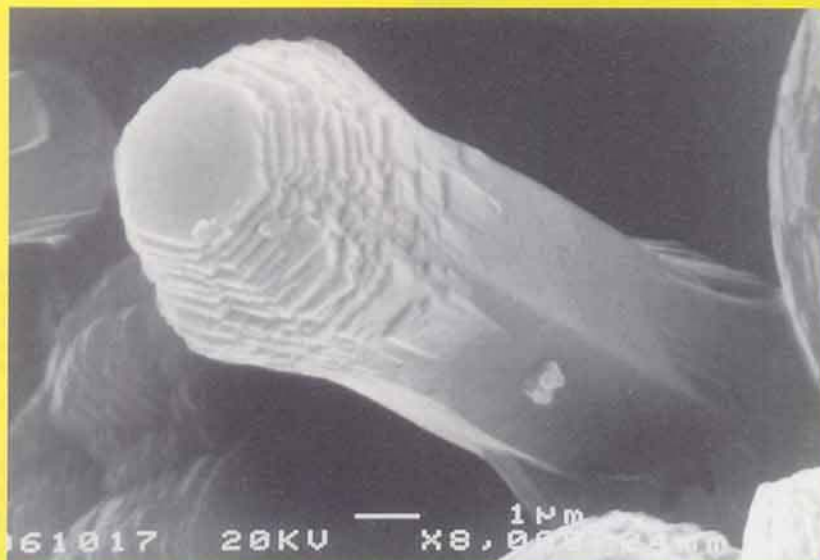
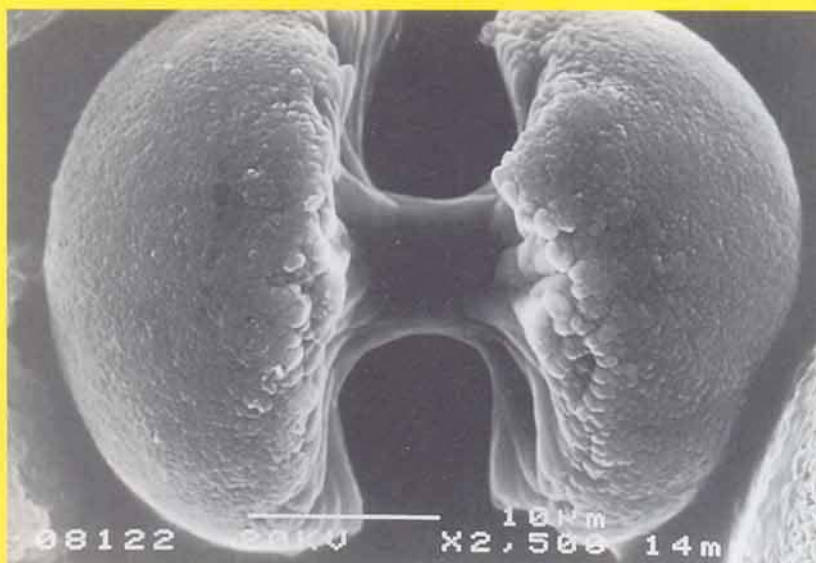
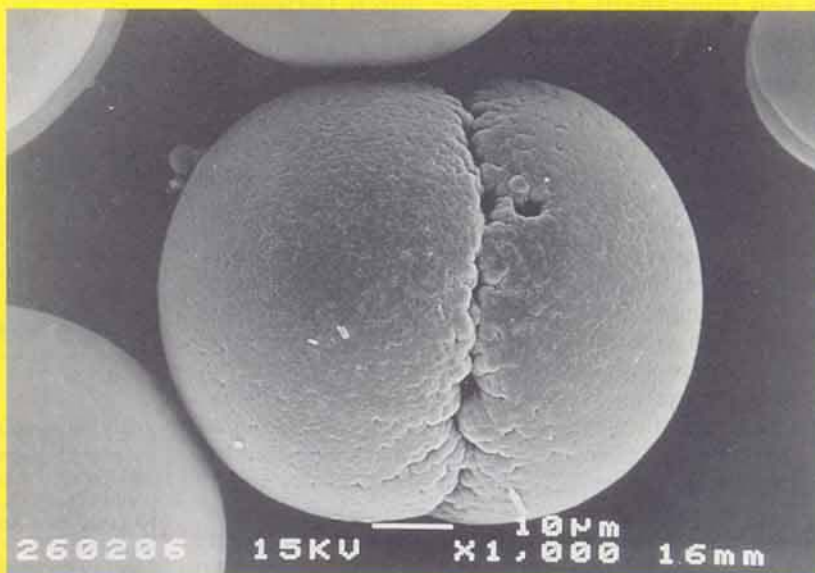


Innerhalb einer Woche wachsen hexagonal-prismatische Keimkristalle (unten links) zu hantelförmigen Aggregaten heran, die sich zu Fluorapatit-Kugeln schließen.



Mehr über die biomimetische Kristallisation von Fluorapatit erfahren Sie von R. Kniep und S. Busch auf den folgenden Seiten.

Biomimetisches Wachstum und Selbstorganisation von Fluorapatit-Aggregaten durch Diffusion in denaturierten Kollagen-Matrizes**

Rüdiger Kniep* und Susanne Busch

Die belebte Natur erzeugt anorganische Festkörper mit faszinierender äußerer Gestalt und optimal angepaßter Funktion. Die Mechanismen zur Bildung dieser biogenen Festkörper beinhalten das Zusammenwirken von organischen und anorganischen Komponenten: Organische Matrizes steuern den Stofftransport, definieren Ort und Anzahl von Keimbildungszentren, bestimmen die Orientierung des (Kristall)-Wachstums und/oder wirken als Schablonen für die endgültige Morphologie der anorganischen Feststoffe.

In Anlehnung an die Prozesse zur Knochen- oder Zahnbildung^[1] haben wir das biomimetische Wachstum von Fluorapatit in Gelatine-Matrizes untersucht. Hierzu wurde eine einfache (statische) Diffusionszelle verwendet, wie sie prinzipiell auch für Festkörperreaktionen bekannt ist^[2] oder mit komplexerem Aufbau bereits in dynamischen Kollagen-Systemen^[3] eingesetzt wurde. Die experimentellen Bedingungen^[4] sind so gewählt,

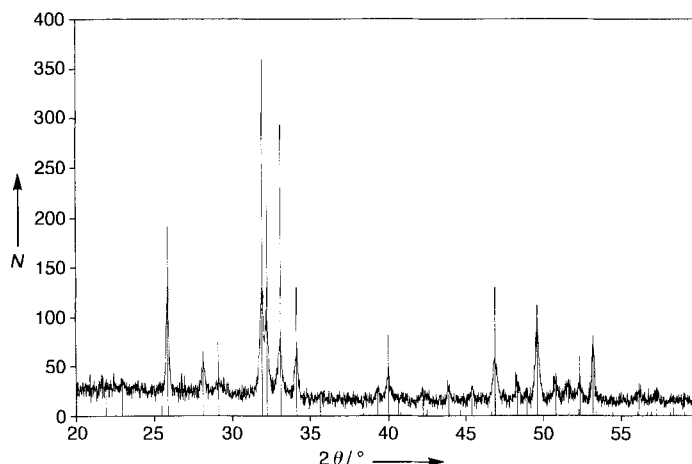


Abb. 1. Röntgenpulverdiagramm ($\text{Cu K}\alpha$ -Strahlung) einer Kugelfraktion sowie berechnetes Diagramm von Fluorapatit ($P6_3/m$; $a = 936.6(3)$, $c = 688.3(3)$ pm)^[8]. Verfeinerte Gitterkonstanten der Kugelfraktion: $a = 937.6(3)$, $c = 688.6(2)$ pm (Hydroxylapatit^[7]: $a = 942.4(4)$, $c = 687.9(4)$ pm). Bemerkenswert sind die für biomimetischen Apatit vergleichsweise scharfen Reflexe der Kugelfraktion, die röntgenographische Einphasigkeit sowie der relativ geringe Untergrund (geringer Anteil an röntgenamorphen Komponenten). N = Zählrate.

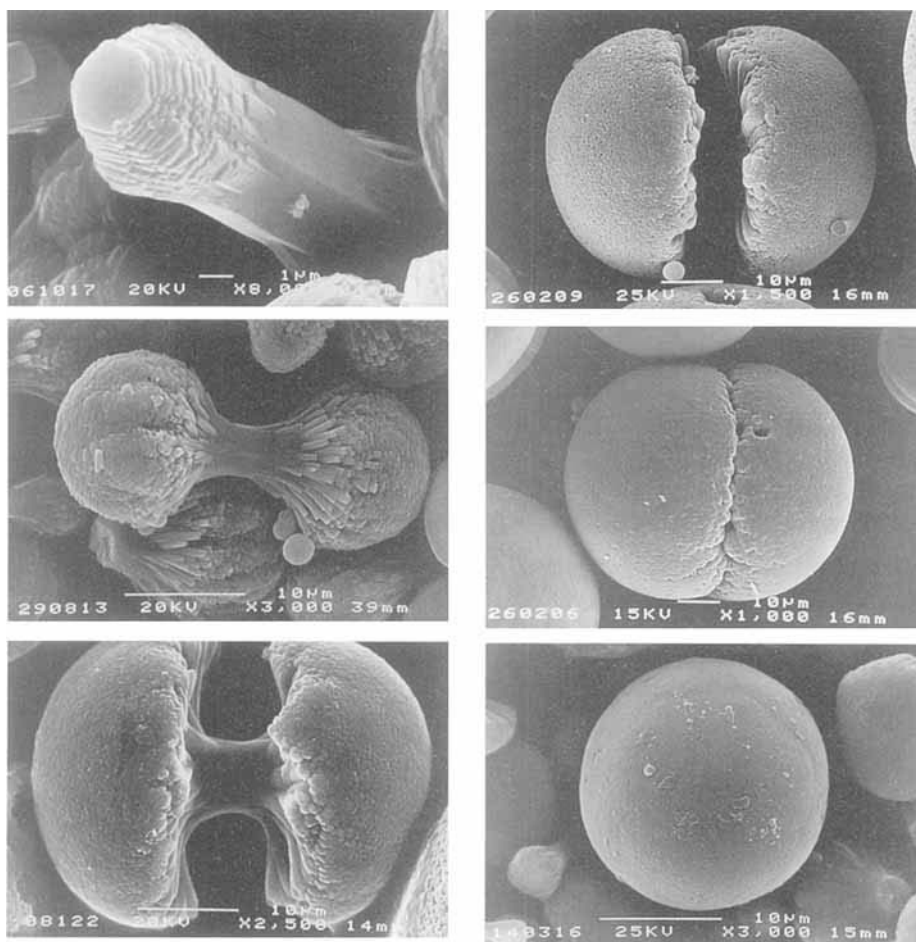


Abb. 2. REM-Aufnahmen fortschreitender Stadien des selbstorganisierten (hierarchischen) Wachstums der Fluorapatit-Aggregate: vom elongierten hexagonal-prismatischen Keim (oben links) über Hanteln zur Kugel (unten rechts).

daß bei konstanter Temperatur (25°C) von getrennten Seiten eine Calcium- und eine Phosphat-/Fluoridlösung in einen Gelatinepfropfen hineindiffundieren (sog. Doppeldiffusionstechnik^[5]). Im Verlauf der Diffusion bilden sich (zeitabhängig) diskrete Kristallisationszonen, die in Analogie zu den klassischen Arbeiten von Liesegang (Liesegang'sche Ringe)^[6] als Liesegang-

[*] Prof. Dr. R. Kniep, Dipl.-Ing. Susanne Busch
Eduard-Zintl-Institut der Technischen Hochschule
Hochschulstraße 10, D-64289 Darmstadt
Telefax: Int. +61 51/166029

[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.

sche Bänder bezeichnet werden. Die zeitliche Entwicklung des Wachstums der Fluorapatit-Aggregate ist im mittleren (phosphatseitigen) Band besonders gut zu verfolgen; in diesem Band werden auch die größten Aggregate erhalten. Röntgenographisch entsprechen die Kristallisationsprodukte in allen Entwicklungsstadien dem Fluor-reichen Randbereich der Mischkristallreihe Hydroxylapatit/Fluorapatit^[7, 8] (Abb. 1).

Obwohl die hier als organische Matrix eingesetzte Gelatine^[4] in ihrer Struktur eher schlecht definiert ist^[9, 10], kommt ihr eine spezifische Funktion bei der Steuerung des Wachstums der Fluorapatit-Aggregate zu. Die Verwendung anderer organischer Matrices (z.B. Polysaccharide, Agar oder Carragenan) führt unter ansonsten gleichen experimentellen Bedingungen^[4] zu grundsätzlich anderen Morphologien der Fluorapatit-Kristallite (unregelmäßige Verwachsungen von gestauchten hexagonalen Prismen oder xenomorphe Präzipitate). Im Falle von Gelatine als organischer Matrix entstehen als Endprodukte „anisotrope“ Kugeln, deren Zentren einen elongierten, hexagonal-prismatischen Keimkristall enthalten.

Die Geschwindigkeit der Diffusion der Lösungen, die Bildung der Liesegangschen Bänder und damit die Wachstumsgeschwindigkeit des Fluorapatits werden bei unveränderter Morphologie der Aggregate entscheidend vom anfänglich eingestellten pH-Wert der Gelatine bestimmt. So werden in einem nicht angesäuerten Gelatinepfropfen (pH = 5.5, Länge = 3 cm) im mittleren (phosphatseitigen) Liesegangschen Band erst nach sechs Wochen Apatit-Kugeln mit Durchmessern von 100 µm beobachtet, bei Einstellung des pH-Werts der Gelatine im Bereich 2.5–3.5 haben sich Apatit-Kugeln mit einem Durchmesser von 100 µm bereits nach zwei Wochen gebildet. Das Wachstum der Fluorapatit-Kugeln beginnt mit elongierten, hexagonal-prismatischen Keimkristallen, die eine kritische Länge von 5–10 µm erreichen. Die fortschreitenden Stadien des selbstorganisierten Wachstums der nadelförmigen Keimkristalle zu kugelförmigen Aggregaten sind in Abbildung 2 gezeigt und entsprechen einer Wachstumsperiode von etwa einer Woche. Zunächst bilden sich an beiden Enden der Keimkristalle simultan und symmetrisch (~ Spiegelsymmetrie senkrecht zur Prismenachse) orientierte Aufwachsungen auf den Prismenflächen, so daß hantelförmige Aggregate entstehen. Die Orientierung der Aufwachsungen deutet kaum auf das Vorliegen streng kristallographischer Beziehungen (gesetzmäßige Verwachsungen); definiert erscheint allerdings der maximale Öffnungswinkel der aufwachsenden Kristalle von etwa 45° (maximaler Winkel zwischen den Prismenachsen der aufwachsenden Kristalle und der Prismenachse des Keimkristalls). Durch weitere, nach Prinzipien der Selbstähnlichkeit^[11] aufwachsende Generationen werden die Hantelbereiche vergrößert, der „Steg“ (Keimkristall) bleibt zunächst jedoch sichtbar. Dieser Zustand läßt sich – wie in Abbildung 3 gezeigt – mit sehr guter Übereinstimmung zur Realität vereinfacht zweidimensional simulieren^[12]: Ausgehend von einem nadelförmigen Keimkristall wachsen an beiden Enden in erster Generation ebenfalls nadelförmige Kristalle mit einem maximalen Öffnungswinkel von 45° zur Längsachse des Keimkristalls. Die Länge der Kristalle jeder neuen Generation ist um den Faktor 0.68 (abgeschätzter Mittelwert aus rasterelektronenmikroskopischen (REM)-Aufnahmen; Fehler etwa $\pm 10\%$) im Vergleich zur vorhergehenden Generation verkürzt. Jedes „neue“ Ende einer Kristallgeneration führt zu selbstähnlicher Vervielfachung. Das in Abbildung 3 dargestellte Ergebnis zeigt die Simulation von fünf an beiden Enden des Keimkristalls selbstähnlich nacheinander aufwachsenden Kristallgenerationen. Die Tatsache, daß sich die Kristalle bei der Simulation durchdringen, ist sicher nicht real, hat aber keinen entscheidenden Einfluß auf die Morphologie des Aggregats. Wichtig ist vielmehr, daß

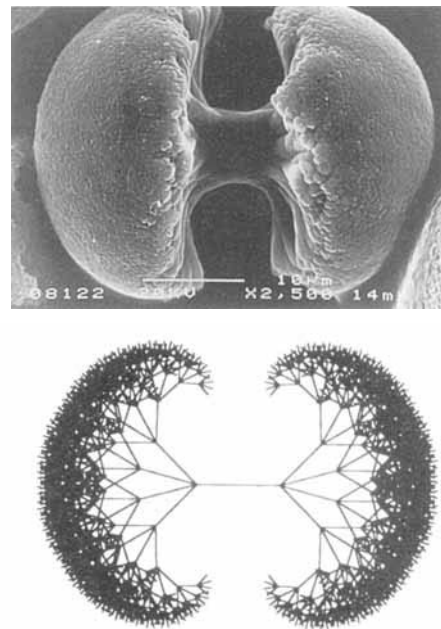


Abb. 3. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines hantelförmigen Fluorapatit-Aggregats (oben). Zweidimensionale Simulation [12] selbstähnlicher Verzweigungen in fünf aufeinanderfolgenden Generationen (unten). Die bei der Simulation gezeigte Verzweigung (Aufspaltung) in nur jeweils vier Kristalle einer neuen Generation (mit Winkeln von 30° untereinander) entspricht einer reduzierten Darstellung. Tatsächlich sind die Verzweigungsanordnungen höher (siehe auch Abb. 2) und zunächst lediglich durch den maximalen Öffnungswinkel von etwa $\pm 45^\circ$ zur Längsachse des jeweils vorausgehenden Keimkristalls begrenzt. Zum Generations-Verkürzungsfaktor: siehe Text.

der Steg der Hantel (Keimkristall) in diesem Wachstums- und Simulationszustand übereinstimmend sichtbar bleibt, daß die Oberflächenkrümmung der Hantel in Richtung auf den Keimkristall bereits auf „Schließen“ des Aggregats deutet, und daß der Ausdehnungszuwachs des Aggregats von beiden Enden des Keimkristalls ausgehend übereinstimmend etwa dem Faktor zwei (bezogen auf die Länge des Keimkristalls) entspricht. Die weitere Entwicklungsgeschichte der Aggregate – von der Hantel zur Kugel – ist wieder aus Abbildung 2 zu ersehen. Abbildung 4 zeigt die REM-Aufnahme einer gerade geschlossenen (eingeschnürten) Kugeloberfläche. Danach sind auch die Kristalle dieser letzten Generation nadelförmig. Ihr Prismendurchmesser beträgt nur etwa 0.05 µm und deutet damit auf eine sehr große Oberfläche der geschlossenen Aggregate.

In der Gelatinematrix gebildete (eingeschnürte) Kugeln sind in der Lage, radialschalig weiterzuwachsen und nahezu perfekte Kugeln zu bilden. Dies ist ein zweiter (wahrscheinlich eher konventionell sphärolithischer) Wachstumsmechanismus, auf den

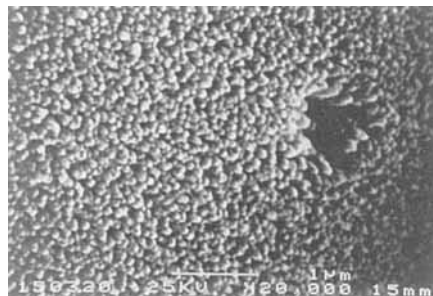


Abb. 4. REM-Aufnahme der Oberfläche eines gerade geschlossenen Kugelaggregats. Nach den im Text und in Abbildung 3 beschriebenen selbstähnlichen Verzweigungsmustern [12] schließen sich die Hantelaggregate mit der zehnten aufgewachsenen Generation zu eingeschnürten Kugeln.

hier nicht näher eingegangen werden soll. Nach etwa vier Wochen werden Kugeldurchmesser bis zu 400 μm beobachtet. Der in erster Linie limitierende Faktor beim Wachstum der Kugeln ist nach unseren Beobachtungen zunächst die Gelatinematrix, da ihre Stabilität unter den gegebenen experimentellen Bedingungen auf ca. sechs Wochen begrenzt ist.

Das selbstorganisierte hierarchische Wachstum der Fluorapatit-Aggregate zeigt unmittelbare Parallelen zu den topologischen Verzweigungskriterien der makromolekularen Starburst-Dendrimere^[13]. Die Dimensionalität – und damit die Informationsübertragung – erstreckt sich bei den hier beschriebenen Aggregaten jedoch bis in den makroskopischen Bereich.

Ihrem mikrokristallinen Aufbau entsprechend sind die kugelförmigen Aggregate opaleszierend. In Abbildung 5 ist eine Kugelfraktion mit Kugeldurchmessern bis zu 300 μm gezeigt. Auf

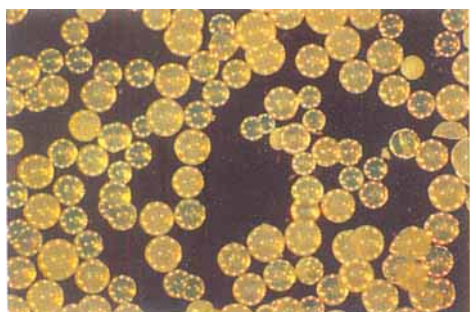


Abb. 5. Lichtmikroskopische Aufnahme einer Fluorapatit-Kugelfraktion. Lange Kante der Abbildung $\approx 4\text{ mm}$.

ebener Unterlage orientieren sich die Kugeln bevorzugt zu kettenförmigen Anordnungen (elektrostatische Wechselwirkungen) und können mit einer Nadelspitze als „Perlenkette“ angehoben werden. Thermoanalytische Untersuchungen (Thermogravimetrie (TG)/Differenzthermoanalyse (DTA)) an bei Raumtemperatur getrockneten Kugelaggregaten wurden bis zu einer Maximaltemperatur von 1000 °C^[14] durchgeführt (Heizgeschwindigkeit: 4 °C min⁻¹; Atmosphäre: Luft). Das Röntgenpulverdiagramm der Probe nach Temperaturbehandlung ist – abgesehen von schärferen Reflexprofilen – identisch mit dem in Abbildung 1 gezeigten Diagramm (verfeinerte Gitterkonstanten: $a = 937.4(1)\text{ pm}$, $c = 688.7(1)\text{ pm}$). Der Gewichtsverlust (gesamt etwa 6.5%) erfolgt zweistufig: Stufe 1 (80–200 °C) 1.5 Gew.-% und Stufe 2 (200–860 °C) 5 Gew.-%. In Übereinstimmung mit DTA-Untersuchungen an menschlichem Dentin^[15] ist die zweite Stufe mit exothermer Wärmetönung verbunden (Pyrolyse der Proteinfasern).

Das bei gekreuzten Polarisatoren im Lichtmikroskop mit Blickrichtung entlang der optischen Achse des hexagonalen Zentralkeims zu beobachtende Interferenzbild eines gerade geschlossenen Fluorapatit-Aggregats mit einem Durchmesser von 125 μm ist in Abbildung 6 gezeigt. Im Zentrum ist der hexagonale Querschnitt des Keimkristalls zu erkennen, der im Verlauf des Wachstums des Kugelaggregats seinen Durchmesser etwa verdoppelt. Das Interferenzbild des Gesamtaggregate wird bestimmt durch das „Brewstersche Polarisationskreuz“ und die Polarisationsfarben innerhalb der Kreuzsegmente (Zunahme der Schichtdicke vom Rand zur Mitte der Kugeln sowie variable Neigung der optischen Achsen der einzelnen Kristallite gegen das einfallende polarisierte Licht).

Abschließend noch ein Wort zu möglichen Deutungen des beschriebenen Wachstumsphänomens, obwohl genauere Untersuchungen hierzu fehlen oder noch nicht abgeschlossen

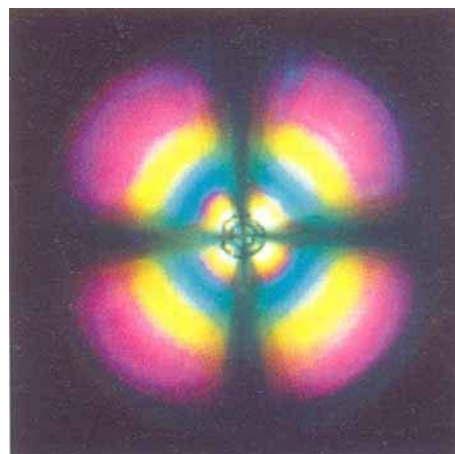


Abb. 6. Polarisationsmikroskopisches Bild (gekreuzte Polarisatoren) eines gerade geschlossenen Fluorapatit-Aggregats (Durchmesser: 125 μm). Blickrichtung entlang des hexagonal-prismatischen Keims.

sind^[12, 16, 17]. Grundsätzlich liegen zwei Möglichkeiten nahe, die allein oder gemeinsam für die selbstorganisierte Steuerung des Aggregat-Wachstums verantwortlich sein können:

1) Die Aggregate entsprechen organisierten Komposit-Systemen, in denen das Generationenwachstum von einem epitaktisch miteinander verknüpften Kollektiv aus Fluorapatit und organischer Komponente gesteuert wird.

2) Die einzelnen Kristallite oder Komposit-Einheiten beinhalten einen permanenten Dipol, so daß intrinsische elektrische Feldlinien die Steuerung des Wachstums der Aggregate übernehmen. Die Polarität von Kollagen, das piezoelektrische Verhalten von calcifiziertem Knochengewebe^[18] sowie die strukturelle Eigenheit der Apatit-Familie, zwischen zentrosymmetrischer und azentrischer Verteilung der X-Spezies ($X = \text{F, Cl, OH}$) zu schwanken (siehe z.B. ^[19]) legen diesen Gedanken nahe, berücksichtigt man zudem die besonders milden biomimetischen Wachstumsbedingungen, die eine hohe Ordnung der atomaren Bausteine begünstigen sollten. Partieller Austausch von F^- gegen OH^- bedingt dabei eine asymmetrische Auslenkung beider Spezies von ihren Normalpositionen^[20].

Insgesamt öffnet sich hier ein weites, interdisziplinäres Forschungsgebiet, das von der Chemie über die Physik und Materialwissenschaft bis zur Medizin reicht.

Eingegangen am 29. April 1996 [Z 9077]

Stichworte: Apatit • Biomineralisation • Festkörperchemie • Fluorverbindungen • Gelatine

[1] L. T. Kuhn, D. J. Fink, A. H. Heuer in *Biomimetic Materials Chemistry* (Hrsg: S. Mann), VCH Publishers, New York, 1996.

[2] H. Schmalzried, T. Frick, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* 1995, 99, 914.

[3] A. L. Boskey, *J. Phys. Chem.* 1989, 93, 1628.

[4] Experimentelles: 5.5 g Schweineschwarte-Gelatine (300 Bloom; Aldrich) werden mit 50 mL Wasser versetzt, mit Glutaminsäure oder 2 N HCl auf den pH-Bereich 2.5–3.5 eingestellt und anschließend unter Rühren einige Minuten auf dem Wasserbad erhitzt. Das einseitig verschlossene Zentralrohr (Länge: 3 cm; Durchmesser: 2.5 cm) der Diffusionszelle wird mit der heißen Gelatine gefüllt und zur Gelierung 24 h bei Raumtemperatur in vertikaler Stellung belassen. Nach Ansetzen der L-förmigen Schenkel (vertikal: 18 cm; horizontal: 6 cm; Normschliffe) an das zentrale Gelatine-Rohr werden die Schenkel mit den wäßrigen Lösungen (0.133 M CaCl_2 bzw. 0.08 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4/0.027\text{ M}$ KF) befüllt und mit Normschliff-Stopfen verschlossen. Beide Lösungen wurden zuvor mit α - α -Tris(hydroxymethyl)methylamin/HCl auf den physiologischen pH-Wert von 7.4 eingestellt. Die Diffusionsexperimente wurden bei 25 °C (Thermostat) durchgeführt. Nach Beendigung der Versuche wurden die Gelatinepfropfen aus dem Zentralrohr herausgedrückt und entsprechend der

Liesegang'sche Bänder in einzelne Fraktionen zerschnitten. Zur Aufarbeitung der Fraktionen und Isolierung der Feststoffe wurde mehrfach mit heißem Wasser gewaschen und zentrifugiert.

- [5] K. T. Wilke, J. Bohm, *Kristallzüchtung*, Harri Deutsch, Frankfurt/Main, 1988.
- [6] R. E. Liesegang, *Z. Phys. Chem.* **1914**, 88, 1.
- [7] K. Sudarsanan, R. A. Young, *Acta Crystallogr. Sect. B* **1978**, 34, 1401.
- [8] P. E. Mackie, R. A. Young, *J. Appl. Crystallogr.* **1973**, 6, 26.
- [9] *The Science and Technology of Gelatin* (Hrsg.: A. G. Ward, A. Courts), Academic Press, London, 1977.
- [10] W. Babel, *Chem. Unserer Zeit* **1996**, 30, 86.
- [11] B. B. Mandelbrot, *Die fraktale Geometrie der Natur*, Birkhäuser, Basel, 1991.
- [12] „Selbstähnliche Verzweigungen und Simulation von elektrischen Feldlinien im Bereich selbstorganisierter polarer Aggregate“: H. Dolhaine, unveröffentlicht.
- [13] D. A. Tomalia, A. M. Naylor, W. A. Goddard, *Angew. Chem.* **1990**, 102, 119; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1990**, 29, 138.
- [14] Freisetzung des Konstitutionswassers aus Hydroxylapatit ab 1250 °C: P. W. Arnold, *Trans. Faraday Soc.* **1950**, 46, 1061.
- [15] M. Okazaki, J. Takahashi, H. Kimura, *J. Osaka Univ. Dent. Sch.* **1989**, 29, 1989.
- [16] „Kristallfeldberechnungen an Apatiten“: J. Brickmann, S. Hauptmann, unveröffentlicht.
- [17] „Messung von permanenten Dipolen an kleinen Aggregaten“: F. Laeri, unveröffentlicht.
- [18] S. Mann in *Inorganic Materials* (Hrsg.: D. W. Bruce, D. O'Hare) Wiley, Chichester, 1992.
- [19] M. Bauer, W. E. Klee, *Z. Kristallogr.* **1993**, 206, 15.
- [20] M. Braun, C. Jana, *Chem. Phys. Lett.* **1995**, 245, 19.

Flüssigkristalline, substituierte Octakis(dimethylsiloxy)octasilsesquioxane: oligomere, supra-molekulare Materialien mit definierter Topologie

Georg H. Mehl* und John W. Goodby

Oligomere, flüssigkristalline Materialien bilden eine eigene Klasse supramolekularer Mesogene, die sich in den letzten Jahren zu interessanten Forschungsobjekten entwickelt haben. Sie besitzen einerseits Eigenschaften von Flüssigkristallen mit niedriger Molmasse, wie geringe Viskosität und schnelle Schaltzeiten beim Anlegen äußerer Felder, andererseits weisen sie Eigenschaften von Polymeren auf, z. B. mechanische Stabilität und Widerstandsfähigkeit. Die physikalischen Eigenschaften oligomerer Flüssigkristalle hängen jedoch stark vom Polymerisations- und Dispersionsgrad ab. Daher richtet sich das Interesse nun verstärkt auf wohldefinierte, diskrete molekulare Systeme wie Dimere, Trimere, Tetramere bis hin zu Dendrimern.

Bisher beschränkten sich die Möglichkeiten zur Synthese oligomerer Flüssigkristalle mit einer bestimmten Topologie, Konfiguration und Konformation hauptsächlich auf die Verwendung von kleinen cyclischen oder tetraedrischen Molekülen als Zentraleinheit^[1–5]. Ein kubisches Silsesquioxan als Zentraleinheit in einem Mesogen zu verwenden (Abb. 1) könnte einen Zugang zu oligomeren Flüssigkristallen mit definierter Struktur eröffnen. Diese Zentraleinheit kann folglich als grundlegender Baustein eingesetzt werden, um interessante Klassen von monodispersen Materialien mit festgelegter Topologie herzustellen, die im wesentlichen aus Supermolekülen bestehen und strukturell zwischen Dimeren, Trimeren und komplexen Dendrimern einzuordnen sind^[6].

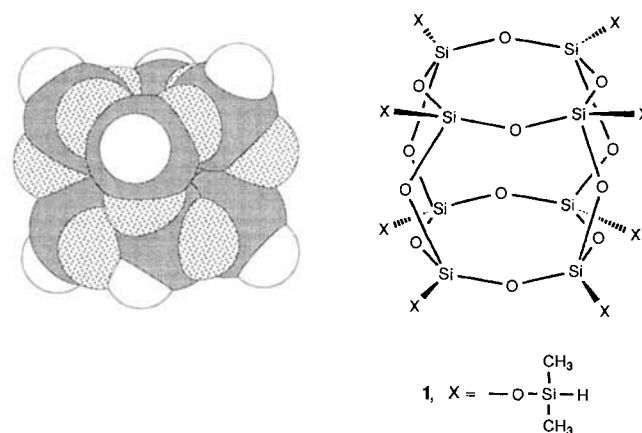


Abb. 1. Kalottenmodell (links) der energetisch günstigsten Konformation (bei 0 K in der Gasphase) der kubischen Zentraleinheit (X=H) des Octasilsesquioxans 1.

Reihen würfelförmiger Flüssigkristalle lassen sich günstigerweise durch eine konvergente Methode synthetisieren, bei der ein achtfach substituiertes Derivat des zentralen Molekülbausteins mit einer geeigneten olefinischen, mesogenen Einheit verbunden wird. Die achtfach substituierte Zentraleinheit 1 (Abb. 1) wurde durch Reaktion von Tetramethylammoniumsili-cat mit Dimethylchlorsilan erhalten^[7 a–c]. 4'-ω-Alkenyl-4-cyanbiphenyle wurden nach bekannten Methoden dargestellt und als mesogene Einheiten für die Synthese der kubischen Oligomere verwendet (Abb. 2)^[5].

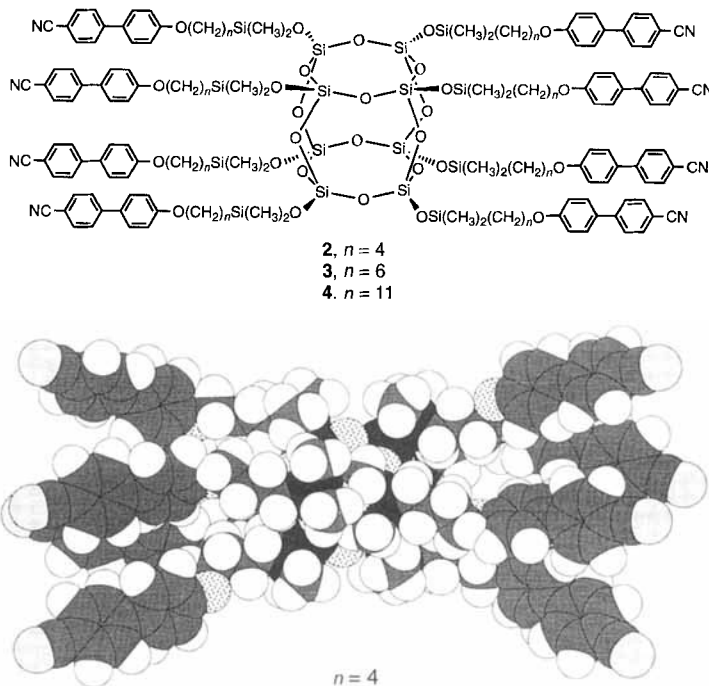


Abb. 2. Strukturen der flüssigkristallinen Materialien 2–4; das Kalottenmodell der Verbindung 2 soll die Ausrichtung der mesogenen Seitenketten verdeutlichen.

[*] Dr. G. H. Mehl, Prof. J. W. Goodby
School of Chemistry
University of Hull, GB-Hull HU6 7RX (Großbritannien)
Telefax: Int. +1482/466410

[**] Diese Arbeit wurde vom Engineering and Physical Sciences Research Council (EPSRC) und von der Defence Research Agency (DRA) (Malvern) gefördert. Dr. I. M. Saez danken wir für die hilfreichen Diskussionen über metallorganische Verbindungen und Dr. D. Ewing B. Worthington für die spektroskopischen Analysen.

Bei ersten Kupplungsversuchen zwischen dem zentralen Molekülbaustein und den mesogenen Seitenketten unter Verwendung von Dicyclopentadienylplatin und Speiers Katalysator (H_2PtCl_6) als Katalysatoren wurden die H-Atome der peripheren Si-H-Gruppen der Zentraleinheit nur unvollständig ersetzt. Die persubstituierten Endprodukte konnten jedoch durch Hydrosylierungen bei Raumtemperatur mit Toluol als Lösungsmit-