

This article was downloaded by:

On: 27 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713618290>

Decomposition d'une Bioapatite Phosphocalcique en Milieu Dit Physiologique: Effet de la Sursaturation

A. Ouadiay^a; M. Bennani-Ziatni^a; A. Taitai^a

^a Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, Kénitra, Maroc, Morocco

To cite this Article Ouadiay, A. , Bennani-Ziatni, M. and Taitai, A.(2008) 'Decomposition d'une Bioapatite Phosphocalcique en Milieu Dit Physiologique: Effet de la Sursaturation', *Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements*, 183: 6, 1420 — 1431

To link to this Article: DOI: 10.1080/10426500701669990

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/10426500701669990>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Decomposition d'une Bioapatite Phosphocalcique en Milieu Dit Physiologique: Effet de la Sursaturation

A. Ouadiay, M. Bennani-Ziatni, and A. Taitai

Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux, Département de Chimie,
Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, Kénitra, Maroc, Morocco

The effect of saturation of the solution on transformations of a synthetic calcium phosphate was investigated. The solution was shown to have some physicochemical properties equivalent to those of physiological fluid. The Bioapatite is the apatitic octacalcium phosphate (OCPa); it has a low Ca/P atomic ratio identical to that of triclinic octacalcium phosphate (OCPtr).

Results of solid analysis coupled with calculations of the degree of saturation of the solution enable us to delimit two saturation domains. In the first domain (low saturation degree), the calcium phosphate evolves only towards an apatitic phase with appreciable improvement of crystallization state. In the second domain (high saturation degree) a monotonous decomposition of the calcium phosphate gives a mixture of an apatitic solide phase and monetite (DCPA). The mechanism of evolution or decomposition process of the OCPa during this in vitro test is discussed.

Keywords Bioapatitic calcium phosphate; decomposition; physiological medium; supersaturation

INTRODUCTION

L'évolution ou la maturation des composés phosphocalciques a attiré l'attention de beaucoup de chercheurs.^{1,3} C'est ainsi que la synthèse du phosphate octocalcique triclinique (OCPtr) a été réalisée par hydrolyse de la brushite (DCPD),⁴ ou du phosphate triclinique β (β -TCP).⁵

Les études in vitro des transformations que subissent les composés phosphocalciques voient leurs importances dans le fait qu'elles permettent d'élucider les mécanismes qui régissent ces transformations notamment en milieu biologique. La fraction minérale de l'os qui est constituée de phosphate de calcium déficient ayant une structure apatitique,⁵ se trouve incuber dans le fluide biologique du milieu vivant

Received 4 September 2007; accepted 07 September 2007.

Address correspondence to A. Taitai, Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl, 14000 Kénitra, Maroc, Morocco. E-mail: ataitai@yahoo.fr

(pH = 7,4; force ionique = 0,16 Debye, température 37°C). Cette bioapatite est en évolution continue avec l'âge, ce qui peut être dû vraisemblablement à l'influence de plusieurs paramètres induisant des interactions avec le milieu environnant.^{6,7}

La sursaturation constitue un de ces paramètres qui joue un rôle déterminant dans la formation de l'une des phases de phosphate de calcium.^{1,8} Ce facteur semble jouer le même rôle lors de la formation des premiers cristaux d'apatite biologique du milieu vivant.⁸ Il influe aussi sur l'apparition de calculs dentaires par un processus de dissolution de la plaque dentaire suite aux actions bactériennes de la même plaque qui génèrent un milieu relativement acide suivi de la précipitation du tartre lorsque le milieu atteint un certain niveau de sursaturation.^{9,10}

Nous nous proposons, dans le présent travail, d'étudier en fonction de la sursaturation du milieu dit physiologique, la réactivité et le comportement du phosphate octocalcique apatitique noté OCPa de formule chimique: $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_{2,5}(\text{PO}_4)_{3,5}(\text{OH})_{0,5}$.

PARTIE EXPERIMENTALE

Le phosphate de calcium utilisé (OCPa), est une apatite phosphocalcique déficiente obtenue à 37°C dans un milieu de constante diélectrique inférieure à celle de l'eau, selon la méthode décrite par Zahidi et coll.¹¹ Elle consiste en une coprécipitation rapide à partir d'une solution de sel de calcium $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ et une solution ammoniacale d'ion hydrogénophosphates $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. Le coprécipité obtenu est ensuite lavé avec une solution ammoniacale à 50% en volume eau/éthanol, puis séché à 80°C à l'étuve pendant 24 heures.

Dans des flacons contenant initialement un volume "v" mL de la solution de force ionique 0,16 Debye de pH = $6,5 \pm 0,1$ sont ajoutées des masses "m" (en mg) d'OCPa fraîchement préparé et finement broyé. Le sel utilisé pour fixer la valeur initiale de la force ionique de la solution est le nitrate de sodium (NaNO_3) .^{12,13} Le rapport masse du solide sur volume de la solution est noté Ra (mg/mL). Pour chaque valeur de Ra, le mélange est agité pendant une minute à une vitesse de 1000 trs/mn, il est ensuite porté à 37°C dans un bain thermostaté pendant 6 heures, durée largement supérieure au temps d'équilibre obtenu seulement après 15 mn d'incubation pour l'ensemble des essais aux différentes valeurs de Ra.¹⁴ Dans chaque cas, deux essais ont été réalisés. Les marges d'erreurs que nous avons enregistré sont de l'ordre de 2 à 4%. Pour Ra infinie, à une masse de poudre d'OCPa nous avons ajouté quelques gouttes de la solution, l'homogénéisation est obtenue après malaxage mécanique rapide.

Après traitement, le solide et la solution sont séparés par filtration sur verre fritté. Les concentrations en ion calcium ont été déterminées par compléxométrie en retour, l'agent complexant étant l'EDTA¹⁵; celles en ion orthophosphate sont obtenues selon la méthode de Guei et Deitz qui préconise la formation en milieu acide du complexe phosphovanadomolybdique jaune dont le maximum d'absorption se situe vers 460 nm.¹⁶

Les valeurs des concentrations déterminées expérimentalement nous permettent de déduire les activités des différentes espèces chimiques en solution.

Le coefficient d'activité noté f_{zi} relatif à l'espèce chimique i de charge électrique Z_i est calculé selon l'équation de Debye-Hückel proposée par Davies¹⁷:

$$\log(f_{zi}) = -AZ_iIS^{1/2}/(1 + Ba_iIS^{1/2})$$

Où, IS est la force ionique de la solution: $IS = \frac{1}{2} \sum_i Z_i^2 C_i$, avec C_i la concentration de l'espèce chimique i de charge Z_i .

A et B sont deux constantes qui dépendent de la température et de la constante diélectrique du milieu, à 37 °C $B = 3,33 \cdot 10^9$ et $A = 0,521$.^[18]

" a_i " représente le rayon ionique de l'espèce chimique considérée de charge Z_i .

A partir des valeurs des activités des espèces chimiques associées ou non en solution, nous pouvons calculer les sursaturations de la solution vis à vis de l'hydroxyapatite (HAP), du phosphate dicalcique dihydraté (DCPD), du phosphate dicalcique anhydre (DCPA) ou d'une autre phase phosphocalcique.

Le suivi de la sursaturation relative de la solution peut être réalisé en calculant la variation de l'enthalpie libre accompagnant la formation d'un des phosphates de calcium considérés¹⁸:

$$\Delta G = -1/n \ln(IP/K_{s0})$$

avec, IP : le produit ionique du soluté qui, à la saturation, est égale à la valeur de la constante de solubilité noté K_{s0} . Pour les différents phosphates étudiés IP est tel:

$$IP = (Ca^{2+})^5 (PO_4^{3-})^3 (OH^-), \text{ pour l'hydroxyapatite.}$$

$$IP = (Ca^{2+})(HPO_4^{2-}), \text{ pour la DCPA et DCPD.}$$

n : représente le nombre d'espèces figurant dans le produit ionique IP , il vaut respectivement 9, 2 et 2 pour l'HAP et DCPA ou DCPD.

Dans ces conditions et à 37°C on a: $K_{s0} = 2,34 \cdot 10^{-59}$, $9,20 \cdot 10^{-8}$ et $2,38 \cdot 10^{-7}$ pour l'hydroxyapatite,¹⁹ la monétite,²⁰ et la bruchite.²¹

D'après l'expression de ΔG : si la solution est sousaturée pour un composé donné ($IP < K_{s0}$) alors $\Delta G > 0$, par contre $\Delta G < 0$ si la solution

se sature ($IP > K_{s0}$). L'état d'équilibre est marqué par une valeur de $\Delta G = 0$, la solution se trouve à la limite de la solubilité pour un composé donné et on a dans ce cas $IP = K_{s0}$.

RÉSULTATS

Dans cette étude, on s'est intéressé aussi bien au solide qu'à la solution après traitement.

Etude de la Solution

Les résultats d'analyses chimiques ainsi que les calculs de la variation des enthalpies libres de formation des phases considérées sont donnés dans le Tableau I. Nous remarquons que les teneurs de la solution en ions calcium et orthophosphate augmentent lorsque Ra croît. Cependant, à partir de $Ra = 20$ mg/mL, on assiste à une libération d'ion phosphate beaucoup plus importante que celle des ions calcium (Figure 1). Ainsi le rapport atomique Ca/P de la solution tend vers des valeurs pratiquement nulles lorsque Ra prend des valeurs élevées. Cependant, la dissolution du solide est non congruente quelle que soit la valeur prise par le rapport Ra (Figure 2).

Les valeurs du pH de la solution montrent qu'elle est d'autant plus acide que les valeurs de Ra sont élevées. Cette observation est à relier à la forte libération des ions hydrogénophosphate dans la solution. Un phénomène similaire a été observé²² lors de l'implantation in vivo de matériaux apatitiques où dans certains cas le pH du milieu environnant de l'implant peut atteindre la valeur $pH = 3,7$.

TABLEAU I Composition de la Solution et Valeurs de ΔG pour les Différentes Valeurs de Ra

Ra (mg/mL)	Composition de la solution				ΔG		
	CaII mM	PO_4^{III} mM	pH	Ca/P atomique	DCPD	DCPA	HAP
0,05	0,13	0,13	7,45	1,00	8,10	7,14	-0,61
0,2	0,31	0,46	6,82	0,67	5,41	4,45	-1,23
0,4	0,49	0,78	6,66	0,63	4,18	3,22	-1,89
1	0,76	1,27	6,44	0,60	3,06	2,10	-2,31
2	0,89	2,62	6,19	0,34	2,05	1,09	-2,40
5	1,093	3,05	5,79	0,36	1,93	0,97	-1,55
20	2,58	11,81	5,55	0,22	-0,53	-1,49	-3,02
40	3,4	25,43	5,39	0,13	-1,55	-2,50	-3,41
100	3,64	43,23	5,12	0,08	-1,75	-2,71	-2,86

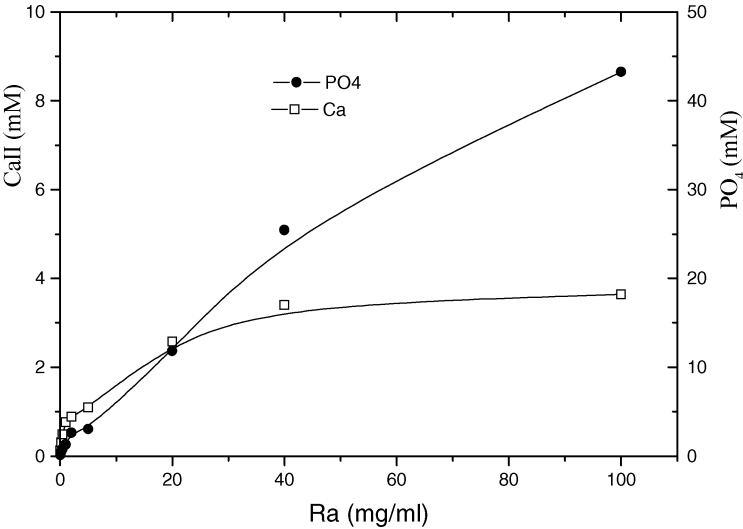


FIGURE 1 Variation de la teneur de la solution en ions calcium et orthophosphate en fonction de Ra (mg/mL).

L'évolution de la sursaturation de la solution (Figure 3), montre que pour toutes les valeurs de Ra, la solution est toujours sursaturée vis-à-vis de l'hydroxyapatite ($\Delta G < 0$). Les sursaturations par rapport aux DCPD et DCPA évoluent de manière similaire en fonction du rapport

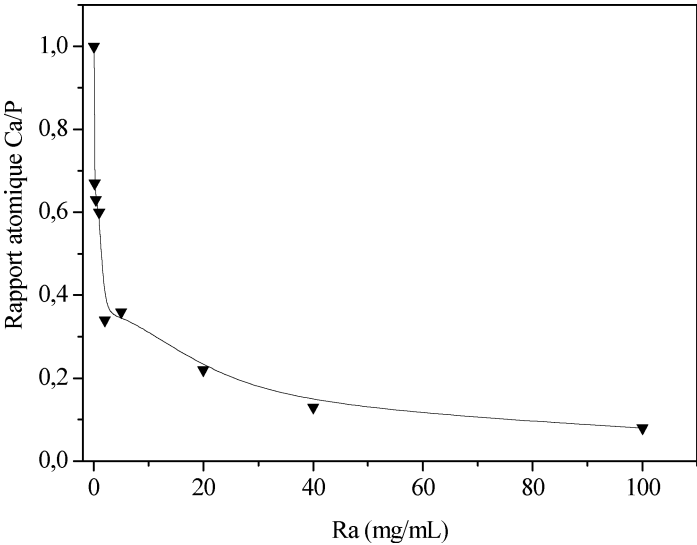


FIGURE 2 Variation du rapport atomique Ca/P de la solution en fonction de Ra(mg/mL).

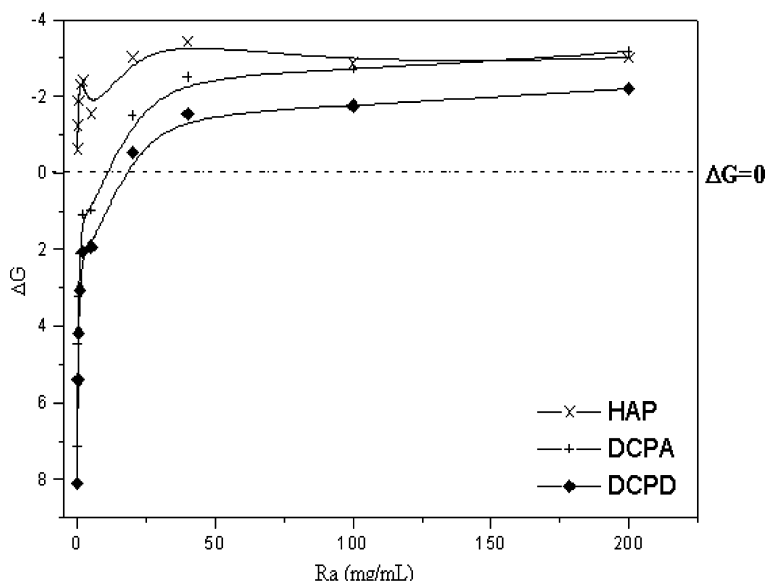


FIGURE 3 Variation de l'enthalpie libre de formation en fonction de Ra (mg/mL).

Ra . Pour $Ra < 20$ (mg/mL), les valeurs de ΔG montrent que la solution est sousaturée par rapport aux DCPA et DCPD. Lorsque Ra prend des valeurs supérieures à 20 mg/mL, la solution devient sursaturée. Signalons aussi que quelle que soit la valeur de Ra , on a :

$$\Delta G (\text{DCPA}) < \Delta G (\text{DCPD}).$$

Etude du Solide

Le solide a été étudié par diffraction des rayons X, par spectroscopie d'absorption infra rouge et par analyse chimique (rapport atomique Ca/P).

Les diagrammes de diffraction des rayons X du solide obtenus après traitement sont reportés sur la Figure 4. On observe que lorsque $Ra \geq 20$ mg/mL, il apparaît une phase supplémentaire autre que la phase apatitique de départ. Cette nouvelle phase peut être indexée par les trois raies de diffraction ($d = 3,35 \text{ \AA}$, $d = 3,37 \text{ \AA}$ et à $d = 2,96 \text{ \AA}$) de la monétite (DCPA). L'intensité de ces trois raies de diffraction croît en fonction du rapport Ra . En effet, le rapport $I_{020(\text{DCPA})}/I_{002(\text{apatite})}$ est une fonction croissante du rapport Ra (mg/mL) (Figure 6). Pour $Ra = 2$ mg/mL, le diagramme de diffraction des Rayons X du solide ne présente

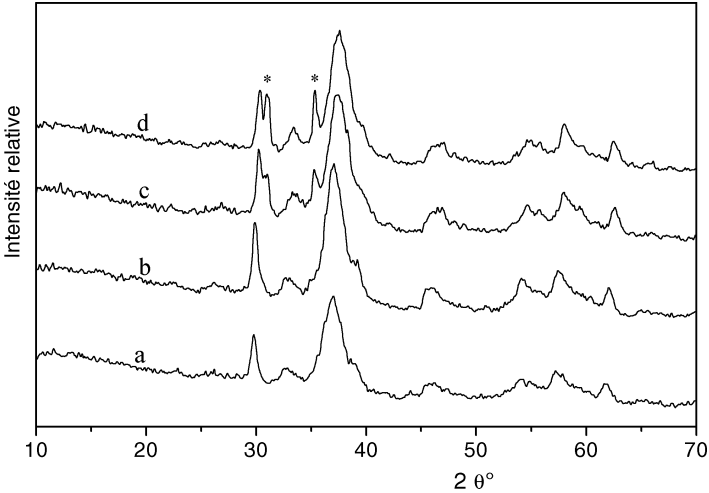


FIGURE 4 Diagrammes de diffraction de rayons X pour l'OCPa fraîchement préparé (a), du solide obtenu après évolution lorsque $R_a = 2 \text{ mg/mL}$ (b), 100 mg/mL (c) et lorsque R_a tendant vers l'infini (d).

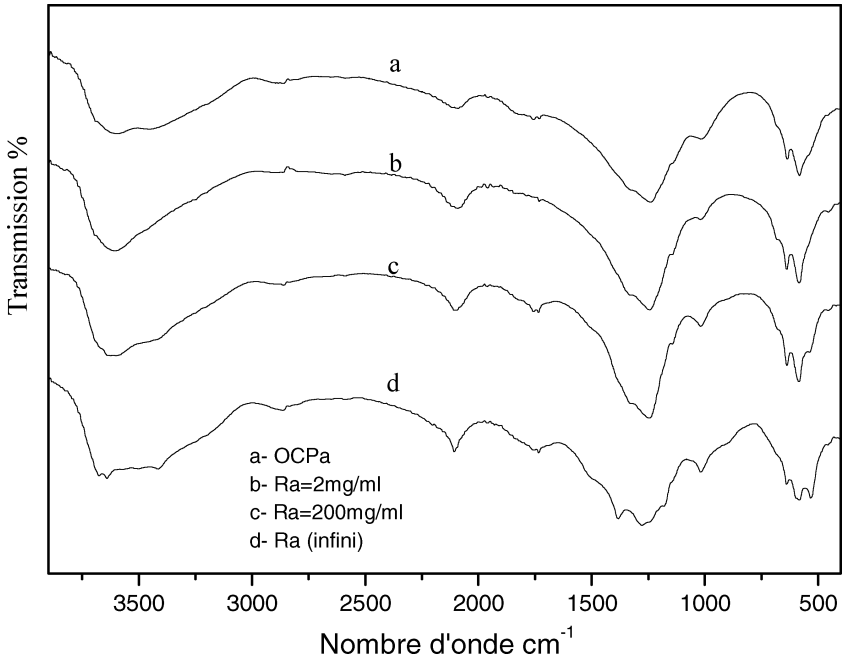


FIGURE 5 Spectres d'absorption infra rouge de l'OCPa fraîchement préparé (a), du solide obtenu après évolution lorsque $R_a = 2 \text{ mg/mL}$ (b), 100 mg/mL (c) et lorsque R_a tendant vers l'infini (d).

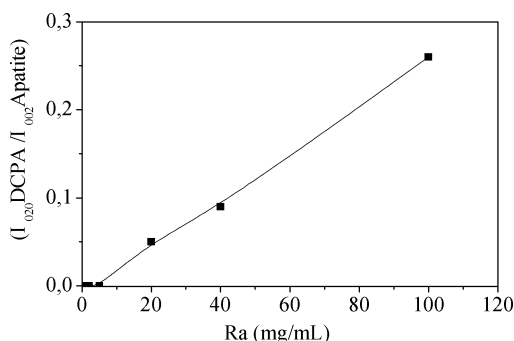


FIGURE 6 Variation du rapport des intensités relatives (I_{020}/I_{002}) en fonction du rapport Ra (mg/mL).

aucune raie de diffraction associée à la monétite, avec une amélioration sensible de l'état de cristallisation de la phase apatitique par rapport au solide de départ.

Les spectres d'absorption infra rouge sont reportés dans la Figure 5. On note que pour des valeurs de $Ra \geq 20$ mg/mL, il apparaît des bandes caractéristiques de la monétite (DCPA) vers 1060 cm^{-1} et 1120 cm^{-1} . D'autres bandes caractéristiques de la DCPA apparaissent vers 1340 cm^{-1} et 1392 cm^{-1} pour des valeurs de Ra infinies.

DISCUSSION ET INTERPRÉTATION

Nous avons suivi l'effet de la variation du degré de sursaturation de la solution sur les transformations que peut subir l'OCPa en solution. Les degrés de sursaturation sont obtenus de façon intrinsèque par la variation du rapport masse du solide (mg) sur le volume de la solution (mL). Les résultats des calculs nous ont permis de déterminer deux domaines. Le premier correspond à un domaine de faibles sursaturations, il est caractérisé par des valeurs de $Ra < 20$ mg/mL. Le second de fortes sursaturations, correspond à des valeurs de $Ra \geq 20$ mg/mL.

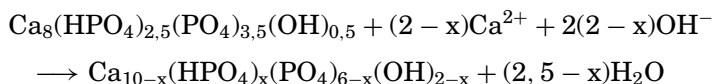
Les résultats montrent que, lorsque Ra est inférieur à 20 mg/mL on obtient un système monophasé constitué d'un phosphate de calcium de structure apatitique dont l'état de cristallisation est meilleur que le phosphate octocalcique apatitique (OCPa) de départ. Quand $Ra \geq 20$ mg/mL, il apparaît du phosphate dicalcique anhydre (DCPA) en plus du phosphate de calcium de structure apatitique. Cette observation est à relier aux transformations que peuvent subir en solution les phosphates de calcium métastables. Ces transformations peuvent être décrites soit par un mécanisme de dissolution reprécipitation, soit par un mécanisme

topotactique. Le premier consiste en une dissolution de la phase la plus soluble suivie de la précipitation d'une phase thermodynamiquement plus stable, et ayant une solubilité inférieure à la première.¹ Le second mécanisme proposé par Brown et al.^{23,25} lors de l'étude des transformations du phosphate octocalcique triclinique en hydroxyapatite, montre comment on obtient une phase à partir d'une autre tout en gardant le motif de base avec un probable échange d'ions avec la solution. On peut déjà concevoir que dans notre cas où les calculs de sursaturation de la solution ainsi que les résultats d'analyses par diffraction des rayons X et spectroscopie d'absorption infra rouge du solide, nous ont permis de délimiter les deux domaines que les mécanismes des transformations ne sont pas nécessairement les mêmes.

On peut alors proposer dans le domaine des faibles sursaturations ($Ra < 20 \text{ mg/mL}$) que l'OCPa évolue vers une apatite thermodynamiquement plus stable selon un mécanisme faisant appel à la dissolution du solide:



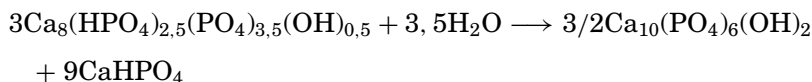
Suivi d'une maturation selon l'équation:



Avec $0 \leq x \leq 2$.

Selon ce mécanisme, il apparaît une apatite phosphocalcique déficiente de rapport atomique Ca/P supérieur à celui de l'OCPa dont la formule est identique à celle proposée par Winand.²⁶

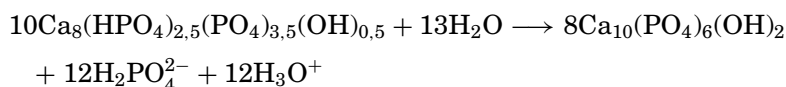
Dans le second domaine caractérisé par des rapports $Ra \geq 20 \text{ mg/mL}$, on obtient un système biphasé: une apatite phosphocalcique déficiente mélangée à de la monétite (DCPA). L'équation suivante peut rendre compte de la décomposition partielle de l'OCPa qui donne naissance à la monétite:



Notons que ce mécanisme qui ne fait pas appel aux ions présents en solution correspond très probablement à un phénomène topotactique qui prend lieu au sein même du solide. Une observation équivalente a été faite par Lassere et coll.²⁷ qui ont proposé un mécanisme en deux étapes lors de l'étude de la décomposition totale de l'OPCa à 80°C en atmosphère humidifiée à 100%. Ces auteurs obtiennent dans une première

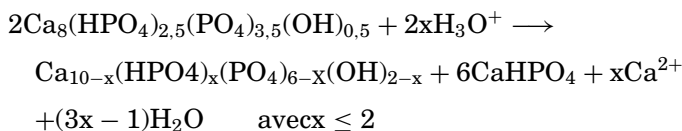
étape un mélange de phosphate tricalcique apatitique et DCPA puis le système évolue pour donner une apatite mélangée avec de la DCPA.

Seulement, dans notre cas, le phénomène topotactique semble prendre plusieurs formes. Ainsi à la réaction générant la DCPA comme produit de la décomposition, s'ajouterait un mécanisme qui doit faire appel à plus de motif de l'OCPa. Ce qui est bien le cas lorsque le rapport Ra prend des valeurs élevées dans le domaine des fortes sursaturations. Le mécanisme que nous proposons en deux étapes doit rendre compte des observations faites aussi bien en solution que dans le solide dans ce domaine. La première étape peut être représentée par l'équation:



Elle peut justifier les valeurs acides du pH observées, et la libération progressive et continue d'ion phosphate en solution en fonction du rapport Ra pour ce domaine.

La deuxième étape est induite par la nature des éléments en solution notamment le caractère acide de cette dernière. Elle est schématisée par l'équation suivante:



Qui donne une apatite déficiente, du DCPA et des ions calcium.

Il apparaît que les mécanismes de transformation de l'OCPa constituent un phénomène très complexe. Il dépend de la nature et des teneurs des espèces chimiques en solution. On peut en déduire que ce phosphate de calcium constituerait un matériau de choix du comblement des déficits osseux: En effet, selon la spécificité physico-chimique et biochimique du site d'implantation, on peut prévoir son devenir en fonction du degré de sursaturation du milieu d'incubation. La nécessité d'une intégration rapide *in vivo* de ce biomatériau phosphocalcique doit faire appel à un milieu de sursaturation élevée ($Ra > 20 \text{ mg/mL}$) afin de garantir une relative forte proportion de DCPA.^{1,2} Cette dernière qui est facilement biodégradable engendre dans un premier temps la formation de nouveau tissu osseux, puis la colonisation de la fraction apatitique restante par les cellules osseuses. Par contre, une intégration prolongée de ce phosphate de calcium doit se faire par la création de conditions physiologiques avec des degrés de sursaturations faibles ($Ra < 20 \text{ mg/mL}$ dans notre cas) où le solide évolue progressivement vers une apatite déficiente.

CONCLUSION

Dans cette étude nous avons montré que l'OCPa qui est une apatite non stœchiométrique de rapport atomique $\text{Ca/P} = 1,33$ présente deux comportements différents lorsqu'il est mis en solution selon la valeur du Rapport "masse du solide (mg) sur volume de la solution (mL)" que nous avons noté Ra (mg/mL). Ainsi lorsque $\text{Ra} 20 < \text{mg/mL}$, le solide évolue vers une apatite mieux cristallisée que l'OCPa, au delà de 20 mg/mL, le solide obtenu est constitué d'apatite et de DCPA. La proportion de cette dernière augmente en fonction de Ra.

Il apparaît que la délimitation des deux domaines, faite sur la base des considérations thermodynamiques, est un facteur à prendre en compte lors de l'utilisation d'implants à base d'apatite phosphocalcique déficiente dans le milieu vivant. En effet, il est connu que les apatites phosphocalciques constituent les principaux matériaux de comblements osseux par excellence.^{28,32} Il convient alors de conclure, qu'une étude préalable du probable comblant apatitique en fonction des caractéristiques du site d'implantation est à prendre en considération afin de prévoir son devenir une fois dans le site défectueux.

Le choix d'une apatite déficiente telle l'OCPa qui pourrait engendrer la formation d'apatite déficiente et de monétite dans différentes proportions s'avère très intéressant. On sait en effet que les phosphates de calcium de rapport atomique Ca/P faible sont relativement assez solubles et que leur biodégradabilité est plus rapide que la formation d'un nouveau tissu osseux.^{33,34} Cette biodégradabilité favoriserait l'ancrage de l'apatite formée dans le milieu vivant.

REFERENCES

- [1] J. C. Elliot, Structure and Chemistry of the Apatite and Other Calcium Orthophosphates, Studies in Inorganic Chemistry, (Elsevier, New York, 1994), vol. 18.
- [2] R. Z. Legeros, Calcium Phosphate in Oral Biology and Medicine (Karger Publishers, London, 1991), p. 15.
- [3] A. Ouadiay and A. Taitai, *Phosphorus, Sulphur, and Silicon*, **178**, 2225 (2003).
- [4] W. E. Brown, *Nature*, **169**, 1048 (1962).
- [5] H. Monna, *J. Mater. Sci.*, **15**, 248 (1980).
- [6] C. Rey, M. Shimizu, B. Collins, and M. J. Glimcher, *Calcif. Tissue Int.*, **46**, 384 (1990).
- [7] C. Rey, *Biomaterials*, **11**, 13 (1990).
- [8] B. Roland, L. V. Isabel, and A. Francesco, *Nephrologie*, **14**, 265 (1993).
- [9] M. J. Glimcher, The Nature of Mineral Component of Bone and the Mechanisme of Calcification, Am. Acad. Orth. Sur. International Course Lectures XXXVI P. P. Griffin Ed., Park Ridge, USA, 49 (1987).
- [10] M. J. Larsen. *Caries Res.*, **25**, 323 (1991).
- [11] E. Zahidi, A. Lebugle, and G. Bonel, *Bul. Soc. Chim. Fr.*, **4**, 523 (1985).
- [12] E. C. Moreno and H. C. Margolis, *J. Dent. Res.*, **67**, 1181 (1988).
- [13] T. Aoba, E. C. Moreno, and S. Shimoda, *Calcif. Tissue Int.*, **51**, 143 (1992).

- [14] A. Ouadiay, Thèse, Faculté des Sciences, Kénitra, Maroc, 1997.
- [15] G. Charlot, *Chimie Analytique Quantitative II* (Masson, Paris, 1974) 6^{ème} édition.
- [16] A. Gee et V. Deitz, *Anal. Chem.*, **25**, 1320 (1953).
- [17] J. Kielland, *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1675 (1937).
- [18] M. S. Tung and W. E. Brown, *Calcif. Tissue Int.*, **35**, 783 (1983).
- [19] H. McDowell, T. M. Gregory, and W. E. Brown, *J. Res. Natn. Bur. Stand.*, **81A**, 273 (1977).
- [20] H. McDowell, W. E. Brown, and J. R. Sutter, *Inorg. Chem.*, **10**, 1638 (1971).
- [21] T. M. Gregory, E. C. Moreno, and W. E. Brown, *J. Res. Natn. Bur. Stand.*, **74A**, 461 (1970).
- [22] S. Amrah-Abouali, C. Rey, A. Lebugle, and D. Bernache, *Biomaterials*, **15**, 269 (1994).
- [23] W. E. Brown, W. Schroeder Leroy, and J. S. Feris, *J. Phys. Chem.*, **83**, 1385 (1979).
- [24] W. E. Brown, M. Mathew, and M. S. Tung, *Prog. Cryst. Growth Charact. Mater.*, **4**, 5987 (1981).
- [25] B. B. Tomazic, M. S. Tung, T. M. Gregory, and W. E. Brown, *Scan Microsc.*, **3**, 119 (1989).
- [26] V. Lasserre and A. Lebugle, *Ann. Chim. Fr.*, **21**, 205 (1996).
- [27] T. Kokubo, H. Kushitani, Y. Abe, and T. Yamamuro, *Bioceramics*, **2**, 235 (1989).
- [28] L. Winand, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **9**, 3173 (1971).
- [29] B. R. Constantz, I. C. Ison, M. T. Fulmer, R. D. Posner, S. T. Smith, M. Vanawagoner, J. B. Jupiter, and D. I. Rosenthal, *Science*, **167**, 1796 (1995).
- [30] X. Deng, J. Hao, and C. Wang, *Biomaterials*, **22**, 2867 (2001).
- [31] B. Flautre, C. Delecourt, and M-C. Blary, *Bone*, **25** supplement 1: 35S (1999).
- [32] M. Ikenaga, P. Hardouin, and J. Lemaitre, *J. Biomed. Mat. Res.*, **40**, 139 (1998).
- [33] A. H. Roufosse, J. Landisn, W. K. Sabine, and M. J. Glimcher, *J. Ultrastructur Res.*, **68**, 235 (1979).
- [34] W. E. Brown, *Clin. Orthop.*, **44**, 205 (1966).