

文章编号: 1000-324X(2007)01-0075-04

## 凝胶体系中混合羧酸钾对草酸钙结晶的调控作用

柳一鸣<sup>1,2</sup>, 袁欢欣<sup>2</sup>, 欧阳健明<sup>2</sup>

(1. 湖南理工学院化学化工系, 岳阳 414000; 2. 暨南大学生物矿化与结石病防治研究所, 广州 510632)

**摘要:** 酒石酸钾 ( $K_2\text{tart}$ )、柠檬酸钾 ( $K_3\text{cit}$ ) 和乙二胺四乙酸钾 ( $K_2\text{edta}$ ) 均可用于防治草酸钙 ( $\text{CaOxa}$ ) 结石, 但它们各有其优缺点. 本文采用双扩散法比较研究了这 3 种羧酸钾以不同比例两两混合时对  $\text{CaOxa}$  结晶的影响, 结果表明, 混合剂或者能够诱导更多的二水草酸钙 (COD) 和三水草酸钙 (COT) 晶体, 或者减小一水草酸钙 (COM) 的尺寸,  $K_2\text{edta}$ - $K_3\text{cit}$  混合剂还能诱导 (100) 晶面减小、螺旋式生长的 COD 晶体, 该 COD 与肾小管细胞膜的粘附力较弱. 这些均有利于抑制草酸钙结石形成, 表明混合剂的防石效果优于单一钾盐.

**关键词:** 生物矿化; 草酸钙; 凝胶; 羧酸钾

**中图分类号:** O611, TQ115, R6      **文献标识码:** A

## Modulation of Mixed Potassium Carboxylates on Crystallization of Calcium Oxalate Crystals in Gel System

LIU Yi-Ming<sup>1,2</sup>, YUAN Huan-Xin<sup>2</sup>, OUYANG Jian-Ming<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Institute of Science and Technology, Yueyang 414000, China; 2. Institute of Biomineralization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** Potassium tartrate ( $K_2\text{tart}$ ), potassium citrate ( $K_3\text{cit}$ ) and dipotassium ethylene diamine tetraacetate ( $K_2\text{edta}$ ) can be used to prevent and cure calcium oxalate ( $\text{CaOxa}$ ) stones. It was investigated that the modulation of the mixed potassium carboxylates of these three compounds on the crystallization of  $\text{CaOxa}$  in gel system by a double diffusion technique. The results show that the mixed carboxylates can either induce more calcium oxalate dihydrate (COD) and trihydrate (COT) crystals, or decrease the size and special surface area of calcium oxalate monohydrate (COM). For the mixture of  $K_2\text{edta}$  and  $K_3\text{cit}$ , the twisted COD crystals are grown. These twisted COD crystals look like the morphology of the COD grown in healthy human urine and have a less (100) crystal face, which can decrease the retention and adhesion of COD crystals on the surface of renal tubular cells. All these effect can inhibit the formation of  $\text{CaOxa}$  stones. It demonstrates that the mixed potassium carboxylates have better inhibitive effect than any of the single.

**Key words** biomineralization; calcium oxalate; gel; potassium carboxylates

## 1 引言

生物的矿化与仿生材料是近年来的热门研究领域<sup>[1]</sup>. 尿石症是生物体内病理矿化的产物, 其中 70%~80% 的晶体成分为草酸钙 ( $\text{CaOxa}$ ). 体内草酸钙晶体的物理化学性质差异是影响  $\text{CaOxa}$  结石是否形成的重要因素. 因此, 研究添加剂对  $\text{CaOxa}$  晶相、物相、晶面和尺寸等的影响, 有助于弄清  $\text{CaOxa}$

结石的形成机制, 有效预防其发生<sup>[2]</sup>. 羧酸类化合物是临床上常用的防石药物. 文献<sup>[3,4]</sup>分别报道了酒石酸 ( $\text{H}_2\text{edta}$ )、柠檬酸 ( $\text{H}_3\text{cit}$ ) 和乙二胺四乙酸 ( $\text{H}_2\text{edta}$ ) 及其盐对  $\text{CaOxa}$  晶体生长的调控作用. 基于上述三种羧酸钾各有其优缺点, 使用其混合剂有可能取长补短, 使其具有比单一药物更佳的防石效果. 实际上, 目前临床上的一些混合剂常常具有独特于其某一组分的防石性能, 如意大利卫生部已

**收稿日期:** 2006-03-14, **收到修改稿日期:** 2006-05-08

**基金项目:** 国家自然科学基金 (20471024); 广东省科技攻关项目 (2005B30701003); 国家自然科学基金重点项目 (20031010)

**作者简介:** 柳一鸣 (1958-), 男, 副教授. **通讯联系人:** 欧阳健明. E-mail: toyjm@jnu.edu.cn

批准采用 1.78%Na<sub>2</sub>edta 和 1.08% 氨基三乙酸钠盐 (Na<sub>2</sub>NTA) 合剂在临床上治疗 CaOxa、磷灰石和鸟粪石结石<sup>[5]</sup>; 由酒石酸钾、硫酸镁、维生素 B<sub>6</sub> 及中药茯苓干膏粉等混用的“尿石清”冲剂在临床上已开始研究; 胰蛋白酶等基质溶解剂与 H<sub>2</sub>edta 溶液合用, 在增加溶解 CaOxa 尿石效果的同时, 能减轻 H<sub>2</sub>edta 引起的炎性反应. 为此, 本工作在凝胶模拟体系中比较研究了 K<sub>2</sub>edta、K<sub>3</sub>cit 和 K<sub>2</sub>tart 三种羧酸钾及其两两混合时对 CaOxa 晶体形貌、物相、晶面和表面积等的影响, 期望其研究结果可为临床上使用各种结构的羧酸钾混合剂治疗尿石病提供更多的参考.

## 2 实验部分

### 2.1 试剂和仪器

所有试剂均为分析纯, 二次蒸馏水. 日本理学 D/max 2400(Rigaku)X 射线粉末衍射仪; Bruker IFS25 型傅立叶变换红外光谱仪 (Bruker Spectrospin, Wissembourg, France); XL-30 型环境扫描电子显微镜 (Philips 公司); pH-3C 精密 pH 计 (上海雷磁仪器厂); XTB-1 型体式显微镜 (江南光电仪器有限公司); PSH500A 生化培养箱 (重庆试验设备厂).

### 2.2 实验方法

凝胶中草酸钙晶体生长实验参考文献<sup>[4]</sup>进行. 将 5.0mL 0.5mol/L 的氯化钙加入到 U 管的一侧, 5.0mL 0.2mol/L K<sub>2</sub>Oxa 加入到另一侧, 总体积为 5.0mL 加权浓度为 0.1mol/L 的混合羧酸钾加入 K<sub>2</sub>Oxa 一侧, 混合羧酸钾两两 (如 K<sub>2</sub>edta-K<sub>2</sub>tart、K<sub>2</sub>edta-K<sub>3</sub>cit 或 K<sub>2</sub>tart-K<sub>3</sub>cit) 体积比分别为 5:0、4:1、3:2、2:3、1:4 和 0:5. 将 U 管置于 37°C 生化培养箱静置, 让 CaOxa 结晶、生长. 15d 后取出晶体, 进行 XRD、SEM 等表征. 用 XRD 作定量分析时, 根据 K 值法计算晶体中 COM、COD 和 COT 的相对质量比<sup>[3]</sup>.

## 3 结果和讨论

### 3.1 单一羧酸钾对 CaOxa 结晶的影响

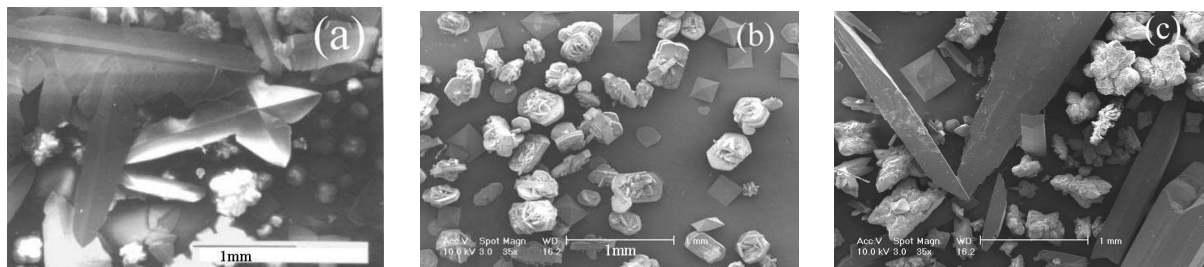


图 1 凝胶体系中不同结构羧酸钾对 CaOxa 晶体生长的影响

Fig. 1 SEM images of CaOxa crystals grown in the presence of various potassium carboxylates in gel system  
(a) K<sub>2</sub>edta; (b) K<sub>3</sub>cit; (c) K<sub>2</sub>tart. Crystallization time: 15d, temperature: 37°C, additive concentration: 0.10mol/L

图 1 为加入 0.1mol/L 不同结构的羧酸钾后 CaOxa 晶体的 SEM 图片. 加入 K<sub>2</sub>edta 后得到的 CaOxa 晶体主要为团状聚集体和树枝状晶体 (图 1(a)). 虽然在琼脂凝胶中曾发现这种树枝状晶体为一水草酸钙 (COM)<sup>[6]</sup>, 但 XRD 检测结果 (图 2a) 表明, 本实验琼脂凝胶中生长的这种树枝状的草酸钙晶体是二水草酸钙 (COD), 这与 Cody 等<sup>[7]</sup>发现的结果非常吻合. XRD 定量分析表明, COD 的质量百分含量为 48%. 由于这种树枝状 COD 表面含有较多的裂纹, 强度测试表明其硬度比四方锥形 COD 晶体小<sup>[7]</sup>, 其纵向与横向波阻抗、体积弹性模量 (K)、剪切模量 (G)、杨氏模量 (E) 和维氏硬度均降低, 因此, 生成这些硬度较小的 COD 晶体有利于提高体外震波碎石 (ESWL) 的碎石效果<sup>[8]</sup>.

单独添加 K<sub>3</sub>cit 后得到的 CaOxa 晶体约 90% 以上为圆角六边形的 COM, 10% 左右为 COD (图 1(b)). 而单独添加 K<sub>2</sub>tart 后得到的 CaOxa 晶体除了 60% 左右的 COM 外, 还出现 32% 的棒状 COT 和 8% 的 COD (图 1(c)). 相应 XRD 谱见图 2b 和 2c.

这此羧酸钾诱导 COD 和 COT 形成与其分子结构密切相关. 它们均含有多个带负电荷的羧酸根, 能与 Ca<sup>2+</sup> 离子配位, 尤其相距 3 个 C-C 键长度的多羧酸基能与带正电荷的 COM 的 (101) 晶面键合, 封闭 COM 的活性生长位点, 抑制 COM 的临界成核, 从而促进 COD 和 COT 形成<sup>[9]</sup>.

不同结构羧酸钾诱导 COD 和 COT 形成的能力差异 (表 1) 部分归因于其与 Ca<sup>2+</sup> 离子形成配合物的能力不同. edta<sup>2-</sup>、cit<sup>3-</sup>、tart<sup>2-</sup> 与 Ca<sup>2+</sup> 离子形成 1:1 配合物时的稳定常数 (K<sub>s</sub>)<sup>[10]</sup> 分别为 10<sup>11.0</sup>、10<sup>4.68</sup> 和 10<sup>2.98</sup>, K<sub>s</sub> 愈大, 添加剂愈容易强烈地抑制 COM 生长, 并诱导 COD 和 COT 形成. tart<sup>2-</sup> 由于可以形成双配体配合物 [Ca(tart)<sub>2</sub>]<sup>2-</sup>, 其累积稳定常数<sup>[11]</sup> 为 10<sup>9.01</sup>, 这使得 K<sub>2</sub>tart 对 COT 和 COD 的诱导能力大于 K<sub>3</sub>cit.

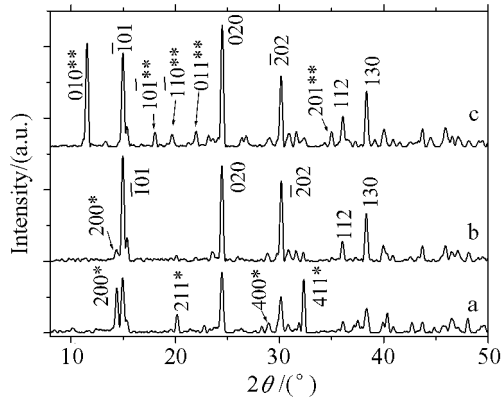


图 2 凝胶体系中单一羧酸钾对 CaOxa 结晶影响的 XRD 谱

Fig. 2 XRD patterns of CaOxa crystals grown in the presence of various potassium carboxylates in gel system

(a)  $K_2\text{edta}$ ; (b)  $K_3\text{cit}$ ; (c)  $K_2\text{tart}$ . Crystal faces with one asterisk show COD, with two asterisks COT, and without an asterisk COM

### 3.2 混合羧酸钾对 CaOxa 结晶的影响

添加混合羧酸钾后得到的 CaOxa 晶体表现出两种羧酸钾盐的加权影响. 图 3 为  $K_2\text{edta}$  与不同量  $K_2\text{tart}$  或  $K_3\text{cit}$  混合后 CaOxa 结晶的 SEM. 在  $K_2\text{edta}$ - $K_2\text{tart}$  混合体系中(图 3(a)、(b)), 均同时生成 COM、COD 和 COT 三种晶体. 当  $K_2\text{edta}$ : $K_2\text{tart}$  为 4:1 时, 主要表现为  $K_2\text{edta}$  的抑制作用, 生成 51% 左右的四方锥形 COD, 43% 的团状 COM 聚集体,

6% 的棒状 COT(图 3(a)); 随着  $K_2\text{tart}$  百分含量增加,  $K_2\text{tart}$  表现的影响逐渐增强, 导致 COD 含量减少, COT 含量增加; 至  $K_2\text{edta}$ : $K_2\text{tart}$  为 1:4 时, COD 含量减少至 34%, COT 含量增加至 42%(图 3(b)). 但只要是混合制剂, 其诱导的 COD 和 COT 含量之和均大于单一钾盐, 而 COD、COT 与尿路细胞膜的粘附作用均小于 COM, 容易随尿液排出体外<sup>[12]</sup>, 因此混合剂的防石效果有可能优于单一钾盐.

表 1 不同结构羧酸钾及其混合物对草酸钙结晶的影响

Table 1 Effect of potassium carboxylates and their mixture on crystal growth of CaOxa in gel system (Crystallization time: 15d, temperature: 37°C, additive concentration: 0.1mol/L)

Additive	COM/%	COD/%	COT/%
$K_2\text{edta}$	52	48	0
$K_3\text{cit}$	90	10	0
$K_2\text{tart}$	60	8	32
$K_2\text{edta}$ - $K_2\text{tart}$ (4:1)	43	51	6
$K_2\text{edta}$ - $K_2\text{tart}$ (1:4)	24	34	42
$K_2\text{edta}$ - $K_3\text{cit}$ (4:1)	50	50	0
$K_2\text{edta}$ - $K_3\text{cit}$ (1:4)	68	32	0
$K_2\text{tart}$ - $K_3\text{cit}$ (1:4)	57	8	35
$K_2\text{tart}$ - $K_3\text{cit}$ (4:1)	45	0	55

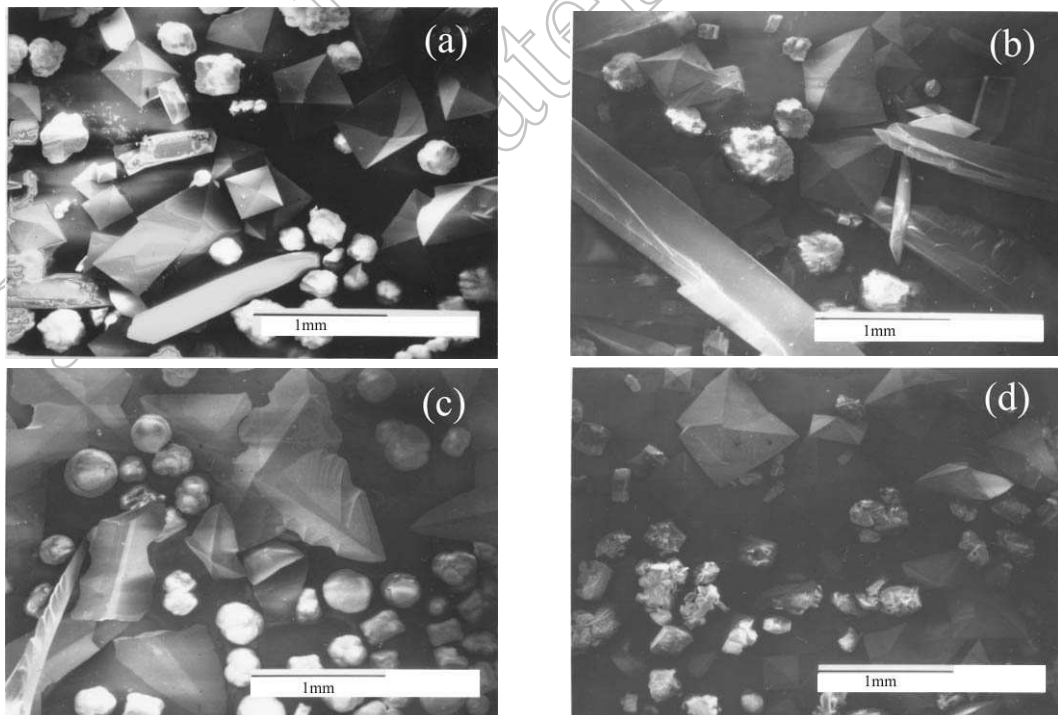


图 3 羧酸钾混合剂对 CaOxa 晶体生长影响的 SEM

Fig. 3 SEM images of CaOxa crystal growth in the presence of mixed potassium carboxylates (a)  $K_2\text{edta}$ : $K_2\text{tart}$ =4:1; (b)  $K_2\text{edta}$ : $K_2\text{tart}$ =1:4; (c)  $K_2\text{edta}$ : $K_3\text{cit}$ =4:1; (d)  $K_2\text{edta}$ : $K_3\text{cit}$ =1:4.

Crystallization time: 15d; Temperature: 37°C

对于  $K_2\text{tart}$ - $K_3\text{cit}$  混合物, 其结果与  $K_2\text{edta}$ - $K_2\text{tart}$  混合物相似. 无论  $K_2\text{tart}$ : $K_3\text{cit}$  等于 1:4 还是 4:1, 其混合钾盐诱导的 COD 和 COT 之和均大于单一钾盐 (表 1).

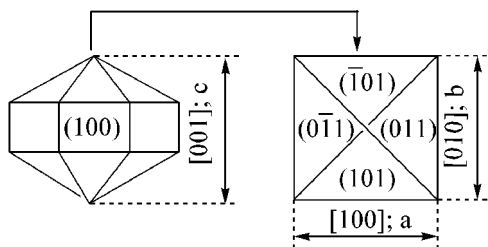


图 4 COD 形貌模拟图. 左图为典型的四角双锥形 COD 晶体, 右边为其俯视晶面图. 当其  $c$  轴方向生长受到抑制时则变异为树枝状晶体<sup>[11,14]</sup>

Fig. 4 Schematic representation of morphology of COD. Left shows representative tetragonal COD bipyramids, a partial faces of COD are drawn in right. The dendrites are considerably compressed along the  $c$ -axis

在  $K_2\text{edta}$ - $K_3\text{cit}$  混合体系中 (图 3(c)、(d)), 只出现 COM 和 COD 两相. 当  $K_2\text{edta}$ : $K_3\text{cit}$  为 4:1 时, 主要表现为  $K_2\text{edta}$  的抑制作用, 可以诱导约 50% 的 COD (图 3(c)), 且 COD 晶体尺寸从单一  $K_2\text{edta}$  作用下的  $2.28\text{mm} \times 1.71\text{mm}$  (图 1(a)) 减小至  $2.14\text{mm} \times 1.42\text{mm}$  (图 3(c)); COD 形貌处在树枝状与四方锥形貌之间但偏树枝状 (图 4c). 这种螺旋式生长的 COD 晶体形貌与无尿石的正常人体尿液中的 COD 晶体的形貌极为相似<sup>[13]</sup>. 产生这种 COD 晶体的可能机理是: 当 COD 沿  $[100]$  方向 (即  $a$  轴方向) 和  $[010]$  方向 (即  $b$  轴方向) 均衡生长时 (图 4), 得到四方锥形的 COD, 而沿  $[001]$  方向 (即  $c$  轴方向) 晶体生长受到抑制时, 则导致这种树枝状 COD 生成<sup>[7,13]</sup>. 由于  $K_2\text{edta}$  与  $\text{Ca}^{2+}$  离子具有强配位能力, 可使体系中  $\text{Ca}^{2+}$  离子浓度降低, 从而使得富草酸根离子的 COD 的 (100) 晶面生长受到抑制<sup>[11]</sup>; 在混合的  $K_2\text{edta}$ - $K_3\text{cit}$  作用下, 混合羧酸盐可能与  $\text{Ca}^{2+}$  离子具有某种特定的螯合作用, 引起不同晶面的生长速率改变, 使树枝状 COD 进一步发生形貌变异, 导致在晶体表面出现众多的成脊状延伸的皱纹. 临床发现, 当四方锥形 COD 从尿液中成核并粘附于肾小管上皮细胞时, COD 晶体以 (100) 面选择性地吸附肾小管上皮细胞, 24h 就能深入质膜<sup>[14]</sup>. 因此, 这种在  $c$  轴方向受到压缩、(100) 晶面减小的变形 COD 有利于防止 COD 在尿路细胞膜上的粘附, 减少尿石形成的几率. 随着  $K_3\text{cit}$  含量增加, 生成的 COD 含量减少, 且晶

体尺寸亦减小. 至  $K_2\text{edta}$ : $K_3\text{cit}$  为 1:4 时, 只能诱导 32% 左右的 COD 生成, 但晶体尺寸进一步减小至  $0.86\text{mm} \times 0.86\text{mm}$  (图 3(d)); COD 形貌与单独使用  $K_3\text{cit}$  作用时相似, 晶面变得十分清楚 (图 3(d)). 和单一  $K_2\text{edta}$  或  $K_3\text{cit}$  相比,  $K_2\text{edta}$ - $K_3\text{cit}$  混合剂减小了 COM 的尺寸, 亦有利于防止草酸钙尿石形成.

## 4 结论

以硅凝胶为模拟体系, 比较研究了不同比例  $K_2\text{edta}$ 、 $K_3\text{cit}$  和  $K_2\text{tart}$  两两混合时对尿石矿物  $\text{CaOxa}$  晶体不同晶相和稳定性的影响. 混合钾盐或者能够诱导比单一钾盐更多的 COD 和 COT 晶体, 或者可以显著减小 COM 的尺寸, 或者使 COD 的 (100) 晶面减小, 这些变化或有利于减小草酸钙与肾小管细胞膜的粘附, 或降低其硬度和脆性, 有利于 ESWL 碎石. 表明混合剂的防石效果优于其单一钾盐. 本结果有可能为临床上使用混合钾盐治疗尿石病提供参考.

## 参考文献

- [1] 张学骞, 王建方, 吴文健, 等 (ZHANG Xue-Ao, *et al.*). 无机材料学报 (Journal of Inorganic Materials), 2006, **21** (2): 257-266.
- [2] Sheng X X, Jung T S, Wesson J A, *et al.* PNAS, 2005, **102** (2): 267-272.
- [3] Ouyang J M, Deng S P, Zhou N, *et al.* Coll. Surf. A, 2005, **256** (1): 21-27.
- [4] Ouyang J M, Deng S P, Li X P, *et al.* Science in China, Ser. B, 2004, **47** (4): 311-319.
- [5] Dormia E, Dormia G, Malagola G, *et al.* J. Urol., 2003, **170** (4): 1105-1110.
- [6] Gvozdev N V, Petrova E V, Chernevich T G, *et al.* J. Cryst. Growth, 2004, **261**: 539-548.
- [7] Cody A M, Cody R D. J. Cryst. Growth, 1995, **151**: 369-374.
- [8] Hembach D, Kourambas J, Zhong P, *et al.* J. Urol., 2004, **171** (5): 1791-1801.
- [9] Cody A M, Cody R D. J. Cryst. Growth, 1994, **135**: 234-245.
- [10] Dean J A, McGraw H. Lange's Handbook of Chemistry, 13th Edn., 1985, edta (pp. 5-16), citric acid (pp. 5-46), tartaric acid (pp. 5-50).
- [11] Jung T, Kim W S, Choi C K. Mater. Sci. Eng. C, 2004, **24**: 31-33.
- [12] 欧阳健明, 段 荔, 何建华 (OUYANG Jian-Ming, *et al.*). 化学学报 (Acta Chim Sinica), 2003, **61**: 1597-1602.
- [13] Walton R C, Kavanagh J P, Heywood B R, *et al.* J. Cryst. Growth, 2005, **284**: 517-529.
- [14] Lieske J C, Toback F G, Deganello S. Calcif. Tissue Int., 1996, **58**: 195-200.