

Un cas d'interprétation difficile:

La nature du sel principal de l'os étudiée par la diffraction des rayons X

Par M. J. DALLEMAGNE et H. BRASSEUR¹

La méthode de détermination des structures moléculaires par la diffraction des rayons X constitue certes pour le spécialiste une source de renseignements objectifs, mais les résultats qu'elle fournit peuvent être d'interprétation difficile, surtout quand on l'applique à la résolution de problèmes d'ordre biologique. Le cas s'est présenté lors de la détermination de la nature du composé phospho-calcique présent parmi les sels de l'os.

Depuis 1926, la fraction minérale de l'os a été maintes et maintes fois soumise à la diffraction des rayons X. Il nous est impossible de rappeler ici tous les travaux qui ont été consacrés à cette question. Rarement, vu le nombre de recherches entreprises, on a vu une parfaite homogénéité dans les conclusions; à la quasi-unanimité des expérimentateurs, le radiogramme fourni par les sels osseux (radiogramme 7) a été interprété comme la preuve indiscutable qu'il s'agit d'une structure moléculaire d'apatite; cette famille minéralogique est composée de sels complexes résultant de la combinaison de 3 molécules de phosphate tricalcique, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, avec une molécule de chlorure, de fluorure, d'hydroxyde ou de carbonate de calcium (radiogramme 2). Cependant, un désaccord existait en ce qui concerne la nature de l'apatite en question; à cause de l'isomorphisme des divers minéraux de ce type, il paraissait impossible de trancher la question de savoir si la carbonato-apatite ou l'hydroxylapatite était en jeu².

Le problème semblait donc difficile à résoudre de façon définitive, mais deux points étaient acquis: 1^o le radiogramme des sels osseux accuse la même disposition des raies que les minéraux du groupe de l'apatite; 2^o ces raies sont diffuses, ce qui indique que les sels osseux sont groupés en particules cristallines beaucoup plus petites que ne le sont les apatites naturelles.

A première vue, l'attribution aux sels osseux d'une nature de carbonato-apatite semblait la plus plausible, puisque les rapports atomiques $\text{Ca}:\text{PO}_4:\text{CO}_3$ révélés par l'analyse chimique de l'os étaient très voisins de ceux de la carbonato-apatite naturelle³. Cependant,

cette conception ne paraît pas soutenable parce que le CO_2 est fixé beaucoup plus solidement au minéral qu'aux sels osseux; plus précisément, la courbe d'extraction du CO_2 osseux par la chaleur se superpose à celle du CO_2 du carbonate calcique¹. De plus, il est possible de dissocier le phosphate du carbonate présent dans l'os grâce à la différence de solubilité des deux sels dans les acides; cette séparation, réalisable quand il s'agit d'un mélange, est impossible à opérer dans le cas d'une combinaison comme la carbonato-apatite². Ajoutons encore que les études physio-pathologiques et physiologiques du squelette accumulaient des preuves en faveur de l'indépendance du carbonate et du phosphate osseux³. De là s'est développée l'hypothèse suivant laquelle les sels osseux sont constitués d'un agrégat purement physique d'hydroxylapatite et de carbonate calcique⁴. Cependant, quand partant des résultats de l'analyse chimique de l'os on essaye de reconstituer sous cette forme l'édifice moléculaire entier, on trouve un déficit de cations impossible à combler par le magnésium, le sodium et le potassium présents dans la trame organique du squelette⁵.

Une troisième hypothèse, celle qui voulait que le constituant principal des sels osseux fût représenté par le phosphate tricalcique⁶, reçut alors des arguments qui vinrent renforcer singulièrement sa position.

L'indice de réfraction des sels osseux correspond exactement à celui de préparations commerciales pures (1,590, déterminé par la méthode de la frange de BECKE en lumière monochromatique de longueur d'onde = 599,1 Å) accusant les caractères chimiques du phosphate tricalcique; il est égal aussi à celui du précipité phospho-calcique obtenu en milieu aqueux quand 3 moles de chaux viennent au contact de 2 moles d'acide phosphorique et présentant à l'analyse chimique le rapport Ca/P caractéristique du phosphate tricalcique.

¹ M. J. DALLEMAGNE, *Acta biol. Belg.* 1, 374 (1941).

² M. J. DALLEMAGNE, *Acta biol. Belg.* 2, 298 (1942).

³ J. MAREK, O. WELLMANN et L. URBANYI, *Z. physiol. Chem.* 226, 3 (1934).

⁴ R. KLEMENT, *Z. physiol. Chem.* 196, 140 (1931).

⁵ M. J. DALLEMAGNE, *La nature chimique de la substance minérale osseuse*. Thèse d'agrégation de l'Enseignement supérieur; 1 vol. Edit. Gordinne. Liège 1943.

⁶ G. L. CLARK, C. S. BUCHER et O. LORENZ, *Radiology* 17, 482 (1931).

¹ Université de Liège, Laboratoires de biochimie et d'applications des rayons X.

² Les données bibliographiques relatives à cette question sont rassemblées dans l'article suivant: M. J. DALLEMAGNE et H. BRASSEUR, *Bull. Soc. Sci. Liège*, 11, 451 et 488 (1942).

³ F. HOPPE, *Arch. path. Anat. Physiol.* 24, 13 (1862).

En lavant les sels osseux au moyen de quantités d'acide susceptibles de décomposer le carbonate, on obtient un résidu solide présentant les caractères chimiques du phosphate tricalcique et l'indice de réfraction de celui-ci¹.

Si la fraction minérale de l'os est calcinée à 900° C dans une atmosphère de CO₂, son indice de réfraction s'élève fortement et atteint celui de la carbonato-apatite naturelle (1,640). Des auteurs avaient déjà constaté que la calcination rend plus fines les raies du radiogramme de l'os (radiogramme 3); ils interprétaient ce fait en considérant que les remaniements de la masse sous l'effet de la chaleur provoquent une augmentation du volume des cristallites². L'élévation de l'indice de réfraction de 1,590 à 1,640 semblait indiquer cependant une modification structurale plus profonde.

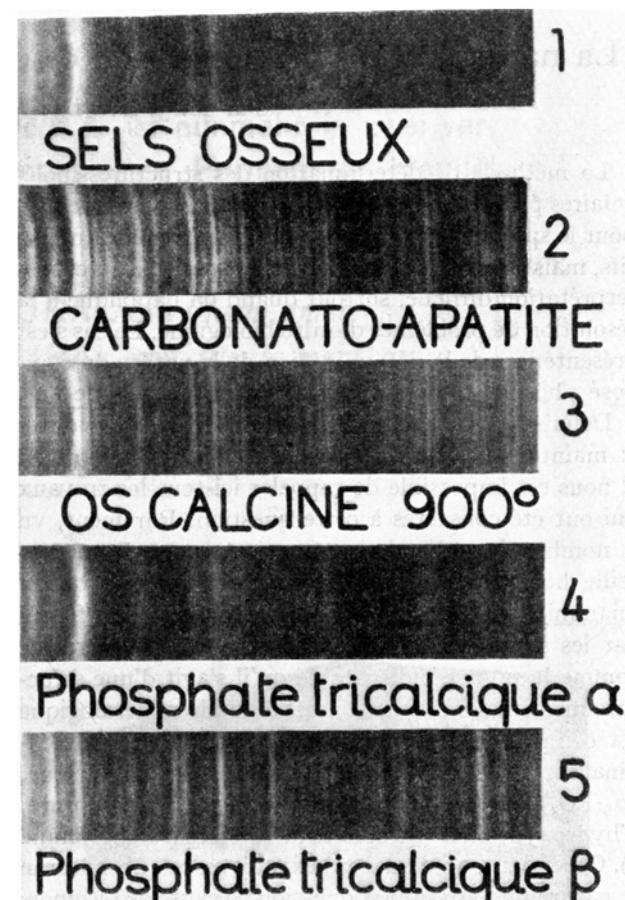
Après la calcination dans le CO₂ à la pression d'une atmosphère, il devient aussi difficile d'extraire le CO₂ des sels osseux que de la carbonato-apatite naturelle et la séparation des deux fractions, phosphate et carbonate, s'avère désormais impossible par voie chimique³.

Cet ensemble d'observations fit naître l'hypothèse selon laquelle la calcination transforme le mélange purement physique de phosphate et de carbonate de l'os en une apatite vraie. Cela cadre d'ailleurs parfaitement avec la transformation du radiogramme sous l'influence de la calcination: celle-ci rend absolument semblable le radiogramme des sels osseux et celui de la carbonato-apatite.

Mais, si la calcination transforme le sel de l'os en carbonato-apatite, la fraction de celui-ci renfermant le phosphore ne peut présenter les caractères de l'hydroxylapatite et doit correspondre au phosphate tertiaire. Ceci, d'autre part, semblait inadmissible, étant donné qu'une molécule de formule Ca₃(PO₄)₂ ne pouvait, à priori, diffracter les rayons X comme la carbonato-apatite accusant la structure [Ca₃(PO₄)₂]₃ · CaCO₃. Ce point restait donc à élucider.

L'analyse chimique rigoureuse du phosphate tricalcique a montré que la formule qui lui était attribuée ne correspondait pas toujours à la réalité: il précipite en milieu aqueux sous une forme hydraté (forme α), deux molécules d'eau étant combinées à trois molécules de phosphate, soit [Ca₃(PO₄)₂]₃ · H₂(OH)₂. La comparaison de cette formule avec celle de l'apatite montre l'isomorphisme des deux sels. Le radiogramme 4 correspondant au phosphate tricalcique α appuie cette conception; entre ce dernier sel et l'apatite, il n'y a pas de différence de structure moléculaire, mais il y a une différence de volume des cristallites élémentaires. Calciné au dessus de 700° C, le phosphate tricalcique α libère son eau de combinaison, acquiert la com-

position Ca₃(PO₄)₂ et fournit aux rayons X un radiogramme tout à fait différent (radiogramme 5); il s'agit du phosphate tricalcique β . Si l'on calcine le phosphate tricalcique α à 900° C après l'avoir mélangé intimement avec du carbonate calcique (une mole de chacun des deux sels), la chaleur ne fait plus passer le phosphate



Radiogrammes (méthode de DEBYE et SCHERRER) des sels osseux, de la carbonato-apatite naturelle et de deux formes du phosphate tricalcique.

de la forme α à la forme β : cette fois, les raies demeurent à la même place, mais elles deviennent plus fines (radiogramme semblable aux spectres 2 ou 3). Sous l'influence de la chaleur, le phosphate tricalcique α perd son eau de combinaison et s'associe chimiquement au carbonate qu'il avait adsorbé; les raies du radiogramme deviennent plus fines, parce que les molécules d'apatite qui prennent naissance à 900° C sont groupées en particules cristallines plus volumineuses que le phosphate tricalcique α .

C'est en soumettant les sels osseux aux mêmes traitements que leur nature exacte a pu être établie¹.

Avant la calcination, les sels osseux bruts donnent un radiogramme correspondant à la structure moléculaire de l'apatite, mais dont les raies sont diffuses:

¹ Voir note 5, p. 469.

¹ M. J. DALLEMAGNE et J. MELON, Bull. Soc. Chim. biol. 27, 85 (1945).

² M. A. BREDIG, Z. physiol. Chem. 216, 239 (1933).

³ M. J. DALLEMAGNE, Acta biol. Belg. 2, 301 (1942).

leur constituant principal est le phosphate tricalcique α . Après calcination, la disposition des raies du radiogramme ne change pas, mais les raies deviennent plus fines; le phosphate tricalcique α et le carbonate se sont combinés en une molécule d'apatite. Si les sels osseux sont, préalablement à la calcination, débarrassés par voie chimique du carbonate qu'ils renferment, leur radiogramme change exactement comme le fait celui du phosphate tricalcique α pur; il passe de la forme α à la forme β .

Devant ces faits, une seule conclusion devenait possible: le sel principal de l'os est du phosphate tricalcique α agrégé en très petites particules cristallines, ayant adsorbé du carbonate calcique ou magnésien. L'os donne un radiogramme d'apatite, parce que le phosphate tricalcique α est isomorphe à l'apatite. Sous l'influence de la calcination, le carbonate se combine au phosphate et il forme à partir des sels osseux une apatite vraie; le radiogramme de cette dernière accuse des raies plus fines qu'avant la calcination, parce que le passage du phosphate tricalcique α à l'apatite s'accompagne d'une augmentation du volume des particules cristallines.

Il s'agit ici d'un cas typique où, à cause du phénomène d'isomorphisme, un sel complexe, l'apatite, donne le même radiogramme qu'un des composants de sa molécule, parce que celui-ci se trouve sous une forme particulière, hydratée. Le problème n'a pu être éclairci par la diffraction des rayons X exclusivement. Il a été nécessaire d'associer cette dernière méthode à des procédés chimiques de recherche et à la mesure des indices de réfraction pour arriver à une conclusion définitive.

Nous ne cherchons nullement à discréditer une méthode d'investigation aussi objective que la détermination des structures moléculaires par la diffraction des rayons X. Notre seul but est d'éveiller l'attention à la possibilité d'interprétations erronées de röntgenogrammes dont les raies ne peuvent que refléter la forme de la maille cristalline telle qu'elle se présente dans la réalité.

Summary

The application of physical methods to the resolution of problems concerning biology might sometimes lead to misinterpretations. We consider, for instance, the successive stages of the study of the principal bone salt components by the X-ray diffraction method.

Der Aufbau des galaktischen Systems

Von E. v. d. PAHLEN, Basel

Das Problem, das die Astronomen seit den ersten Anfängen ihrer Wissenschaft bis tief in die Neuzeit hinein beinahe ausschließlich beschäftigt hatte und sozusagen das Kernstück der ganzen antiken und mittelalterlichen Lehre vom Himmel bildete, war das der *Planetenbewegung*. Der ungeheure Aufwand an Scharfsinn, der zur Zerlegung und Wiederzusammensetzung der äußerst verwickelten, jedoch eine tiefe und eindrucksvolle Gesetzmäßigkeit verratenden Bewegungen dieser Himmelskörper in ein System von Kreisbewegungen um fiktive Punkte, die sich wiederum auf Kreisen um die Erde bewegen sollten, verschwendet wurde, stellt ein typisches Beispiel für die unproduktiven Irrwege dar, auf die sich die wissenschaftliche Forschung verirrt, wenn sie an vorgefaßten Meinungen – hier der Annahme, daß die Himmelsbewegungen durchweg gleichmäßige Rotationen sein müßten – festhalten will. Demnach bestand die erste Tat der im 16. Jahrhundert neu erstandenen Wissenschaft notwendig in einem Akt der Zerstörung: die kunstvoll ineinandergeschachtelten ptolemäischen Kristallsphären stürzen in sich zusammen, die Erde nimmt in dem nunmehr um die Sonne als Mittelpunkt kreisenden System ihre Stelle als einfacher Planet unter den anderen Planeten ein, wodurch schon die auffälligsten von den Planeten am Himmel beschriebenen Schleifen (die sog. großen Anomalien)

als durch die Bewegung des mit der Erde verbundenen Beobachters hervorgerufene Täuschungen sich auf zwangslose Weise ausglätten lassen. Die Ersetzung der Kreisbahnen durch elliptische, die wir KEPLER verdanken, gestattet eine noch viel genauere Darstellung der tatsächlich beobachteten Bewegungen, als sie durch Einschaltung noch so vieler Sphären oder Epizylen jemals erreicht worden wäre. Und die epochenmachenden Entdeckungen NEWTONS, die die Bewegung eines Planeten nach denselben Grundsätzen zu berechnen lehrten wie etwa das Schwingen eines Pendels oder das Auf- und Abströmen des Seewassers, bringen endlich das volle Verständnis des mechanischen Aufbaus unseres Planetensystems. Von nun an ist die weitere Entwicklung auf diesem Gebiete nur noch, allerdings sehr mühsame, Kleinarbeit; das Problem des Aufbaus (wenn auch nicht der Entstehung) des Planetensystems ist prinzipiell gelöst. Dieser Abschluß ist etwa um die Mitte des 18. Jahrhunderts erreicht worden, doch war inzwischen schon ein neues Problem an die Stelle des eben gelösten getreten.

Der Hintergrund, auf dem sich die Bewegungen der Planeten abspielen, und durch den sie für uns überhaupt erst wahrnehmbar und meßbar werden, ist die *sphaera stellarum fixarum* der Alten, d.h. die mit Sternen übersäte Himmelskugel, die an keiner dieser Be-