkstoffen (2). Aufgrund ihrer chemischen Ähnlichkeit mit der anorganischen Komponente des Knochens können sie mit dem angrenzenden Knochengewebe feste Bindungen eingehen. Dies bewirkt eine verbesserte Integration in die Knochenmatrix und eine Beschleunigung des Einwachsprozesses im Vergleich zu bioinerten Materialien, wodurch das Einwachsen von Bindegewebe in die postoperativen Implantat-Knochen-Spalten verhindert wird (3). Die bisher technisch verwendeten Verfahren der HAP-Beschichtung basieren auf Plasma-Spray-Verfahren (4), durch welche Schichtdicken im Bereich größer 50 µm realisiert werden. Dies führt zu Haftungsproblemen infolge unterschiedlicher thermischer Ausdehnungskoeffizienten und unterschiedlicher Sprödigkeiten. Zur Herstellung sehr dünner HAP-Schichten auf Titan sind Sol-Gel-Verfahren angewandt worden (5), jedoch müssen die hierbei erzielten Schichtdicken von < 0,2 µm als zu gering für den Einsatz im Bereich der Implantatwerkstoffe angesehen werden (6).

Aufgrund der Sprödigkeit von HAP (7) sind Schichten im Bereich zwischen 1 und 5 µm erstrebenswert, welche im Laufe der Einheilphase im Körper im Gegensatz zu Plasma-Spray-Schichten vollständig resorbiert werden. Auf diese Weise sollten Implantatlockerungen durch Rißbildung und Abplatzungen der Schichten verhindert werden können.

Das Ca/P-Verhältnis (8) bzw. das HAP/TCP-Verhältnis (9) der HAP-Schichten hat einen Einfluß auf das Knochenwachstum und die Resorbierbarkeit im Körper (10). Die optimalen Verhältnisse sind dabei noch nicht bekannt. Voraussetzung für die Ermittlung eines optimierten Ca/P-Verhältnisses anhand von Tierversuchen ist deren reproduzierbare Einstellbarkeit, was durch Verwendung nichtstöchiometrischer HAP-Pulver möglich ist (11).

Als Substrate für bioaktive Beschichtungen bieten poröse Titanimplantate den Vorteil einer verbesserten Scherfestigkeit durch Verzahnung des Knochens mit dem Implantat. (12).

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Verfahrens, das 1-5 µm dicke Beschichtungen aus HAP (oder HAP/TCP) mit einstellbarem Ca/P-Verhältnis auf porösen Titanimplantaten ermöglicht. Die

Herstellung von dünnen Schichten in porösen Substraten soll durch Suspensionen aus nichtstöchiometrischem nanoskaligem-Hydroxylapatit (n-HAP) und deren guten Eindringtiefen realisiert werden. Durch Verwendung eines Bindesystemes (HAP/TCP) aus dem Sol-Gel-Prozeß soll eine Verringerung der Sintertemperatur erreicht werden.

### Experimentelles

Zur Herstellung nanoskaliger, nichtstöchiometrischer HAP-Pulver (n-HAP) (13) wurde eine 0,16-molare wässrige Lösung von Calciumnitrat und eine 0,48-molare Diammoniumhydrogenphosphat-Lösung eingesetzt. Die Diammoniumhydrogenphosphatlösung (mit 25 Gew.%  $\text{NH}_3$ -Lösung auf  $\text{pH}=10$  eingestellt) wurde zur Calciumnitratlösung ( $\text{pH}=10$ ) zugetropft, bis die Mischung ein Ca/P-Verhältnis von 1,667 aufwies. Nach Rührdauern von 20 - 240 h wurde der Niederschlag durch Zentrifugation von der Mutterlauge abgetrennt, mehrfach mit destilliertem Wasser und Aceton gewaschen und schließlich bei  $80\text{ }^\circ\text{C}$  getrocknet.

Die Charakterisierung der Pulver erfolgte durch FT-IR-Spektroskopie, Röntgendiffraktometrie und Transmissionselektronenmikroskopie. Mittels Röntgenbeugung wurde das Calcium/Phosphor Verhältnis der Pulver nach Kalzinierung bei  $1000\text{ }^\circ\text{C}$  aus den Intensitätsverhältnissen des (211)-Reflexes von HAP und des (170)-Reflexes von  $\alpha$ -TCP ermittelt (14). Die Auswertung des (002)-Reflexes von getrocknetem HAP-Pulver nach Debye-Scherrer ergab die Kristallitgröße in Richtung der c-Achse.

Die Herstellung der Suspensionen erfolgte durch Dispergierung der n-HAP-Pulver in Ethanol unter Zugabe von 3,6,9-Trioxaundecandisäure (TOUDS; 5 - 12 Gew.% bezogen auf die Pulvermasse) als Oberflächenmodifikator. Der Gehalt an Oberflächenmodifikator wurde durch Messungen der Teilchengrößen in Suspension (Röntgen-Scheibenzentrifuge), durch Minimierung der Viskosität (Rotationsviskosimeter) und durch Akustophorese (Maximierung des Zetapotentials) optimiert.

Poröse Titan-Substrate aus Ti-Pulvern mit Partikelgrößen von  $60 - 90\ \mu\text{m}$  (15) wurden mittels Dip-Coating-Verfahren beschichtet. Sie weisen mittlere Porendurchmesser von  $20\ \mu\text{m}$  auf. Beim Dip-Coating-Verfahren wurden Suspensionen mit 1-10 Gew.-% n-HAP eingesetzt. Dabei sind Einfach- und Mehrfachbeschichtungen durchgeführt worden. Die Schichtdicke in porösen Körpern erfolgte ebenso wie die Charakterisierung der Mikrostruktur der Grünsichten mittels hochauflösender Rasterelektronenmikroskopie. Zum Vergleich wurden profilometrische Schichtdickenbestimmungen an planaren, ebenfalls durch Dip-Coating beschichteten Proben durchgeführt.

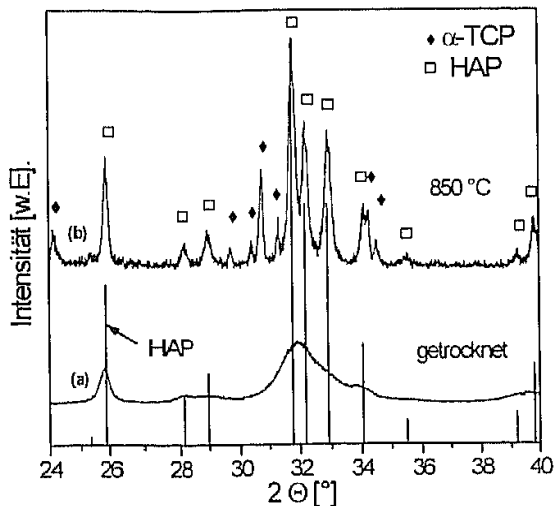
Die Sinterereigenschaften der HAP-Pulver wurden anhand uniaxial gepresster Grünkörper ( $150\ \text{MPa}$ ) ermittelt. Die Sinterung der Beschichtungen auf den Ti-Legierungen erfolgte unter Vakuum, Argon oder Luft in einem Rohrofen mit Aufheizrate von  $2.5\ \text{K/min}$  bei Temperaturen zwischen  $600$  und  $1000\text{ }^\circ\text{C}$ . Die Proben wurden mittels HREM charakterisiert, und der Phasenbestand auf planaren Ti-Substraten mittels Röntgenbeugung unter kleinen Offset-Winkeln bestimmt.

Zur Infiltration der n-HAP-Schichten mit HAP aus dem Sol-Gel-Verfahren (5) diente eine ethanoli-sche Lösung von Calciumcarboxylaten und Phosphorsäureestern. Das Ca/P-Verhältnis wurde über das Verhältnis der Komponenten auf Werte von 1,5 - 1,8 eingestellt. Nach Beschichtung im Dip-Coating-Verfahren erfolgte eine Sinterung an Luft bei  $600\text{ }^\circ\text{C}$ .

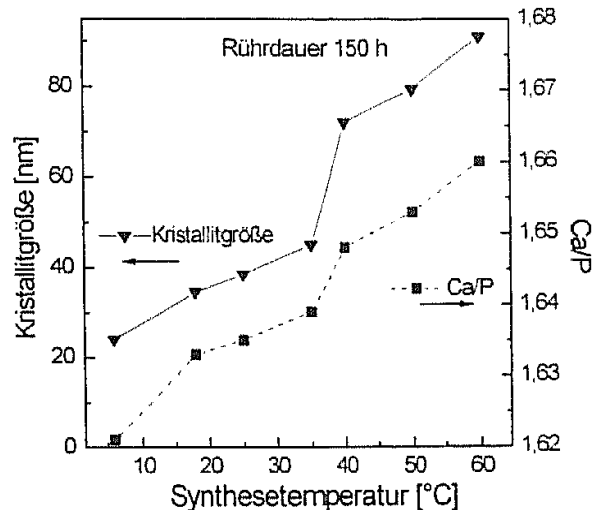
### Ergebnisse und Diskussion

Die mittels Fällung in ammoniakalischer Lösung (13) hergestellten Pulver bestehen aus n-HAP, wobei den Röntgendiagrammen keine Hinweise auf TCP zu entnehmen sind (Bild 1a). Die Linienbreite weist auf sehr kleine Teilchen hin. Die Sinterung der Pulver führt ab  $800\text{ }^\circ\text{C}$  zu einer Phasendifferenzierung unter Bildung von stöchiometrischem HAP und  $\alpha$ -Tricalciumphosphat (Bild

1b). Das Ca/P-Verhältnis und die Größe der Kristallite in Richtung der kristallographischen c-Achse sind in Bild 2 in Abhängigkeit von der Synthesetemperatur ( $T_{\text{syn}}$ ) aufgetragen. Wie aus Bild 2 hervorgeht, erhöht sich die Primärpartikelgröße und das Ca/P-Verhältnis mit zunehmender Fällungstemperatur bei konstanter Rührdauer. Zunehmende Rührdauer erhöht ebenfalls das Ca/P-Verhältnis der n-HAP-Pulver. Daher kann über die Variation von Synthesetemperatur und Rührdauer die Partikelgröße und das Ca/P-Verhältnis nach Bedarf eingestellt werden.



**Bild 1:** Röntgendiffraktogramme von HAP mit Ca/P = 1,63, (a)- getrocknetes Pulver, (b) gesintert bei 850 °C, (c)-gesintert bei 1000°C. Die Balken stellen die Daten der JCPDS -Kartei 9-432 (HAP) dar.

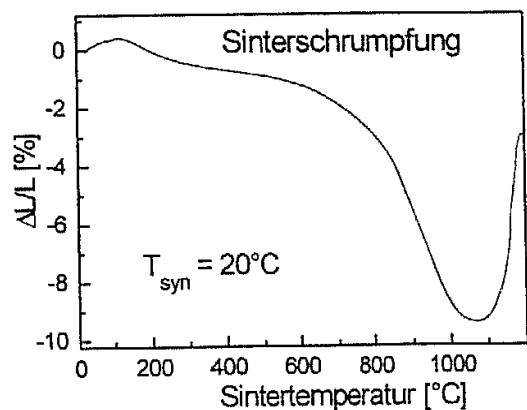


**Bild 2:** HAP-Pulverparameter in Abhängigkeit von der Synthesetemperatur. Die Kristallitgröße in Richtung der c-Achse wurde nach der Debye-Scherrer-Gleichung berechnet.

Die TEM-Aufnahme eines bei 20 °C synthetisierten HAP-Pulvers in Bild 3 zeigt dessen nadelförmige Morphologie. Die lineare Schrumpfung der Grünkörper aus einem Pulver mit Ca/P=1,63 ist in Bild 4 dargestellt. Unterhalb von 850 °C zeigt die Probe eine geringe Verdichtung und oberhalb von 1100 °C ist eine Ausdehnung der Grünkörper zu erkennen, die auf ein Kornwachstum von  $\alpha$ -TCP mit einer Dichte von 2,81 g/cm<sup>3</sup> (HAP 3,15 g/cm<sup>3</sup>) und dadurch erfolgter Rißbildung im Grünkörper zurückzuführen ist.

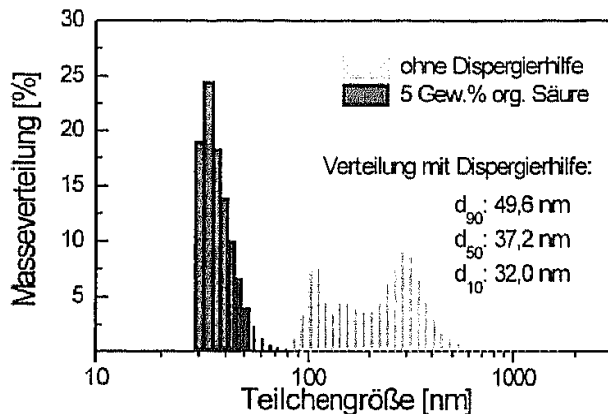


**Bild 3:** TEM-Aufnahme von HAP-Pulver synthetisiert bei  $T_{\text{syn}} = 20$  °C.

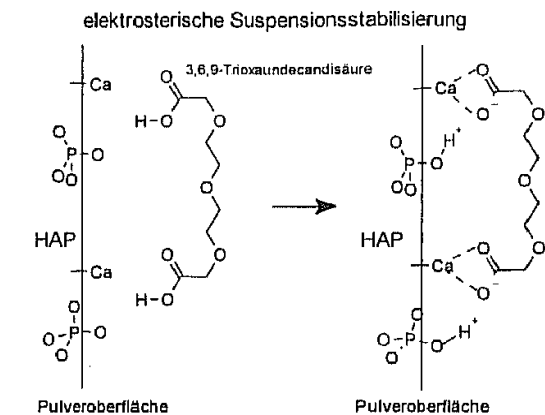


**Bild 4:** Dilatometerkurve eines HAP-Presslings, Ca/P = 1,63, Heizrate 10 K/min.

Durch die Oberflächenmodifizierung eines Pulvers mit der Primärpartikelgröße 25-35 x 5-10 nm (siehe Bild 4) mit Hilfe von 5% 3,6,9-Trioxaundecandisäure (TOUDS) konnte eine Deagglomeration der n-HAP-Pulver bis auf Primärteilchengröße erreicht und so eine für Tauchverfahren geeignete Beschichtungssuspension gewonnen werden. Die Optimierung des Gehaltes an Oberflächenmodifikator erfolgte dabei durch Kontrolle der Viskosität sowie der Partikelgrößenverteilung in Suspension. In Bild 5 ist die mit der Röntgenscheibenzentrifuge ermittelte Partikelgrößenverteilung der optimierten Suspension im Vergleich zur Ausgangssuspension dargestellt, Bild 6 zeigt ein Modell für die Anbindung des Oberflächenmodifikators an die Pulveroberfläche.



**Bild 5:** Partikelgrößenverteilung (hydrodynamischer Radius) der n-HAP-Suspensionen mit und ohne Oberflächenmodifikator (Röntgenscheibenzentrifuge)

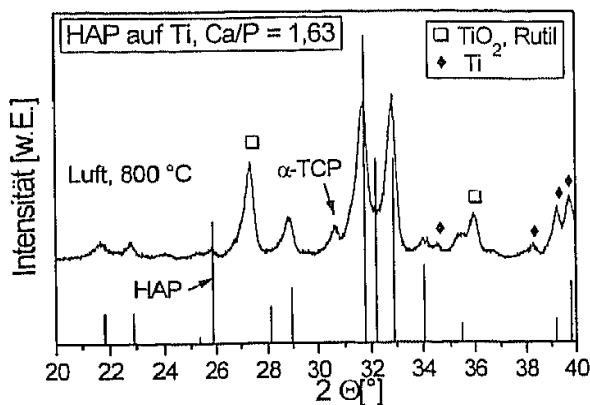


**Bild 6:** Modell der Anbindung von TOUDS an die HAP-Oberfläche

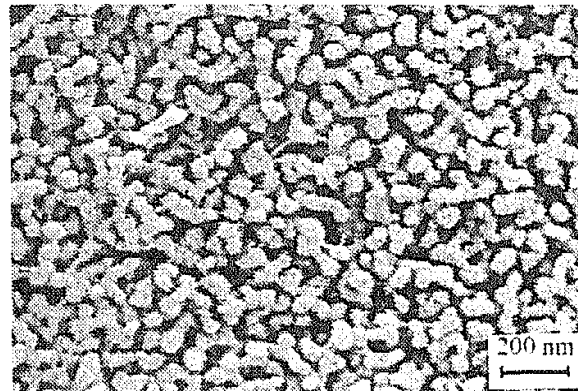
Zur Tauchbeschichtung poröser Titankörper wurde eine Suspension mit 10 Gew.% n-HAP und 0,5 Gew.% TOUDS in Ethanol verwendet. Aussagen über die Schichtdicken in porösen Substraten sind nur über punktuelle Bestimmung an HREM-Aufnahmen möglich. Es wurden Werte von 0,05-2  $\mu\text{m}$  erhalten. Die gemessenen Schichtdicken variieren in Abhängigkeit von der jeweiligen Porengröße. Auf planaren, zu Vergleichszwecken hergestellten Titanproben wurden Schichtdicken von 0,5  $\mu\text{m}$  pro Dip-Vorgang und bis zu 10 Beschichtungen ohne Reißbildung erzielt. Ein mehrmaliges Wiederholen des Tauchvorgangs erforderte eine Trocknungszeit von 30 min.

Die Sinterung HAP-beschichteter Titanplättchen im Vakuum und unter Argon führt oberhalb von 700  $^{\circ}\text{C}$  zu einer Zersetzung des HAP durch Reduktion von Phosphat durch Titan. Es bildet sich Tetracalciumphosphat ( $\text{TeCP}$ ;  $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ ) und  $\text{CaO}$ . Beide Verbindungen sind nicht biokompatibel (16), daher sind diese Bedingungen zur Sinterung dünner HAP-Schichten nicht geeignet. Die Sinterung an Luft führt zur Bildung einer Rutil ( $\text{TiO}_2$ )-Schicht, die zwar den Kontakt zwischen Ti-Substrat und HAP-Schicht und damit die Zersetzung in  $\text{TeCP}$  und  $\text{CaO}$  verhindert (Bild 7), andererseits aber zu Beeinträchtigungen der mechanischen Eigenschaften der Substrate führt (15). Eine HAP/TCP-Differenzierung wird ab 800  $^{\circ}\text{C}$  beobachtet, nicht jedoch bei  $T < 800$   $^{\circ}\text{C}$ . Die in Bild 7 gegenüber der JCPDS-Kartei veränderten Intensitäten der Reflexe von HAP sind auf eine Orientierung der HAP-Kristalle an der Substratoberfläche zurückzuführen. Das Mikrogefüge einer in Luft bei 800  $^{\circ}\text{C}$  gesinterten HAP-Schicht ist in der TEM-Aufnahme in Bild 8 wiedergegeben. Aufgrund der geringen Verdichtung der HAP Pulver bei 800  $^{\circ}\text{C}$  (siehe Bild 3) sind die gesinterten HAP-Schichten porös. Eine Verbesserung der Verdichtungseigenschaften und der Haftung der n-HAP-Schichten bei verringerter Temperatur wurde durch eine Sol-Gel-Imprägnation erreicht. Hierbei wird nach der Kalzinierung einer durch zweimalige Tauchbeschichtung von porösen Proben erhalte-

nen n-HAP-Schicht ein HAP-Sol (6) infiltriert, aus dem sich bei 600 °C eine Bindephase aus TCP und HAP bildet. Die Haftungseigenschaften dieser Schichten auf planaren Substraten sind unter physiologischen Bedingungen (physiologische NaCl-Lös., Einlagerung über 7 Tage bei 37 °C, mikroskopische Bewertung) bewertet und für die Zwecke der Beschichtung von Poren für ausreichend befunden worden (17). So können Substratschäden durch Oxidation vermieden und durch Kombination von n-HAP- mit Sol-Gel-HAP Schichtdicken bis zu 2 µm auf den Porenwänden poröser Proben realisiert werden.



**Bild 7:** Röntgendiffraktogramm einer HAP-Schicht auf Titan, 800 °C Luft, Schichtdicke 5 µm.

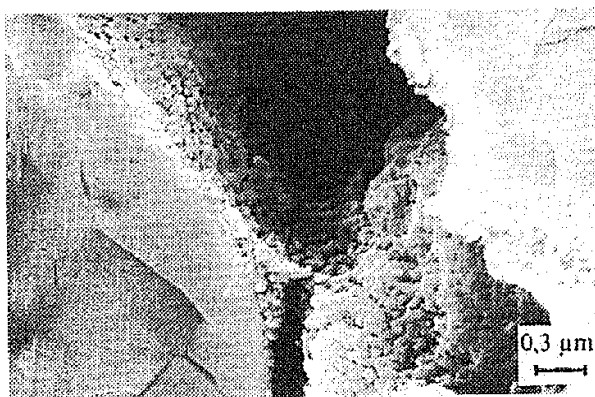


**Bild 8:** HREM-Aufnahme einer HAP-Schicht, 800°C, 30 min Luft.

Ein poröses Titansubstrat, das mit n-HAP-Suspension und nachträglich mit Sol-Gel-HAP beschichtet wurde, zeigt Bild 9. Eine homogene Beschichtung auf den Porenwänden konnte somit erreicht werden.

Erste Untersuchungen der Biokompatibilität anhand Kultivierung humaner Osteoblasten auf beschichteten Substraten an der RWTH Aachen zeigen gegenüber unbeschichteten Vergleichsproben ein verbessertes Wachstum von humanen Osteoblastenkulturen auf Sol-Gel-HAP-infiltrierten n-HAP-Schichten (18).

Die „in vivo“ - Wirksamkeit der so beschichteten porösen Proben wird in Tierversuchen von der orthopädischen Klinik Essen untersucht, die Ergebnisse stehen derzeit noch aus.



**Bild 9:** Mit n-HAP beschichtetes und mit Sol-Gel-HAP infiltriertes poröses Titansubstrat.

### Schlußfolgerungen

Im Gegensatz zu Plasma Spray-Verfahren ist die in dieser Arbeit angewandte naß-chemische Methode geeignet, eine dünne Beschichtung aus HAP mit einstellbarem Ca/P-Verhältnis auf den Porenwänden poröser Titansubstrate zu erzeugen. Aufgrund gegebener Substrateigenschaften (Temperaturbeständigkeit an Luft bis  $T \leq 600 \text{ }^\circ\text{C}$ ) erwies es sich als notwendig, n-HAP-Grüschichten mit Sol-Gel-HAP zu imprägnieren, um geringere Sintertemperaturen und verbesserte Haftung gegenüber reinen n-HAP-Schichten zu erhalten. Die Schichtdicken auf porösen Körpern sind mit maximal  $2 \text{ } \mu\text{m}$  etwas geringer als angestrebt. Ob die erhoffte Wirkung des verbesserten Knocheneinwachsens sowie die Resorption der HAP-Schichten dennoch erreicht werden kann, ist erst nach Abschluß der laufenden Tierversuche zu klären. Eine Voraussetzung, die Bioaktivität der Schichten, konnte an Zellkulturuntersuchungen mit humanen Osteoblasten unter Beweis gestellt werden.

### Danksagung

Die Arbeiten wurden vom Bundesministerium für Bildung und Forschung im Rahmen des MaTech-Programmes unter dem Kennzeichen 03 N 4004 gefördert und in Zusammenarbeit mit der Universität des Saarlandes, der RWTH Aachen und der orthopädischen Universitätsklinik in Essen sowie der Firma Keramed Medizintechnik durchgeführt.

### Literatur

- (1) Klein, C.P.A.T.; de Bleeck-Hogervorst, J.M.A.: *Biomaterials*, **11** (1990), 509.
- (2) Lacefield, W.R.: „Bioceramics. Materials Characterization versus in vivo Behavior“; Ducheyne, P., Lemons, J. (Hrsg): New York Acad. Sci., New York (1987).
- (3) Söballe, K.; Rasmussen, H.B.; Hansen, E.S.; Buenger, C.: *Acta Orthop.Scand.*, **63**(2) (1992) 128.
- (4) Klein, C.P.A.T.; Patka, P.; van der Lubbe, H.B.M.; Wolke, J.G.C.; de Groot, K.: *J.Biomed.Mater.Res.*, **25** (1991) 53.
- (5) Brems, J.; Zhou, Y.; Groh, L.: *Biomaterials*, **16** (1995) 239.
- (6) Osborn, J.F.: *Biomed.Technik*, **32** (1987) 177.
- (7) Willmann, G.: *Mat.-wiss.- u. Werkstofftech.*, **23** (1992) 107.
- (8) Brems, J.; Eisenbarth, E.; Hildebrand, H.F.: „Surface-Performance of Titanium“, Hrsg.: Gregory, J.K.; Rack, H.J.; Eylon, D.: The Minerals, Metals and Materials Society (1997) 47.
- (9) Cook, S.D.; Thomas, K.A.; Kay, J.K.; Jarcho, M.: *Clinical Orthopaedics and Related Research*, **280** (1988) 303.
- (10) Klein, C.P.A.T.; Driessen, A.A.; de Groot, K.; van den Hooff, A.: *J.Biomed. Mater. Res.*, **17** (1983) 769.
- (11) Quinten, A.; Naß, R.; Schmidt, H.: Euro-Ceramics II, Band 1, Ziegler, G.; Hausner, H.(Hrsg.) (1993) 209.
- (12) Oonishi, H.; Noda, T.; Ito, S.; Kohda, A.; Ishimaru, H.; Yamamoto, M.; Tsuji, E.: *J.Appl.Biomater.*, **5** (1994) 23.
- (13) Jarcho, M.; Bolen, C.H.; Thomas, M.B.: *J. Mater. Sci.*, **11** (1976) 2027.
- (14) Ishikawa, K.; Ducheyne, P.; Radin, S.: *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **4** (1993) 165.
- (15) Brems, J., Universität des Saarlandes, private Mitteilung
- (16) Kurzweg, H.; Heimann, R.B.; Troczynski, T.: *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **9** (1998) 9.
- (17) Marx, R., RWTH Aachen, private Mitteilung
- (18) Marx, R., RWTH Aachen, private Mitteilung