

草酸钙的结晶动力学及不同种类羧酸盐的影响

李君君^{1,2} 杨 锦² 夏志月² 欧阳健明^{*2}

(¹ 广东药学院药科学院, 广州 510006)

(² 暨南大学生物矿化与结石病防治研究所, 广州 510632)

摘要: 通过检测体系中游离 Ca^{2+} 离子浓度及草酸钙(CaOxa)的粒径随时间的变化, 研究了 CaOxa 的结晶动力学及 3 种羧酸盐对 CaOxa 结晶动力学的影响, 这些羧酸盐为: 一元羧酸盐甘氨酸钠(NaGlu)、二元羧酸盐酒石酸钠(Na_2Tart)和三元羧酸盐柠檬酸三钠(Na_3Cit)。在生理盐水中 CaOxa 的结晶动力学方程为 $r = kc^{3.3 \pm 0.3}$, 平均反应速率常数($\bar{k}$)为 $(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$; 3 种抑制剂对 k 的影响程度从大到小为: $\text{Na}_3\text{Cit} > \text{Na}_2\text{Tart} > \text{NaGlu}$, 但其平均反应级数($\bar{\alpha}$)相差不大, $\bar{\alpha} = 3.2 \pm 0.1$ 。 Na_3Cit 、 Na_2Tart 可抑制 CaOxa 晶体的生长和聚集过程, 是潜在的肾结石抑制剂。

关键词: 草酸钙; 结晶动力学; 羧酸盐; 反应级数; ζ 电位

中图分类号: O614.23⁺1; O643.13⁺2; O743⁺3

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2012)06-1091-08

Crystallization Kinetics of CaOxa and the Influence of Different Carboxylic Acid Salt

LI Jun-Jun^{1,2} YANG Jin² XIA ZHI-Yue² OUYANG Jian-Ming^{*2}

(¹ College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China)

(² Institute of Biomineralization and Lithiasis Research, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The kinetics of calcium oxalate (CaOxa) crystallization and the effect of three carboxylates were studied by determining the changes of free Ca^{2+} ions concentration and the size of CaOxa crystallites with the reaction time. These carboxylates were monocarboxylic acid salt (NaGlu), dicarboxylic acid salt (Na_2Tart), and tricarboxylic acid salt (Na_3Cit), respectively. The dynamics equations of calcium oxalate crystallization in normal saline was $r = kc^{3.3 \pm 0.3}$, the average reaction rate constant ($\bar{k}$) was $(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$. The effect of three inhibitors on k values was in the order from large to small: $\text{Na}_3\text{Cit} > \text{Na}_2\text{Tart} > \text{NaGlu} > \text{blank}$. However, there is little difference for the average reaction order ($\bar{\alpha}$) value and $\bar{\alpha} = 3.2 \pm 0.1$. Since Na_3Cit and Na_2Tart can inhibit the growth and aggregation of CaOxa crystals, they may be potential inhibitors for formation of kidney stones.

Key words: calcium oxalate; crystallization kinetics; carboxylate; reaction order; ζ potential

肾结石是人体内的病理矿化所致, 其主要组分为草酸钙(CaOxa)。 CaOxa 结石的形成涉及微晶的成核、生长、聚集和粘附等过程。由于人体内部环境相当复杂, 很难在原位进行观测, 因此一般都采取体外模拟的方法来研究 CaOxa 的成核、生长、聚集及各种抑制剂对这些过程的影响, 这些体外模拟体系包括水^[1]、尿液^[2-3]、合成尿^[4]、膜模拟体系^[5]和肾上皮细胞表面^[6]等。

前人在进行 CaOxa 结晶过程的动力学研究时, 常常采用光密度(OD 值)法^[7]、微量热法^[8]和动力学恒组分法^[9]等方法。例如, Kulaksizoglu 等^[7]通过测定体系在 620 nm 时的光密度(OD 值), 研究了柠檬酸三钠、柠檬汁和橙汁对一水草酸钙(COM)晶体生长的影响, 它们均能抑制 COM 晶体的成核和聚集, 归因于柠檬酸中带负电的羧基能够快速的吸附在 CaOxa 晶体的表面, 使得溶液中形成的亚临界晶核

收稿日期: 2011-12-21。收修改稿日期: 2012-02-21。

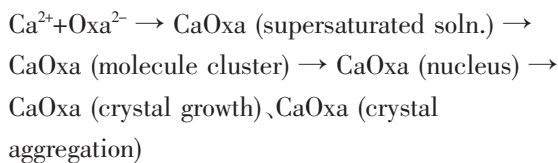
国家自然科学基金(No.81170649)和广东省科技攻关课题(No.2009B030801236)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: toyjm@jnu.edu.cn

又逐步溶解。沈玉华等^[10]通过跟踪体系中 Ca^{2+} 浓度的变化,研究了 Mg^{2+} 、赖氨酸和醋酸对 CaOxa 结晶动力学的影响,表明在生理盐水体系中,它们均对 CaOxa 的结晶生长起抑制作用。童华等^[8]采用微量热法、X 射线衍射(XRD)及扫描电镜(SEM)法研究了 Sm^{3+} 对 CaOxa 结晶过程动力学的影响效应,证实 Sm^{3+} 对 CaOxa 晶体初期成核以及晶体生长有抑制作用。Nancollas 等^[11]采用恒组分法研究了在柠檬酸盐存在下 COM 的结晶动力学过程,发现 COM 的生长速率依赖于溶液的过饱和度以及柠檬酸盐的浓度。在 COM-柠檬酸盐体系中,COM 的结晶行为符合经典的 Cabrera-Vermilyea 模型;当过饱和溶液的相对过饱和度(RS)分别为 21.43 和 24.65,且存在比表面积为 $3.3 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ 的 COM 种晶时,COM 的生长速率分别为 4.77×10^{-6} 和 $1.97 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$;当柠檬酸盐浓度为 $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对 COM 晶体的生长速率无显著影响,但当柠檬酸盐浓度增至 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,对 COM 晶体生长的抑制能力分别为 50% 和 93%。即:柠檬酸盐吸附在 COM 晶体表面的扭折处(kinks)、边缘以及台阶表面,阻碍台阶的生长,从而降低其生长速率。

同上述方法相比,电极法是采用离子选择电极,通过测量体系的电动势从而检测出溶液中离子的活度随时间的变化,电极法具有快速、灵敏度高、设备简单、用量少、可测范围宽(一般为 $10^{-5} \sim 10^{-1} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,个别可达 $10^{-8} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)等优点。通过对晶体结晶过程中不同时刻结晶体系的电极电位进行实时测量,不但可以研究结晶的动力学过程,而且可以计算过程中的物理化学参数变化。将电极法应用于研究 CaOxa 的结晶动力学过程及其参数测定还鲜有报道。

由于尿液体系很复杂,加上人体内其它因素的影响,因此,原位研究 CaOxa 结晶形成的动力学过程存在一定的难度^[12]。但是, CaOxa 晶体从过饱和的尿液中结晶析出时,其结晶过程可描述为:



由于当体系中 CaOxa 晶体析出时,溶液中游离的 Ca^{2+} 离子浓度会减少,因此,通过检测体系中 Ca^{2+} 离子浓度的下降速率可以研究其结晶速率。

尿液过饱和是尿结石形成的先决条件。而尿液

中存在的抑制物不但可以减小 CaOxa 的相对过饱和度(RS),而且可吸附在尿石盐晶体的表面,封闭尿石盐晶体表面的活性生长位点,改变晶体表面的电荷及能量分布,从而改变晶体生长的动力学过程。此外,晶体生长速率的减小还与其表面上有效生长点被抑制剂覆盖百分率成正比。对于羧酸类抑制剂,其所含的 COOH 数量会影响其与 Ca^{2+} 的配位能力^[13],预计其对 CaOxa 结晶动力学的影响程度也不同。因此,本文采用电极法研究了 CaOxa 的结晶动力学及一元、二元和三元羧酸钠的影响,探讨了其抑制机理,期望可为抑制 CaOxa 结石的形成提供实验依据。

1 实验部分

1.1 药品和仪器

甘氨酸钠(NaGlu)、酒石酸钠(Na_2Tart)、柠檬酸三钠(Na_3Cit)等化学品均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

232 型饱和 KCl 甘汞参比电极、PCa-1 型钙离子选择性电极和 PHS-3C 型精密 pH 计均购置于上海精密科学仪器有限公司;DF-II 集热式磁力加热搅拌器(江苏省金坛市医疗仪器厂);英国 Malvern 公司 Zetasizer Nano-ZS 型纳米粒度仪。

1.2 测量电池、电极电势和游离 Ca^{2+} 离子浓度测量

将钙离子电极与甘汞电极组成下述测量电池:

$\text{Hg}, \text{HgCl}_2 | \text{KCl (饱和)} | \text{试液} | \text{敏感膜} | 1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
钙标准液 $| \text{Ag}, \text{AgCl}$

其中试液为待测溶液;敏感膜是以二对异辛基苯基磷酸钙为活性材料的 PVC 膜。钙离子电极在使用前,先浸泡在 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 钙标准液中活化 24 h,再用去离子水清洗电极头部至空白值为 -65 mV 后使用。

钙标准溶液的配制:分别配制浓度为 100、10、1、0.1 和 $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 溶液,由于尿液的离子强度 $I=0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,故在生理盐水($0.15 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NaCl}$)中进行实验。将参比电极和钙电极分别接在精密 pH 计的正负极上,组成测量电池。在 pH 计上读出不同浓度钙标准溶液($c_{\text{Ca}^{2+}}$)所对应的 E 值,然后以 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}$ 为横坐标、 E 为纵坐标作图,得到 Ca^{2+} 离子标准曲线。

1.3 不同过饱和度(RS)的 CaOxa 溶液配制

尿液中的钙有两种形式:配合钙(如蛋白结合钙、有机酸结合钙)和游离钙。但只有游离钙才具有

生理活性,游离钙的浓度也是影响结石形成的重要因素之一。根据 Von Weimarn 经验公式, $(Q-s)/s$ 为沉淀开始时瞬间的相对过饱和度(RS),其中 Q 为加入沉淀剂瞬间沉淀物质的浓度, s 为开始沉淀时沉淀物质的溶解度, $Q-s$ 为沉淀开始瞬间的过饱和度。根据文献^[14],男女尿液中的离子钙分别为 $(48.2 \pm 25.5) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ [$(1.21 \pm 0.64) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$] 和 $(42.2 \pm 21.1) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ [$(1.06 \pm 0.53) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$], Oxa^{2-} 的浓度为 $(0.53 \pm 0.20) \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[15],因此,男女尿液中的 CaOxa 的 RS 分别为 15.25 ± 10.81 和 14.21 ± 9.75 。基于上述 RS 范围考虑,本实验在生理盐水中配制浓度分别为 1.2 、 1.0 和 $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 3 种 CaOxa 过饱和溶液,即 $c_{\text{Ca}^{2+}} = c_{\text{Oxa}^{2-}} = 1.2$ 、 1.0 和 $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。根据 $K_{\text{sp}}(\text{CaOxa}) = 2.32 \times 10^{-9}$,这些溶液的 RS 分别为 23.91、19.76 和 15.61。

1.4 CaOxa 的结晶动力学研究

以 RS=19.76 的 CaOxa 过饱和溶液为例:取 5 mL $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 溶液与 40 mL 生理盐水混合均匀,在匀速搅拌下,迅速加入 5 mL $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ K_2Oxa 溶液。然后测定溶液中 Ca^{2+} 的 E 值随时间(t)的变化,再由线性回归方程计算出溶液中游离 Ca^{2+} 的平均浓度 $c_{\text{Ca}^{2+}}$,实验温度 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。实验重复 3 次。

1.5 不同抑制剂对 CaOxa 结晶动力学的影响

同上实验,在 RS=15.61 的 CaOxa 过饱和溶液中,分别加入 NaGlu 、 Na_2Tart 或 Na_3Cit ,其最终浓度为 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。反应不同时间 ($t=1$ 、5、10、20、40、60 min)后对溶液抽样,采用纳米粒度仪检测体系中 CaOxa 微晶的粒径和 ζ 电位。在反应过程中用浓度为 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的稀 HCl 或稀 NaOH 溶液维持体系的 $\text{pH}=6.0 \pm 0.02$ 。取 3 次结果的平均值。

1.6 COM、COD、COT 百分含量的定量计算

采用 XRD 作定量分析时,按照文献^[16]方法计算一水草酸钙(COM)、二水草酸钙(COD)和三水草酸钙(COT)的百分含量。以 COM 为例,其百分含量为:

$$\text{COM}\% = \frac{I_{\text{COM}}}{I_{\text{COM}} + I_{\text{COD}} + I_{\text{COT}}}$$

式中 I_{COM} 、 I_{COD} 和 I_{COT} 分别为 COM、COD 和 COT 最强衍射峰的强度,实验误差一般在 5% 以下。

2 结果与讨论

2.1 钙离子电极的标准曲线及 pH 的影响

在浓度为 $0.1 \sim 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,钙离子电极对 Ca^{2+} 离子有较理想的能斯特响应和较好的重现性。其线性回归方程为: $E = 67.5 + 28.3 \lg c_{\text{Ca}^{2+}}$, 相关系数

为 0.9999。

调节 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 钙标准溶液的 pH 值分别为 4、5、6、7、8 和 9,并逐一测定其 E 值,3 次结果平均值依次为 -23.5 、 -22 、 -21.5 、 -21.5 、 -21.5 和 -24.5 mV 。即:在 pH 为 5~8 范围内, E 值比较稳定;但当 $\text{pH} < 5$ 或 $\text{pH} > 8$ 时偏离较大。这是由于在 $\text{pH} < 5$ 的体系中, H^+ 浓度较大,对钙离子选择性电极的选择性有着明显的干扰;而在 $\text{pH} > 8$ 的体系中, OH^- 浓度较大,高浓度的 OH^- 与 Ca^{2+} 形成难离解的 $\text{Ca}(\text{OH})_2(\text{aq})$ 甚至 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 沉淀。本实验体系的 $\text{pH}=6.0 \pm 0.02$,在此 pH 范围内,不但 E 值稳定,而且 pH 处在尿液的 pH 变化范围之内。

2.2 CaOxa 的结晶动力学

(1) CaOxa 结晶过程动力学方程的建立:为了建立 CaOxa 结晶的动力学方程,在按等物质的量配制的 CaOxa 过饱和溶液中,假设 Ca^{2+} 与 Oxa^{2-} 等量反应,则反应速率(r)方程为:

$$\begin{aligned} \text{Ca}^{2+} + \text{Oxa}^{2-} &= \text{CaOxa} \\ r &= k c_{\text{Ca}^{2+}}^p c_{\text{Oxa}^{2-}}^q \end{aligned} \quad (1)$$

假设 x 为 t 时刻 Ca^{2+} 或 Oxa^{2-} 的消耗量,且 $p+q=\alpha$,由于 $c_{\text{Ca}^{2+}} = c_{\text{Oxa}^{2-}} = c$,且按等比反应,对(1)整理得:

$$r = k c^\alpha = k(a-x)^\alpha \quad (2)$$

因为:

$$r = -\frac{dc_{\text{Ca}^{2+}}}{dt} = -\frac{d(a-x)}{dt} = \frac{dx}{dt} \quad (3)$$

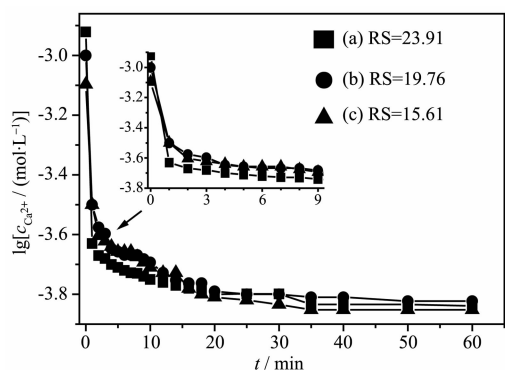
结合(1)、(2)、(3)式,并两边取对数,整理得:

$$\lg r = \lg \frac{dx}{dt} = \lg k + \alpha \lg(a-x) \quad (4)$$

式中 a 、 c 为溶液中初始($t=0$)、 t 时刻的游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), x 为 t 时刻溶液中 Ca^{2+} 的消耗量 ($\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), α 为反应的级数, k 为反应速率常数。由(4)式可知, $\lg r$ 与 $\lg(a-x)$ 呈线性关系,直线的斜率即为反应的级数 α ,截距为 $\lg k$,进而可求得反应的速率常数 k 。

(2) 反应速率常数与反应级数的测定:图 1 所示为在 3 种不同 RS 的 CaOxa 溶液中,游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 随反应时间(t)的变化。可见,体系中 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}$ 均随反应时间的延长而下降,且在 0~10 min 下降较快,20 min 后下降趋于缓和。这是由于在反应初期,溶液的 RS 较大, CaOxa 大量成核,导致 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 快速下降。20 min 后 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 下降较慢,表明此时体系中 CaOxa 已接近沉淀-溶解平衡。

在过饱和的尿液中,尿石盐成核是尿结石形成

图 1 在不同 RS 的 CaOxa 溶液中 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}-t$ 关系图Fig.1 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}-t$ curves in CaOxa solution with different relative supersaturation degree (RS)

的第一步。若假设形成的临界晶核为球形,临界半径 r ,则晶核形成的 Gibbs 自由能($\Delta G_r'$)可描述为^[17]:

$$\Delta G_r' = 16\pi V^2 \sigma^3 / [3(KT \ln RS)^2] \quad (5)$$

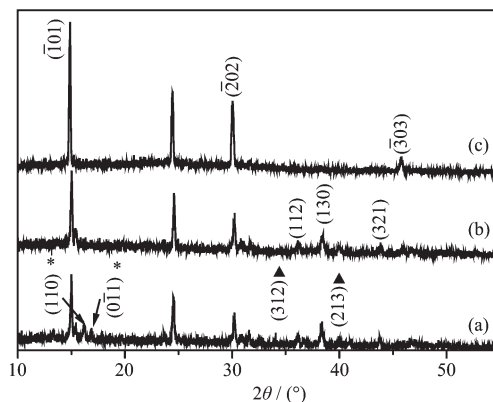
其中 σ 为单位表面的表面能; V 为物质的量体积; RS 为溶液的相对过饱和度。

上式(5)表明, $\Delta G_r'$ 与 $\ln RS$ 的平方成反比。随着反应时间的延长,溶液中被消耗的 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 迅速增加。例如,在 $t=15$ min 时,体系中游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 分别由 1.2、1.0、0.8 mmol·L⁻¹ 减小到 0.18、0.17 和 0.17 mmol·L⁻¹, RS 也由反应前的 23.91、19.76 和 15.61 分别下降至 2.74、2.53 和 2.53; $t=60$ min 时 RS 则分别降至 1.81、2.12 和 1.92。由于 $RS < 10$ 的 CaOxa 溶液不会自发结晶,因此,15 min 后 CaOxa 的自发成核在热力学上不可能进行,故反应初期 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}$ 随时间的下降主要是归因于 CaOxa 的成核。晶体的成核速率不但与溶液的 RS 成正比^[18],并与 $\exp[-\Delta G_r'/(KT)]$ 成正比^[19]。

图 2 为在 3 种不同 RS 的 CaOxa 过饱和溶液中所形成晶体的 XRD 图。当 $RS=15.61$ (图 2c) 和 19.76 (图 2b) 时,只检测到归属于一水草酸钙(COM)的衍射峰,其晶面间距 d 分别在 0.590、0.362、0.296、0.248、0.235、0.207 和 0.198 nm,依次归属于 COM 的 ($\bar{1}01$)、($\bar{0}20$)、($\bar{2}02$)、(112)、(130)、(321) 和 ($\bar{3}03$) 晶面 (ASTM 卡号: 20-0231)。

而当 $RS=23.91$ 时 (图 2a),除检测到 COM 的衍射峰外,还检测到 $d=0.546$ 、0.525 nm 归属于三水草酸钙(COT)的 (110)、($\bar{0}11$) 晶面 (ASTM 卡号: 20-0232) 和 $d=0.263$ 、0.220 nm 归属于二水草酸钙 (COD) 的 (312)、(213) 晶面的衍射峰 (ASTM 卡号: 20-0233)。定量计算表明,COM、COD、COT 分别占 60.7%、17.9%、21.4%。前文^[19]报道,以结石患者的稀释尿液为介质,

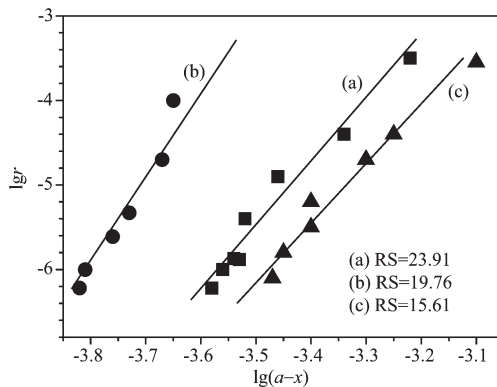
在 $RS=23.91$ 的 CaOxa 溶液中结晶 1 d 后,同时形成了 COM、COT 两种晶相;本实验在生理盐水体系中反应 15 min 后,亦同时出现了 COT、COD 和 COM。这表明,在 RS 较高的 CaOxa 溶液中,容易生成热力学不稳定的晶相 COD 和 COT,且常常得到 COT 和 COD 的混合物^[20]。而在 RS 为 19.76 和 15.61 的 CaOxa 溶液中,则形成热力学稳定的 COM。由 Ostwald 规则可知,当某种物质的几种晶相都可能生成时,则具有较高溶解度的晶相在动力学上有利的,由于 CaOxa 3 种晶相的溶解度大小顺序为: $\text{COT} > \text{COD} > \text{COM}$ ^[21],因此,COT 优先生成;实际上,COT 常常是 CaOxa 结石形成过程中的先驱体^[20]。



(a) 23.91; (b) 19.76; (c) 15.61; Peaks with * represent COT, ▲ represent COD, and without mark represent COM

图 2 在不同 RS 的 CaOxa 溶液中形成晶体的 XRD 图
Fig.2 XRD patterns of CaOxa crystallites formed in CaOxa solution with different RS

采用微分法,以 Ca^{2+} 消耗量 ($x_{\text{Ca}^{2+}}$) 对反应时间 (t) 作图,曲线上任意一点的斜率 (由 Origin 数据分析软件求导所得) 即为该反应的速率 (r)。然后以 $\lg r$ 对 $\lg(a-x)$ 作图 (图 3),所得直线的斜率即为该反应的级数 (α);通过截距 ($\lg k$) 可求得反应速率常数 (k),其结

图 3 不同 RS 的 CaOxa 溶液中 $\lg r-\lg(a-x)$ 关系图Fig.3 $\lg r-\lg(a-x)$ curves in CaOxa solution with different RS

果均见表1。可以看出,虽然CaOxa溶液的RS不同,但其 α 相差不大,而 k 略有不同。根据Eyring公式: $k = \frac{k_B T}{hc} e^{-\Delta G_r'/(RT)}$ 可知, $\Delta G_r'$ 越小, k 越大。COT比COD和COM的溶解度大,且水合草酸钙的溶解速率常数(k')大小顺序为 $k'_{\text{COT}} > k'_{\text{COD}} > k'_{\text{COM}}$ ^[5],因此,COT的临界晶核形成自由能 $\Delta G_r'$ 比COD和COM的小;由于溶液中CaOxa晶体的形成和溶解是一个动态平衡过程,则形成不同晶相的反应速率常数 k 的大

小顺序为: $k_{\text{COT}} > k_{\text{COD}} > k_{\text{COM}}$ 。这一结果与XRD结果(图2)一致,因为在RS=23.91时,体系中同时形成了COM、COD和COT;而当RS为19.76和15.61时,溶液中均只存在COM。因此,在RS=23.91时得到的 k 值(4.9×10^9)比RS=19.76和15.61时的大;且后两者的 k 值差异不大,分别为 2.1×10^9 和 2.3×10^9 。

综上所述,在生理盐水中,CaOxa结晶动力学的平均反应级数($\bar{\alpha}$)为 3.3 ± 0.3 ,平均反应速率常数($\bar{k}$)为 $(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$ 。

表1 不同RS的CaOxa过饱和溶液在结晶时的反应级数及反应速率常数

Table 1 Reaction orders and rate constants of CaOxa crystallization in supersaturated solution with different RS

$c_{\text{Ca}^{2+}} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	1.20	1.00	0.80
$c_{\text{Oxa}^{2-}} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	1.20	1.00	0.80
$c_{\text{Ca}^{2+}} \cdot c_{\text{Oxa}^{2-}} / (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})^2$	1.44	1.0	0.64
RS	23.91	19.76	15.61
Reaction order (α)	3.2 ± 0.2	3.3 ± 0.1	3.4 ± 0.1
Average reaction order ($\bar{\alpha}$)	3.3 ± 0.3		
Reaction rate constant (k)	4.9×10^9	2.1×10^9	2.3×10^9
Average reaction rate constant ($\bar{k}$)	$(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$		

2.3 不同抑制剂对CaOxa结晶动力学的影响

2.3.1 甘氨酸钠的影响

图4A为加入 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同羧酸钠后,体系中 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}$ 随时间变化的曲线。与空白组(图4A(a))相比较,加入NaGlu后(图4A(b)),在1~15 min内,其游离的 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 比空白组小,这是由于加入NaGlu后,

不仅 Oxa^{2-} 与 Ca^{2+} 结合形成CaOxa沉淀, Glu^- 也会与 Ca^{2+} 配位,从而导致在反应的初始的阶段,游离的 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 较小。15 min后,两者差异不大,说明此时NaGlu对CaOxa的结晶动力学影响较小。

晶体成核速率与溶液中CaOxa的RS成正比。在反应初期,由于溶液的RS较大,CaOxa晶核形成

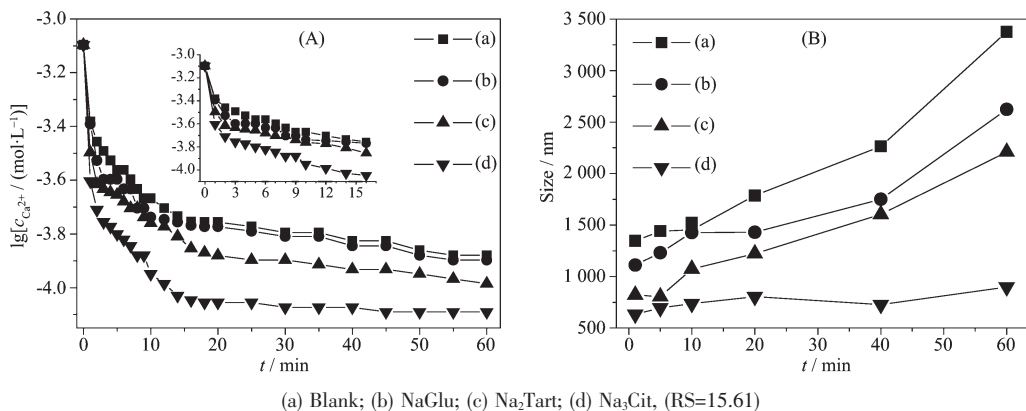


图4 加入 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同抑制剂后CaOxa过饱和溶液中的 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}-t$ 变化曲线(A)和CaOxa粒径随时间的变化图(B)
Fig.4 (A) $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}-t$ curves and (B) the sizes of CaOxa crystallites over time in CaOxa solution in presence of different inhibitors of $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

的 Gibbs 自由能 $\Delta G_r'$ 很负, 此时形成晶核所需跨越的能垒较低, 成核速率较快; 但随着反应的进行, CaOxa 的 RS 逐渐减小, 成核速率减慢。

采用纳米粒度仪(图 4B)研究了加入 NaGlu 后 CaOxa 粒径随时间的变化(图 4B(b))。在前 10 min 内, CaOxa 微晶的平均粒径 ($\bar{d}$) 由 1 111 nm 增加到 1 426 nm, 60 min 时, 其 $\bar{d}$ 增加至 2 623 nm; 而空白组在 60 min 时的 $\bar{d}$ =3 377 nm, 粒径增加归因于在反应后期微晶的生长和聚集所致。

加入 NaGlu 后, 反应 60 min 所形成的 CaOxa 微晶的 ζ 电位为 $-(1.58 \pm 0.19)$ mV, 小于空白组的 (1.41 ± 0.16) mV。

由以上分析可知, 在反应初期, CaOxa 是以成核为主, 而在反应后期, CaOxa 以生长和聚集为主。

2.3.2 酒石酸钠的影响

图 4A(c)为在 Na_2Tart 存在下 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}$ 随反应时间的变化曲线, 可见其游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 比空白组和 NaGlu 组均小。 Na_2Tart 为二元羧酸盐, 其与 Ca^{2+} 的配位能力强于 NaGlu。 Oxa^{2-} 与 Ca^{2+} 螯合时形成 1:1 的配合物, 其稳定常数(K_s)为 10^{30} ; 而 Tart^{2-} 与 Ca^{2+} 螯合时, 形成 2:1 的配合物^[22], K_s 为 $10^{9.01}$ 。由于在溶液中生成 CaOxa 微晶的必要条件为: $c_{\text{Ca}^{2+}} c_{\text{Oxa}^{2-}} \geq K_{\text{sp}}$, 而加入 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Na_2Tart 后, 不但导致 $\text{Ca}^{2+} + \text{Oxa}^{2-} \rightleftharpoons \text{CaOxa}$ 平衡向左移动, 即 CaOxa 溶解, 而且体系中的游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 由最初的 $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 显著下降至 15 min 后的 $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (图 4A(c))。

加入 Na_2Tart 并反应 10 min 后, CaOxa 微晶的 $\bar{d}$ 由 1 min 时的 821 nm 增加到 1 073 nm(图 4B(c)), 增幅不大; 而反应 60 min 后, $\bar{d}$ =2209 nm, 其 ζ 电位为 $-(2.73 \pm 0.17)$ mV, 说明 Na_2Tart 对 CaOxa 晶体的成核、生长及聚集均有抑制作用, 且其抑制能力大于 NaGlu。

2.3.3 柠檬酸三钠的影响

图 4A(d)为在 Na_3Cit 存在下 $\lg c_{\text{Ca}^{2+}}$ 随时间的变化曲线, 其游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 比加入 NaGlu、 Na_2Tart 的要小得多。其原因是由于 Na_3Cit 为三元羧酸盐, 在 pH=6.0 时可以与 Ca^{2+} 形成含有一个五元环和一个六元环的配合物(柠檬酸钙), 其 $K_s=10^{4.68}$, 大于 CaOxa 的 K_s ($10^{3.0}$)^[22], 且形成的柠檬酸钙在水中的溶解度很大。实际上, 在加入 $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Na_3Cit 后, 即使反应 60 min 肉眼仍然看不到体系中存在任何沉淀。

在反应 15 min 后, 体系中的游离 $c_{\text{Ca}^{2+}}$ 下降至

$0.09 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 远小于加入 NaGlu 和 Na_2Tart 后的 0.16 和 $0.14 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。这说明 Na_3Cit 与 Ca^{2+} 配位的能力强于 Na_2Tart 和 NaGlu。

在反应 60 min 后, CaOxa 的 $\bar{d}$ =897 nm (图 4B(d)), ζ 电位为 -3.82 ± 0.08 mV, 均比空白组的 $[3\ 377 \text{ nm}, (1.41 \pm 0.16) \text{ mV}]$ 小得多。说明 Na_3Cit 延缓了 CaOxa 的生长和聚集速度, 且其抑制 CaOxa 微晶成核、生长及聚集的能力均大于 Na_2Tart 和 NaGlu。

2.3.4 三种羧酸盐对 CaOxa 生长动力学影响的比较

表 2 列出了加入不同种类羧酸盐后 CaOxa 的结晶动力学参数。在加入 NaGlu、 Na_2Tart 或 Na_3Cit 后, 其 $\bar{k}$ 由空白组的 $(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$ 分别降低到 2.0×10^7 、 2.0×10^6 和 1.0×10^6 , 但其反应级数($\bar{\alpha}$)相差不大, $\bar{\alpha}=3.2 \pm 0.1$ 。由于 $\bar{k}$ 的大小直接反映了反应速率的快慢, 且与反应历程有关, 因此, 羧酸盐的加入, 改变了 CaOxa 的结晶动力学过程和反应历程。

表 2 在三种羧酸盐存在下 CaOxa 过饱和溶液在结晶时的平均反应级数($\bar{\alpha}$)及反应速率常数($\bar{k}$) (37°C)*

Inhibitor	Blank	NaGlu	Na_2Tart	Na_3Cit
$\bar{k}$	$(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$	2.0×10^7	2.0×10^6	1.0×10^6
$\bar{\alpha}$	3.3 ± 0.3	3.3	3.1	3.1
COM / %	100	100	12.5	—
COD / %	0	0	18.8	—
COT / %	0	0	68.7	—

* RS of CaOxa solution is 15.61, Concentration of carboxylates is $2.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

NaGlu、 Na_2Tart 和 Na_3Cit 对 CaOxa 生长动力学的抑制作用归因于如下原因:

(1) 它们可以附着在 CaOxa 晶体的活性生长位点处, 从而抑制 CaOxa 的生长和聚集; 特别是 Tart^{2-} 、 Cit^{3-} 中的羧基和羟基可以与 COM 晶体中一些晶面上的钙配位, 如 Tart^{2-} 、 Cit^{3-} 中的羧基间距离与 COM 的(101)晶面中的 Ca^{2+} - Ca^{2+} 距离较为匹配^[23], 因此, 阻止了 Oxa^{2-} 向该晶面迁移, 从而抑制了该晶面的生长(参见图 5c)。从衍射峰的强度也可以看出, 加入 Na_2Tart 后生成的 COM 的($\bar{1}$ 01)晶面的强度明显弱于加入 NaGlu 和空白组。Cody 等^[23]分析了面积为 $1.6 \text{ nm} \times 1.6 \text{ nm}$ 的 COM、COD 和 COT 的晶面, 对于负二价的酒石酸根离子, 在 COM 晶格中可找到 8

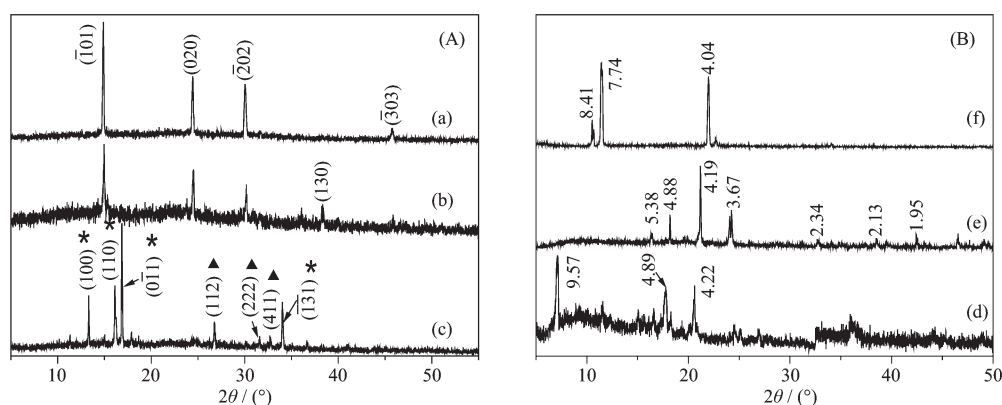


图5 不同抑制剂存在下 CaOxa 溶液中形成的晶体的 XRD 图(A)及 3 种抑制剂标准物的 XRD 图(B)
 (a) Blank; (b) 2.0 mmol·L⁻¹ NaGlu; (c) 2.0 mmol·L⁻¹ Na₂Tart, (RS=15.61); (d) NaGlu; (e) Na₂Tart; (f) Na₃Cit; For (a~c), the peaks with * represent COT, ▲ represent COD, and without mark represent COM

图5 不同抑制剂存在下 CaOxa 溶液中形成的晶体的 XRD 图(A)及 3 种抑制剂标准物的 XRD 图(B)

Fig.5 XRD patterns of CaOxa crystallites formed in presence of different inhibitors and those of the three kinds of inhibitors

个可能的吸附位点,在 COT 晶格中可找到 5 个,而在 COD 只有 3 个。由于 COM 在单元面积里包含较多的吸附位点,因此,COM 具有最强的吸附能力,这也是 Na₂Tart 和 Na₃Cit 抑制 COM、诱导 COD、COT 形成的本质所在。

(2) 本实验的弱酸性环境(pH=6.0±0.02)也有利于抑制 CaOxa 晶体的沉淀。因为在此 pH 时, H⁺可以与体系中的 Oxa²⁻结合形成 HOxa⁻,使得 Ca²⁺+Oxa²⁻⇌CaOxa 平衡向左移动,导致 CaOxa 晶体的生成速度以及沉淀量均减小。

(3) 在生理盐水体中,加入 Na₂Tart 和 Na₃Cit 后,由于 Tart²⁻、Cit³⁻中所含的 COO⁻与溶液中的 Ca²⁺配位,而 Ca²⁺又吸附溶液中的 Oxa²⁻,使得体系中局部 CaOxa 的 RS 比本体溶液的大,由公式(5)可知,RS 越大,形成晶核的 Gibbs 自由能(ΔG_r')越小,越容易成核。

此外,由于 COT、COD 和 COM 的溶解速率常数(k')大小为 k'_{COT}>k'_{COD}>k'_{COM}^[5],而形成不同晶相的反应速率常数 k 的大小顺序为(表 2):k_{COT}>k_{COD}>k_{COM},根据前述 Eyring 公式可知,临界晶核形成自由能 ΔG_r'为:ΔG_r'_{COT}<ΔG_r'_{COD}<ΔG_r'_{COM}。因此,Na₂Tart 和 Na₃Cit 的加入,抑制了体系中最先形成的 COT 和 COD 向 COM 的转化。

图 5 为加入不同抑制剂后形成的 CaOxa 晶体的 XRD 图。对照组(图 5a)和加入 NaGlu(图 5b)后均只检测到 COM (d=0.590、0.362、0.296、0.235、0.198 nm)的衍射峰,归属于 NaGlu 的主衍射峰(d=0.957 nm)和 2 个次衍射峰(d=0.489 和 0.422 nm)均消失(图 5d)。而加入 Na₂Tart 后,除检测到 COM 外,还检

测到归属于 COT 晶体 (d=0.664、0.546、0.525、0.264 nm 分别对应其(100)、(110)、(011)、(131)面)和 COD 晶体 (d=0.334、0.285、0.277 nm 分别对应其(112)、(222)、(411)面)的衍射峰(图 5c),定量分析表明,其组成比约为:COM:COD:COT=12:19:69;而归属于 Na₂Tart 的衍射峰(d=0.538、0.488、4.19、0.367、0.234、0.213、0.195 nm)均消失(图 5e)。

加入 Na₃Cit 后,不但 $\bar{k}$ 最小(1.0×10⁶),表明其反应速率最慢,而且一直没有观察到沉淀出现,说明 Na₃Cit 抑制 CaOxa 成核、生长和聚集的能力最强。

3 结 论

研究了 CaOxa 的结晶动力学及不同羧酸盐的影响。在 RS=15.61~23.91 范围内,CaOxa 的结晶动力学方程为 $r=k c^{3.3 \pm 0.3}$,平均反应级数 $\bar{\alpha}=3.3 \pm 0.3$,平均反应速率常数 $\bar{k}=(3.1 \pm 1.8) \times 10^9$ 。加入 NaGlu、Na₂Tart 和 Na₃Cit 后,其 $\bar{\alpha}=3.2 \pm 0.1$,差异不大,但 $\bar{k}$ 分别降低到 2.0×10^7 、 2.0×10^6 和 1.0×10^6 ,说明本实验中羧酸钠的加入降低了 CaOxa 的反应速率。不同抑制剂对抑制 CaOxa 成核、生长及聚集的能力为:Na₃Cit>Na₂Tart>NaGlu>空白组。

参考文献:

- [1] Jung T, Kim J N, Kim W S, et al. *J. Cryst. Growth*, **2011**, **327**(1):167-172
- [2] Atanassova S. *J. Cryst. Growth*, **2010**, **312**:1940-1944
- [3] WANG Ping(王萍), SHEN Yu-Hua(沈玉华), XIE An-Jian(谢安建). *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2010**, **26**(6):1089-1094

- [4] Saw N K, Chow K, Rao P N, et al. *J Urol.*, **2007**,**177**(6): 2366-2370
- [5] Guan X Y, Wang L J, Dosen A, et al. *Langmuir*, **2008**,**24**: 7058-7060
- [6] Ouyang J M, Yao X Q, Tan J, et al. *J. Biol. Inorg. Chem.*, **2011**,**16**(3):405-416
- [7] Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C. *Int. Urol. Nephrol.*, **2008**,**40**(3):589-594
- [8] LI Xia(李霞), TONG Hua(童华), WANG Zhi-Yong(王志勇), et al. *Acta Chim. Sin. (Huaxue Xuebao)*, **2006**,**64**(22):2225-2230
- [9] Wang L J, Guan X Y, Tang R K, et al. *J. Phys. Chem. B*, **2008**,**112**(30):9151-9157
- [10] XIE An-Jian(谢安建), MA Dong(马东), ZHU Jun(朱军), et al. *J. Anhui Univ.: Nat. Sci. (Anhui Daxue Xuebao Ziran Kexue Ban)*, **2007**,**31**(2):71-74
- [11] Wang L J, DeYoreo J J, Guan X Y, et al. *Cryst. Growth Des.*, **2006**,**6**(8):1769-1775
- [12] Rabadjieva D, Gergulova R, Titorenkova R, et al. *J Mater Sci Mater Med.*, **2010**,**21**(9):2501-2509
- [13] YANG Jin(杨锦), LI Jun-Jun(李君君), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), et al. *J. Inorg. Mater. (Wuji Cailiao Xuebao)*, **2010**,**25**(11):1185-1190
- [14] WU Xiu-Mei(吴秀梅), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), BAI Yu(白钰). *Guangdong Med. J. (Guangdong Yixue)*, **2005**,**26**(5):714-716
- [15] Robertson W G. *Nephron Physiol.*, **2004**,**98**(2):21-30
- [16] Donnet M, Jongen N, Lemaitre J, et al. *J. Mater. Sci. Lett.*, **2000**,**19**:749-750
- [17] Evans R C, Translated by HU Yu-Cai(胡玉才). *An Introduction to Crystal Chemistry (结晶化学导论)*. Beijing: People's Education Press, **1981**.
- [18] Lacmann R, Herden A, Mayer Chr. *Chem. Eng. Technol.*, **1999**,**22**(4):279-289
- [19] YAO Xiu-Qiong(姚秀琼), OUYANG Jian-Ming(欧阳健明), PANG Nai-Zhang(庞乃章). *J. Guangdong College Pharm. (Guangdong Yaoxueyuan Xuebao)*, **2005**,**21**(1):1-3
- [20] Bretherton T, Rodgers A. *J. Cryst. Growth*, **1998**,**192**:448-455
- [21] Tomazic B, Nancollas G H. *J. Cryst. Growth*, **1979**,**46**:355-361
- [22] Dean J A, McGraw H. *Lange's Handbook of Chemistry*. Beijing: Science Press, **1991**.
- [23] Cody A M, Cody R D. *J. Cryst. Growth*, **1994**,**135**:235-245
- [24] Ouyang J M, Deng S P, Tieke B, et al. *Colloids Surf. A*, **2005**,**256**(1):21-27