

## 羧钾调控草酸钙晶体生长及其与分子结构的关系

杨 锦, 李君君, 袁欢欣, 欧阳健明

(暨南大学 生物矿化与结石病防治研究所, 广州 510632)

**摘 要:** 采用扫描电子显微镜(SEM)和X射线衍射(XRD)在凝胶体系中研究了不同结构羧钾对草酸钙(CaOxa)结晶的影响, 这些羧钾包括氨基乙酸钾(KGLY)、乙二醇二乙醚二胺四乙酸二钾(K<sub>2</sub>EGTA)、氨基三乙酸二钾(K<sub>2</sub>NTA)、二乙三胺五乙酸二钾(K<sub>2</sub>DTPA)、乙二胺四乙酸二钾(K<sub>2</sub>EDTA)和环己二胺四乙酸二钾(K<sub>2</sub>CDTA)。这些物质均能诱导二水草酸钙(COD)形成, 抑制一水草酸钙(COM)聚集和减小 COM 的比表面积, 其诱导 COD 能力依次为: K<sub>2</sub>DTPA (55wt%) > K<sub>2</sub>EDTA≈K<sub>2</sub>CDTA (50wt%) > K<sub>2</sub>NTA (43wt%) >> K<sub>2</sub>EGTA (4wt%) > KGLY (2wt%), 抑制 COM 聚集的能力依次为: K<sub>2</sub>DTPA > K<sub>2</sub>NTA > K<sub>2</sub>CDTA≈K<sub>2</sub>EDTA > K<sub>2</sub>EGTA > KGLY。从羧盐的分子结构、羧基的相对含量、羧基的空间位置、与钙离子的配位能力及其配位方式等角度讨论了其抑制 COM 聚集和诱导 COD 形成的化学基础。结果表明 K<sub>2</sub>NTA 和 K<sub>2</sub>DTPA 有可能成为防止草酸钙结石形成的潜在药物。

**关 键 词:** 草酸钙; 氨基羧酸钾; 螯合剂; 生物矿化; 尿结石

中图分类号: O611

文献标识码: A

## Regulation of Potassium Aminocarboxylates on Calcium Oxalate Crystal Growth and Its Relationship with Molecular Structure

YANG Jin, LI Jun-Jun, YUAN Huan-Xin, OUYANG Jian-Ming

(Institute of Biomineralization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The effect of potassium aminocarboxylates on crystallization of calcium oxalate (CaOxa) was investigated in silica gel system by means of scanning electron microscopy and X-ray diffraction. These aminocarboxylates included potassium aminoacetate (KGLY), dipotassium glycoletherdiaminotetraacetate (K<sub>2</sub>EGTA), dipotassium aminotriacetate (K<sub>2</sub>NTA), dipotassium diethylenetriaminepentaacetate (K<sub>2</sub>DTPA), dipotassium ethylene diamine tetraacetate (K<sub>2</sub>EDTA) and dipotassium cyclohexanediamine tetraacetate (K<sub>2</sub>CDTA). All these aminocarboxylates could induce the formation of calcium oxalate dihydrate (COD), inhibit the aggregation of calcium oxalate monohydrate (COM) and decrease the specific surface area of COM aggregates. The ability to induce COD formation follows the order: K<sub>2</sub>DTPA (55wt%) > K<sub>2</sub>EDTA ≈ K<sub>2</sub>CDTA (50wt%) > K<sub>2</sub>NTA (43wt%) >> K<sub>2</sub>EGTA (4wt%) > KGLY (2wt%), and the ability to inhibit COM aggregation follows the sequence: K<sub>2</sub>DTPA > K<sub>2</sub>NTA > K<sub>2</sub>CDTA ≈ K<sub>2</sub>EDTA > K<sub>2</sub>EGTA > KGLY. These results are discussed in terms of their molecular structure, relative content of carboxylic groups, spatial location of carboxyl groups in aminocarboxylates, and their coordination capacity and modes with Ca<sup>2+</sup> ions. It is proved that K<sub>2</sub>NTA and K<sub>2</sub>DTPA can be the potential drugs for preventing the formation of CaOxa stones.

**Key words:** calcium oxalate; potassium aminocarboxylates; chelators; biomineralization; urinary stone

泌尿系结石(简称尿石)是一种世界范围的常见病、多发病, 其形成机理至今尚未阐明。草酸钙

收稿日期: 2010-02-06; 收到修改稿日期: 2010-04-06

基金项目: 广东省科技攻关项目(2009B030801236); 国家自然科学基金(20971057)

Key Project of Science and Technology of Guangdong Province (2009B030801236); National Nature Science Foundation of China (20971057)

作者简介: 杨 锦(1984-), 女, 硕士研究生. E-mail: yangjin8524@126.com

通讯联系人: 欧阳健明, 教授. E-mail: toyjm@jnu.edu.cn

(CaOxa)是尿石的主要成分<sup>[1]</sup>. 目前临床上常用的防石药物包括枸橼酸系列、无机磷酸盐、噻嗪类利尿药、镁制剂、别嘌呤醇及中草药等,但对上述药物的作用机理亦欠清楚.

羧酸及其盐对CaOxa尿石的形成有着显著的影响. 很多学者曾在水溶液<sup>[2]</sup>、凝胶<sup>[3]</sup>、囊泡<sup>[4]</sup>和单分子膜<sup>[5]</sup>等模拟体系中研究了酒石酸、柠檬酸等天然螯合剂及其盐对CaOxa成核、生长和聚集的抑制作用. 氨基酸类化合物是络合金属离子能力极强的人工螯合剂,其中,氨基三乙酸(NTA)及其盐价格低廉;乙二胺四乙酸(EDTA)、环己二胺四乙酸(CDTA)及其盐对人体较安全,胃肠道吸收甚微,静脉注射Na<sub>2</sub>EDTA后,24 h后95%以上由肾脏排出<sup>[6]</sup>;二乙三胺五乙酸(DTPA)及其盐亦可直接用于静脉注射及口服,毒性比EDTA更小,溶解度亦比其它氨基酸大. 这些氨基酸络合剂因能使结石脱钙崩解而被单独或作为组分之一用于化学溶石<sup>[7-9]</sup>.

凝胶是一种特殊的分散体系,其中的胶体颗粒相互联结而形成空间网状结构. 在凝胶中发生的化学反应,由于不存在对流,反应中所生成的不溶物在凝胶中具有周期分布的特点,这与动物及人体内胆肾结石的周期性鲐状结构相似,是一种较好的体外模拟体系. 本工作采用双扩散法在硅酸钠凝胶中研究了不同结构氨基酸钾盐对CaOxa晶体生长的影响,其研究结果将有助于进一步了解羧酸类化合物的分子结构与其防石效果的关系,为临床筛选防石药物提供参考.

## 1 实验部分

### 1.1 试剂和仪器

不同结构氨基酸钾盐的分子结构如图1所示,其中(a) 氨基乙酸钾 KGLY(广东顺德化学生物研究所)、(b) 乙二醇二乙醚二胺四乙酸二钾 K<sub>2</sub>EGTA(上

海天莲精细化工有限公司)、(c) 氨基三乙酸二钾 K<sub>2</sub>NTA(汕头红卫化工厂)、(d) 二乙三胺五乙酸二钾 K<sub>2</sub>DTPA(广州化学试剂厂)、(e) 乙二胺四乙酸二钾 K<sub>2</sub>EDTA(汕头市光华化学厂)、(f) 环己二胺四乙酸二钾 K<sub>2</sub>CDTA(上海润捷化学试剂有限公司)等试剂均为分析纯,用二次蒸馏水配制溶液;所有玻璃器皿均用二次蒸馏水洗涤干净.

JEOL JSM-T300 型扫描电子显微镜; pH-3C 精密 pH 计(上海雷磁仪器厂); XD2 型 X 射线粉末衍射仪(北京大学); PSH500A 生化培养箱(重庆试验设备厂); XTB-1 型体式显微镜(江南光电仪器有限公司).

### 1.2 实验方法

凝胶配制: 将 13.97 g Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>·9H<sub>2</sub>O 溶解于适量二次蒸馏水中,配成 200 mL 密度为 1.03 g/cm<sup>3</sup> 的硅酸钠溶液,然后用 5vol% 的醋酸调节溶液 pH 值至 6.35,注入尺寸为  $\phi 1.5\text{ cm} \times 15\text{ cm}$  的 U 型管中,48 h 后形成凝胶.

晶体生长: 将 5.0 mL 0.5 mol/L 的氯化钙加入到 U 管的一侧,5.0 mL 草酸钾和氨基酸钾的混合液添加入另一侧,其中浓度分别为 0.2 和 0.1 mol/L. 将 U 管置于 37.5℃ 生化培养箱静置 10 d,此过程中 CaOxa 在 U 管底部结晶生长. 取出晶体时,先用吸管初步吸走 U 管上部大部分不含晶体的凝胶,然后将 U 管底部的草酸钙晶体和剩余的少量凝胶一起倒入 50 mL 烧杯中,加入约 20 mL 二次水,用玻璃棒小心搅拌,再用吸管吸出含凝胶的溶液;重复洗涤 5 次,可将碎凝胶逐步分离出去. 最后将晶体干燥,进行 XRD、SEM 等表征.

采用 XRD 作定量分析时,先制定标准工作曲线,然后根据 K 值法<sup>[10]</sup>计算晶体中 COM 和 COD 的相对质量百分比:  $\frac{w_M}{w_D} = K \times \frac{I_M}{I_D}$ ,式中  $I_M$  为 COM 主吸收峰( $\bar{1}01$ )晶面( $d$  值 0.593 nm)的强度,  $I_D$  为 COD 主吸收峰(200)晶面( $d$  值 0.618 nm)的强度,  $K$  为常数.

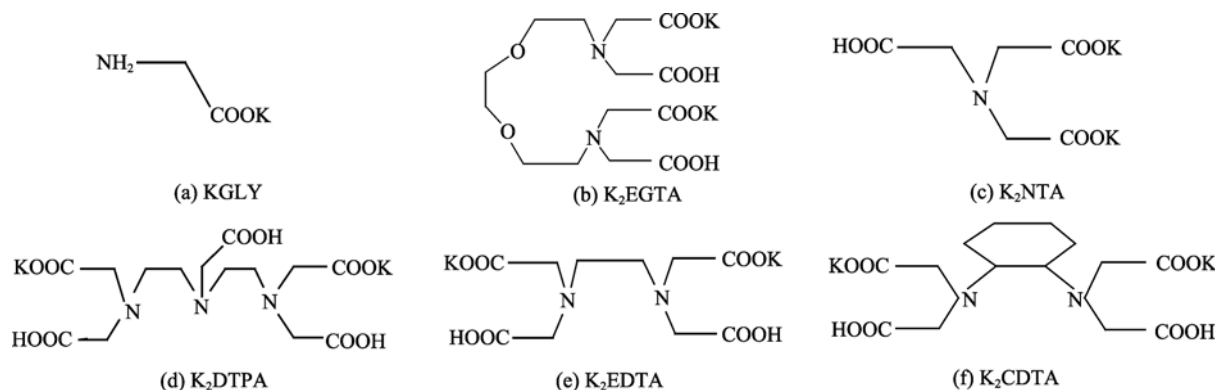


图1 氨基酸钾盐的分子结构

Fig. 1 Molecular structures of potassium aminocarboxylates

## 2 实验结果

### 2.1 不同结构氨基酸钾对 COD 生成的诱导

图 2 为加入 0.1 mol/L 不同氨基酸钾后 CaOxa 晶体的 SEM 照片. 加入氨基酸钾后, CaOxa 晶体中均出现了四方锥形的二水草酸钙(COD)晶体, 而空白实

验(即不加添加剂, 其 SEM 未示)只有一水草酸钙(COM)形成<sup>[11]</sup>. XRD 结果(图 3)表明, 加入氨基酸钾 K<sub>2</sub>NTA、K<sub>2</sub>DTPA、K<sub>2</sub>EDTA 和 K<sub>2</sub>CDTA 后, 出现了属于 COD 晶体(200)、(211)、(400)、(411)和(213)晶面的特征峰, 特别是添加 K<sub>2</sub>DTPA (图 3(d))后, COD 的(411)面特征峰强度最大; XRD 定量分析表明, COD 的含量为 55wt%(表 1).

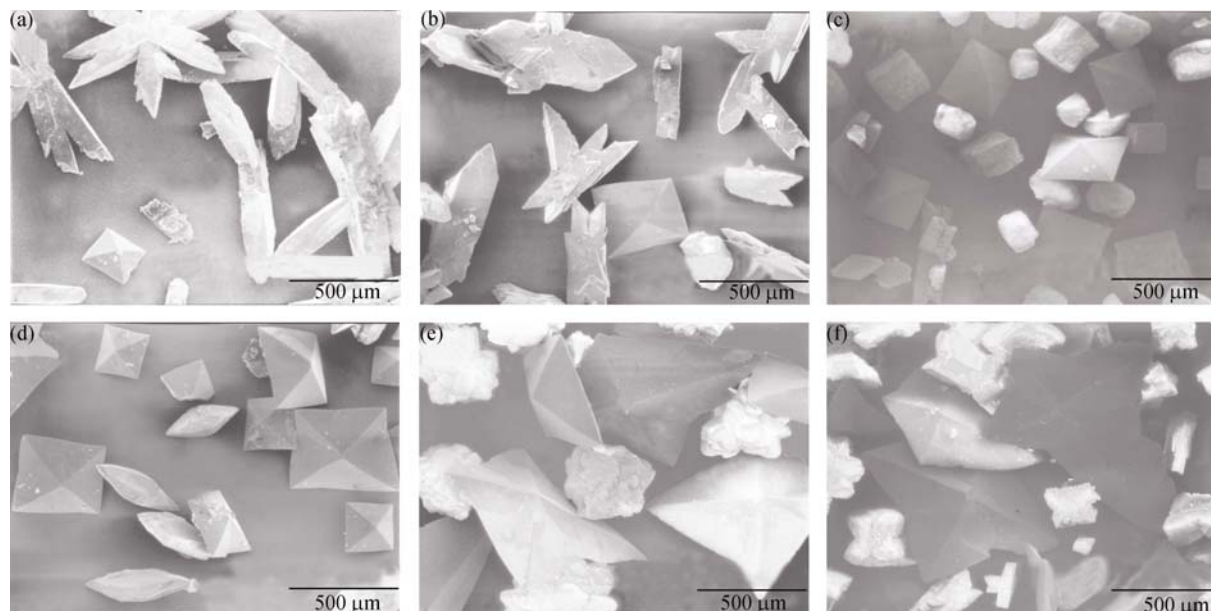


图 2 凝胶体系加入不同结构氨基酸钾形成的 CaOxa 结晶的 SEM 形貌

Fig. 2 SEM images of CaOxa crystals grown systems by adding various potassium aminocarboxylates

(a) KGLY; (b) K<sub>2</sub>EGTA; (c) K<sub>2</sub>NTA; (d) K<sub>2</sub>DTPA; (e) K<sub>2</sub>EDTA; (f) K<sub>2</sub>CDTA

(Additive concentration: 0.1 mol/L, crystallization time: 10d, temperature: 37.5 °C)

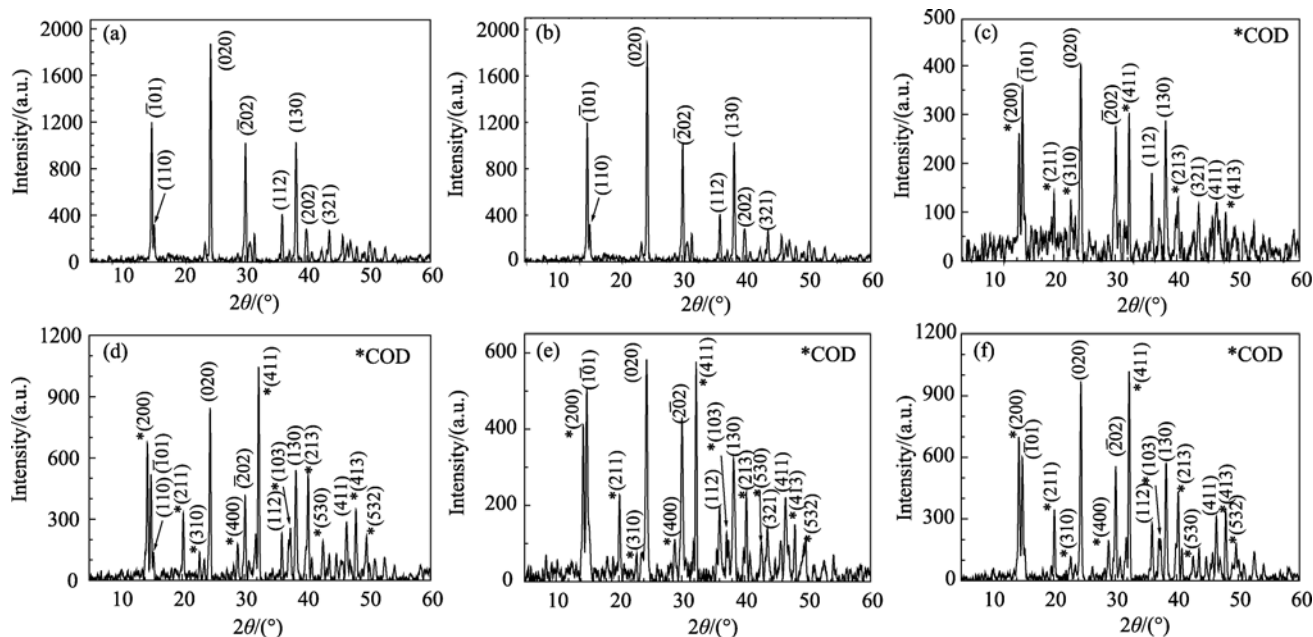


图 3 凝胶体系加入不同结构氨基酸钾形成的 CaOxa 结晶的 XRD 图谱

Fig. 3 XRD patterns of CaOxa crystals grown in gel systems by adding various potassium aminocarboxylates

(a) KGLY; (b) K<sub>2</sub>EGTA; (c) K<sub>2</sub>NTA; (d) K<sub>2</sub>DTPA; (e) K<sub>2</sub>EDTA; (f) K<sub>2</sub>CDTA. Crystal faces with one asterisk indicate COD, without asterisk indicate COM, Additive concentration: 0.1 mol/L

表 1 羧基数量对 CaOxa 结晶的影响\*

Table 1 Effect of number of carboxylic groups in potassium aminocarboxylates on crystallization of CaOxa

Additives	COOH / %	COD / %	Aggregated COM / %	Single COM / %	Size of COM / $\mu\text{m} \times \mu\text{m}$
K <sub>2</sub> NTA	1.12	43	0	57	170 × 130
K <sub>2</sub> EDTA	1.09	50	25	25	350 × 350
K <sub>2</sub> DTPA	1.07	55	0	45	350 × 220
K <sub>2</sub> CDTA	0.95	50	20	30	260 × 200
KGLY	0.88	2	60	38	1000 × 800
K <sub>2</sub> EGTA	0.87	4	50	46	530 × 230

\* Crystallization time:10d

尽管在 SEM 图中, KGLY(图 2(a))和 K<sub>2</sub>EGTA(图 2(b))亦诱导了少量的 COD 晶体(约 2%~4%), 但由于其 COD 含量太低, 因此, 在其 XRD 谱(图 3(a), 3(b))中只出现归属于 COM 晶体( $\bar{1}01$ )、(020)、( $\bar{2}02$ ) 和(130)晶面的特征峰。

上述结果表明, 不同羧基诱导 COD 生成的能力大小依次为: K<sub>2</sub>DTPA (55wt%) > K<sub>2</sub>EDTA ≈ K<sub>2</sub>CDTA (50wt%) > K<sub>2</sub>NTA (43wt%) >> K<sub>2</sub>EGTA (4wt%) > KGLY (2wt%)。

2.2 不同结构羧基对 COM 聚集的抑制

从图 2 可以看出, 不同羧基对 COM 形貌的影响非常明显。加入 KGLY 以后(图 2(a)), 除诱导了约 2wt % 的 COD 外, 与空白实验基本相同, 得到的 COM 晶体多为蔷薇花状聚集体(尺寸 1000  $\mu\text{m} \times 800 \mu\text{m}$ )和拉长六边形, 晶体棱角清晰。加入 K<sub>2</sub>EGTA 后(图 2(b)), 除 COM 聚集体有所减少外, 其它与加入 KGLY 相同。而加入其它 4 种羧基后, CaOxa 晶体中 COM 聚集体明显减少。加入 K<sub>2</sub>NTA 时(图 2(c)), COM 均以矩形存在, 尺寸显著变小(170  $\mu\text{m} \times 130 \mu\text{m}$ )。添加 K<sub>2</sub>DTPA 后(图 2(d)), COM 变为棱角清晰、两头变尖的陀螺状单体(350  $\mu\text{m} \times 220 \mu\text{m}$ )。加入 K<sub>2</sub>EDTA (图 2(e))和 K<sub>2</sub>CDTA 后(图 2(f)), COM 主要以团状聚集体形式存在, 棱角模糊。因此, 不同结构羧基对 COM 聚集的抑制能力大小依次为: K<sub>2</sub>DTPA > K<sub>2</sub>NTA > K<sub>2</sub>CDTA ≈ K<sub>2</sub>EDTA > K<sub>2</sub>EGTA > KGLY。

2.3 不同结构羧基对 COD 晶体形貌的影响

从图 2 还可以看出, 不同羧基盐影响 COD 的形貌和尺寸。K<sub>2</sub>NTA (图 2(c))和 K<sub>2</sub>DTPA (图 2(d))诱导的 COD 晶体为四方锥形; 而 K<sub>2</sub>EDTA (图 2(e))和 K<sub>2</sub>CDTA (图 2(f))诱导的 COD 晶体均有不同程度的变形, 一条棱角被拉长, 呈十字形, 其尺寸亦明显增大。

3 讨论

不同结构羧基诱导 COD 形成和抑制 COM 聚

集的能力是下列各因素协同作用的结果:

1) 羧基含量的增加有利于抑制 COM 聚集和诱导 COD 形成。

计算机模型<sup>[12]</sup>表明, COM 和 COD 的表面吸附能力存在差异, COM 表面的吸附能力大于 COD, 特别是表面富钙离子的( $\bar{1}01$ )晶面, 对阴离子基团如羧基的吸附作用较强<sup>[13]</sup>。因此, 抑制剂中羧基含量增加不但有利于抑制 COM 晶体的聚集, 而且有利于抑制 COM 晶体的临界成核和生长, 从而促进 COD 形成<sup>[12]</sup>。从图 1 可见, 这些羧基均含有羧基(包括-COOH、-COOK)和氨基(-NH<sub>2</sub>), 但羧基的相对质量百分比不同, 如表 1 所示, 其单位质量所具有的羧基数量从大到小依次为: K<sub>2</sub>NTA (1.12wt%) > K<sub>2</sub>EDTA (1.09wt%) > K<sub>2</sub>DTPA (1.07 wt%) > K<sub>2</sub>CDTA (0.95wt%) > KGLY (0.88wt%) ≈ K<sub>2</sub>EGTA (0.87wt%)。因此, 单位质量羧基数量较大(>0.90wt%)的四种羧基(K<sub>2</sub>NTA、K<sub>2</sub>DTPA、K<sub>2</sub>EDTA 和 K<sub>2</sub>CDTA)均能诱导较多(>40%)的 COD 晶体, 并在一定程度上抑制 COM 的聚集(图 2)。值得注意的是, KGLY 中的羧基含量(0.88)虽然与 K<sub>2</sub>CDTA 中的(0.95)差异不大, 但两者诱导的 COD 百分含量差异很大, 分别为 2wt%和 50wt%, 这是由于 KGLY 中只含有 1 个羧基, 而含 1 个羧基的化合物诱导 COD 的能力一般均很弱所致<sup>[4,12]</sup>。

2) 与 Ca<sup>2+</sup>离子的配位能力及其配位方式有关。当图 1 中 6 个羧基分别与 Ca<sup>2+</sup>离子形成 1:1 配合物时, 其稳定常数( $K_s$ )分别为 10<sup>1.4</sup>、10<sup>10.97</sup>、10<sup>6.41</sup>、10<sup>10.83</sup>、10<sup>10.69</sup> 和 10<sup>13.2</sup>。 $K_s$ 越大, 添加剂越容易强烈地抑制 COM 的成核和生长, 并诱导 COD 形成。KGLY 虽能通过氨基、羧基配原子与 Ca<sup>2+</sup>离子形成一个五元环螯合物, 但其与 Ca<sup>2+</sup>离子的配位能力比 Oxa<sup>2-</sup> ( $K_s=10^{3.0}$ )弱, 因此, KGLY 抑制 COM 生长及诱导 COD 的能力非常有限。而与 Ca<sup>2+</sup>离子配位能力极强的 K<sub>2</sub>EDTA 和 K<sub>2</sub>CDTA 除诱导大量的 COD

外, 还因为存在明显的沉淀-溶解动态平衡, 从而使 COM 晶体棱角变得相当圆钝, 呈圆球状, 其比表面积明显减小。

与  $K_2NTA$ 、 $K_2DTPA$ 、 $K_2EDTA$ 、 $K_2CDTA$  主要是通过羧氧配位不同,  $K_2EGTA$  中引入了醚氧, 且类似于环形氨羧化合物, 醚氧配位能力强,  $Ca^{2+}$  离子可以在“内界”与醚氧、在“外界”与羧氧同时配位, 这种配位方式使其配合物稳定性大为增强, 导致体系中游离  $Ca^{2+}$  及  $Ca^{2+}/Oxa^{2-}$  比降低, 而  $Ca^{2+}/Oxa^{2-}$  比降低有利于 COM 生成<sup>[14]</sup>。

一般情况下, COD 晶体沿  $[100]$  方向和  $[010]$  方向均衡生长而得到四方锥形晶体<sup>[15]</sup>。而  $K_2EDTA$  和  $K_2CDTA$  容易形成十字形 COD 晶体, 这归因于它们与  $Ca^{2+}$  配位后, 体系中  $Ca^{2+}$  离子浓度降低, 而低浓度的  $Ca^{2+}$  离子在与表面能不同的 COD 各个晶面吸附时存在差异, 使得 COD 晶体沿  $[100]$  方向的生长速率慢于沿  $[010]$  方向的生长速率;  $K_2CDTA$  与  $Ca^{2+}$  的络合能力比  $K_2EDTA$  强, 因此, 其诱导的 COD 晶体在  $[001]$  方向上的生长进一步受到抑制, 其一个或两个棱角被进一步拉长, 导致部分树枝状 COD 晶体生长(图 2(e))。

3) 分子结构和羧基空间位置。一方面, 不同结构的氨羧钾在 COM 晶体上有不同的结合方式和结合位置, 能够影响 COM 晶体特定晶面的生长, 从而得到三维参数不同的 COM 晶体<sup>[16]</sup>。带 5 个羧基的氨羧钾  $K_2DTPA$  易与  $Ca^{2+}$  离子呈密集分布的  $(\bar{1}01)$  晶面键合, 导致沿  $a$ -轴的生长速率慢于沿  $b$ -轴的生长速率, 从而使晶体沿  $(\bar{1}01)$  方向的生长受到抑制,  $(\bar{1}01)$  晶面的面积减小[相应变化表现为图 3(d)中  $(\bar{1}01)$  晶面的特征峰强度相对变弱],  $(120)$  晶面增大, 继而使得 COM 两头变尖、变长(图 4(a)); 而  $K_2NTA$

在与 COM 的  $(\bar{1}01)$  晶面作用的同时, 抑制了叉生 COM 两头  $(01\bar{1})$  和  $(011)$  晶面的生长, 相应变化表现为图 3(c)中  $(110)$  晶面的特征峰消失, XRD 中的  $(110)$  面( $d$  值  $0.579\text{ nm}$  处)即对应图 4 中的  $(011)$  晶面<sup>[17-18]</sup>, 从而使得 COM 晶体变短而成为矩形或砖状(图 4(b))。

另一方面, 分子结构和羧基空间位置影响对 COD 的诱导。尽管  $K_2CDTA$  ( $K_s=10^{13.2}$ ) 与  $Ca^{2+}$  离子的络合能力远大于  $K_2EDTA$  ( $K_s=10^{10.69}$ ), 但对 COD 的诱导能力相近, 这归因于  $K_2CDTA$  连有环结构, 羧基处于环的两侧, 其空间位阻较大;  $K_2EGTA$  中 N 原子上所结合的两个 H 原子与醚氧形成内氢键而成环, 并加大了环的构象刚性, 阻止了其羧基在晶体结合位点上的有效排列和吸附, 从而减弱了  $K_2EGTA$  诱导 COD 的能力<sup>[13]</sup>。

## 4 结论

不同结构的氨羧钾对  $CaOxa$  结晶的影响不同, 乙二胺四乙酸二钾( $K_2EDTA$ )和环己二胺四乙酸二钾( $K_2CDTA$ )可以诱导 COD 形成并减小 COM 的比表面积; 氨基三乙酸二钾( $K_2NTA$ )和二乙三胺五乙酸二钾( $K_2DTPA$ )强烈抑制 COM 的聚集并诱导小尺寸 COD。这些抑制作用与氨羧钾所含的羧基相对含量、与钙离子的配位能力及其配位方式、 $COOH$  基的空间位置等密切相关。由于 COD 与肾上皮细胞膜的粘附力比 COM 小, COM 的聚集亦是尿石形成的原因之一, 因此, 能够诱导更多 COD 生成或抑制 COM 聚集的添加剂将有可能被用于  $CaOxa$  尿石的预防和治疗。本研究结果表明,  $K_2NTA$  和  $K_2DTPA$  在理论上有可能成为泌尿系结石的有效防石药物。

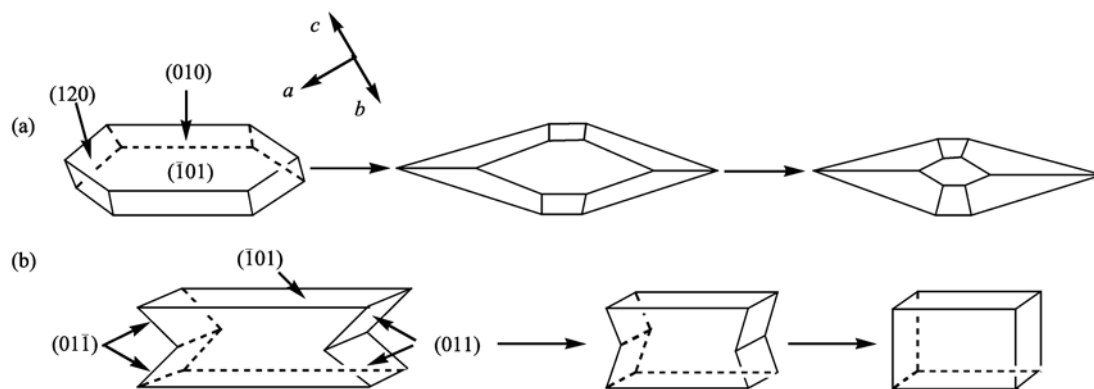


图 4 COM 晶体形貌变化模型图

Fig. 4 Schematic representation of morphology of COM crystals showing a likely growth sequence of COM

## 参考文献:

- [1] Kirboğa S, Öner M. Inhibition of calcium oxalate crystallization by graft copolymers. *Cryst. Growth Des.*, 2009, **9**(5): 2159–2167.
- [2] Atmani F, Sadki C, Aziz M, *et al.* Cynodon dactylon extract as a preventive and curative agent in experimentally induced nephrolithiasis. *Urol. Res.*, 2009, **37**(2): 75–82.
- [3] Deng S P, Ouyang J M. Effect of concentration of structurally-different carboxylic acids on growth and aggregation of calcium oxalate in gel systems. *Chin. J. Chem.*, 2007, **25**(9): 1379–1384.
- [4] Ouyang J M, Duan L, Tieke B. Effects of carboxylic acids on the crystal growth of calcium oxalate nanoparticles in lecithin-water liposome systems. *Langmuir*, 2003, **19**(21): 8980–8985.
- [5] Deng S P, Ouyang J M. Induction of circular patterns of calcium oxalate monohydrate by defective monolayers on mica surface. *Cryst. Growth Des.*, 2009, **9**(1): 82–87.
- [6] 顾树南, 蔡珍福, 王 坚. 胆结石灌注药物溶石的治疗进展. 中华现代外科学杂志, 2005, **2**(5): 431–434.
- [7] Dormia E, Dormia G, Malagola G, *et al.* Experience with instrumental chemolysis for urolithiasis. *J. Urol.*, 2003, **170**(4): 1105–1110.
- [8] Rao T V R K, Das M. Inhibition of mineralization of urinary stone forming minerals by EDTA salts and effect of macro and micro nutrient metal ions on the inhibition. *Asian J. Chem.*, 2000, **12**(3): 693–697.
- [9] 宋东奎, 钱书虹, 吴 波, 等. 胰蛋白酶加乙二醇四乙酸钠溶解草酸钙结石实验研究. 郑州大学学报(医学版), 2002, **37**(4): 483–485.
- [10] 黄胜涛. 固体 X 射线学. 北京: 高等教育出版社, 1985.
- [11] Ouyang J M. Effects of temperature on growth and aggregation of calcium oxalate in presence of various carboxylic acids in silica gel systems. *Mater. Sci. Eng. C*, 2006, **26**(4): 678–682.
- [12] Cody A M, Cody R D. Calcium oxalate trihydrate phase control by structurally-specific carboxylic acids. *J. Cryst. Growth*, 1994, **135**(1/2): 234–245.
- [13] Sheng X X, Ward M D, Wesson J A. Adhesion between molecules and calcium oxalate crystals: critical interactions in kidney stone formation. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, **125**(10): 2854–2855.
- [14] Jung T, Kim W S, Choi C K. Biom mineralization of calcium oxalate for controlling crystal structure and morphology. *Mater. Sci. Eng., C*, 2004, **24**(1/2): 31–33.
- [15] Cody A M, Cody R D. Dendrite formation by apparent repeated twinning of calcium oxalate dihydrate. *J. Cryst. Growth*, 1995, **151**(3): 369–374.
- [16] Bernard-Michel B, Pons M N, Vivier H, *et al.* The study of calcium oxalate precipitation using image analysis. *Chem. Eng. J.*, 1999, **75**(2): 93–103.
- [17] Tazzoli V, Domeneghetti C. The crystal structures of whewellite and weddellite: re-examination and comparison. *Am. Mineral.*, 1980, **65**(3/4): 327–334.
- [18] Deganello S, Piro O E. The crystal structure of calcium oxalate monohydrate (whewellite). *Neues Jahrb Mineral Abh.*, 1981, **2**: 81–88.