

ATP-Co²⁺-脱氧胆酸-凝胶体系的分形/周期沉淀

尹文萱^{1,2}, 刘玉峰², 赵莹³, 柏松延¹, 朱伟伟¹, 翁诗甫², 高庆宇¹, 吴瑾光^{2*}

1. 中国矿业大学化工学院, 江苏 徐州 221008
2. 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871
3. 中国科学院化学研究所, 北京 100080

摘要 在体外模拟胆结石形成的实验中, 选取腺苷-5'-三磷酸(ATP)-金属离子-脱氧胆酸(DC)凝胶体系进行了分形/周期有序结构的生长实验, 研究 ATP 对 Co²⁺-脱氧胆酸凝胶体系形成的分形/周期沉淀的影响, 用 FTIR 表征有序沉淀物的结构。结果表明: 在 ATP 存在下的 Co²⁺-DC 凝胶体系中, 可形成周期沉淀及分形结构共存的复杂时空图案, ATP 对 Co²⁺-脱氧胆酸凝胶体系形成的图案模式较 AMP 的影响显著, 体系的图案从分形模式转化为周期沉淀, ATP、脱氧胆酸钠、Co²⁺ 存在复杂的相互作用, 生成透明晶体新物质; 红外光谱结果显示该晶体为脱氧胆酸, 周期沉淀物为 ATP、DC 共同与金属离子配位的结果。此结果说明核苷酸作为重要的生命物质在结石形成过程中起到重要作用, 结石的形成具有复杂的、非线性化学特性。

关键词 胆结石; 分形; 周期沉淀; ATP; FTIR

中图分类号: O614.3; O657.3 **文献标识码**: A

DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)11-3101-05

引言

胆结石是人类一样古老的疾病, 现代的生活方式, 更增加胆结石病发生的几率^[1]。近年来, 胆结石剖面上的分形/周期并存的结构引起了人们的浓厚兴趣^[2]。胆结石中的周期沉淀现象是反应扩散体系中非线性现象产生的自组织有序结构, 它的出现告诉我们胆结石的生长过程存在着复杂的非线性过程, 为了了解胆结石中自组织有序沉淀的生长机理, 从 1989 年起吴瑾光课题组开始在金属离子-胆汁酸反应扩散体系中进行体外模拟试验, 在金属离子-胆汁酸反应扩散体系中确实可以产生类似于胆结石的、球形的三维周期沉淀结构^[3-9]。

由于胆汁中含有多种成分, 各种组分在结石形成中皆有可能发生作用, 使胆结石的形成机理更加复杂^[10,11]。核苷酸作为重要的生命物质, 我们在体外模拟胆结石的实验中, 选取 ATP 为研究对象, 考察其对 Co²⁺-DC⁻ 凝胶体系的影响。

脱氧胆酸、ATP(腺苷-5'-三磷酸)的结构分别见图 1 和图 2, ATP 与 AMP 相比, 磷酸根较多, 其中的 N 原子、O 原

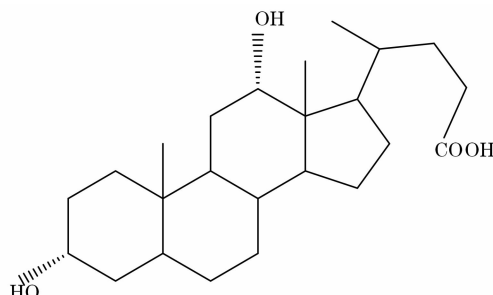


Fig. 1 The Structure of Deoxycholate Acid

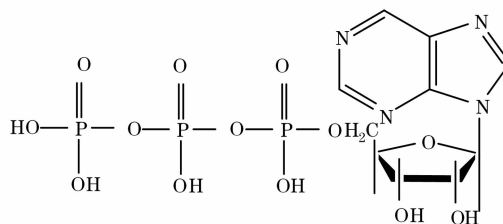


Fig. 2 The structure of ATP

子及多个 P=O 皆有可能与 Co²⁺ 的配位, 还可能与脱氧胆酸分子作用。我们研究了 ATP 加入方式对体系时空图案的

收稿日期: 2008-11-06, 修订日期: 2009-02-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(20573134), 教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-050477)和中国矿业大学校基金项目(2007B009)资助

作者简介: 尹文萱, 女, 1964 年生, 中国矿业大学化工学院副教授, 北京大学化学与分子工程学院访问学者 e-mail: ywx6499@163.com

* 通讯联系人 e-mail: wujg@pku.edu.cn

影响, 观察有序结构特征的变化, 用 FTIR 表征周期沉淀的组成, 了解该体系周期沉淀的结构特征, 从非线性理论理解周期沉淀, 这对胆结石的形成机理以及自然界中普遍存在的各种有趣现象的研究有重要意义。

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

1.1.1 试剂

$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 为分析纯试剂, ATP 为中科院上海生化所的生化试剂(1g 装), 脱氧胆酸钠为 Serva 进口分装, 琼脂为日本进口分装。

1.1.2 仪器

Nicolet Magna IR 750 型 FTIR 光谱仪、NIC-Plan 显微红外附件、Microtek ScanMaker 5900 扫描仪、Leica Zoom 2000 显微镜、数码相机。

1.2 实验方法

实验在小试管中进行, 共加入 3 层琼脂胶。下层含脱氧胆酸钠, 中层为空白胶, 上层含金属离子。研究 ATP 的影响时, 分别在下层、中层、中下层加入 ATP。试管全部直立于试管架中。

生成的时空图案用 Microtek ScanMaker 5900 扫描仪实物扫描; 用 Leica Zoom 2000 显微镜、数码相机观察并记录有序沉淀的显微形貌。从胶中取出沉淀, 室温下干燥后测定光谱, 红外光谱在 Nicolet Magna IR 750 型 FTIR 光谱仪上进行。采用 NIC-Plan 显微红外附件、金刚石样池制样, 扫描 64 次, 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描范围 $4\ 000\sim 650\text{ cm}^{-1}$ 。

2 结果与讨论

2.1 ATP 对 Co^{2+} - DC^- 凝胶体系时空图案形成的影响

图 3 为 ATP 不同加入方式的 Co^{2+} - DC^- 凝胶体系的时空图案, 在不含 ATP 的 Co^{2+} - DC^- (空白) 体系中, 我们得到粉色花状及浅粉色分形有序结构; 在下层加入 ATP 的体系得到颗粒状分形分层分布的; 中层加入 ATP 的体系可以发

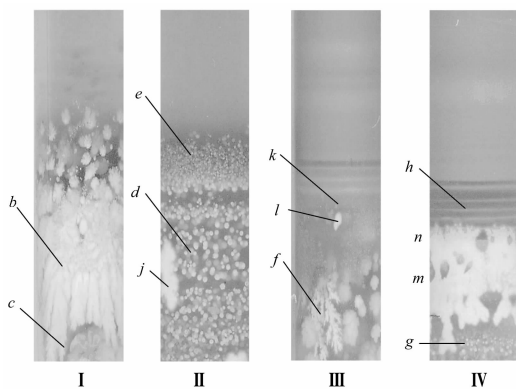


Fig. 3 Periodic and fractal patterns of ATP-DC- Co^{2+} -gel systems

I: Without ATP; II: Added AMP in low layer; III: Added ATP in middle layer; IV: Added AMP in middle and low layer

现体系上部为周期沉淀, 下部为花状的分形; 中下层均加入 ATP 的体系, 可以观察到非常清晰的典型的 Liesegang ring (周期沉淀)。可见含有 ATP 的体系不管以何种方式加入均对体系的时空图案模式均发生显著变化, 以中下层均加入的方式, 使分形模式转化为周期环模式。

在显微镜下放大 10 倍观察中下层均加入 ATP 的体系形成的周期环, 发现周期环上分布颗粒沉淀如图 4 中右图所示, 进一步观察(放大倍数 60), 得到颗粒沉淀的显微形貌为花状分形(见图 4 左图)。随着 ATP 加于实验模型的下层、中层及中下层 3 种不同的方式, 有序结构的形态逐渐由较大的分形环形态向较小的环过渡。其依然为分形环, 只是分形形态更微小了。同时发现周期沉淀环间有透明的晶体(如图 5 所示)及白色沉淀新物质生成。

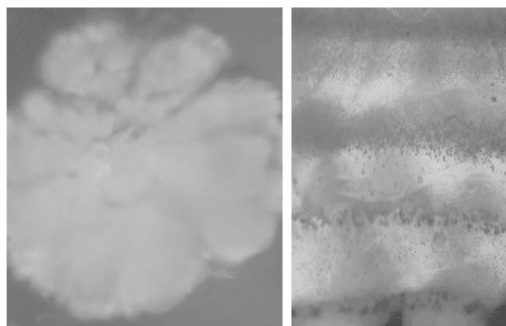


Fig. 4 Microgeometry of ATP in ATP-DC- Co^{2+} gel system

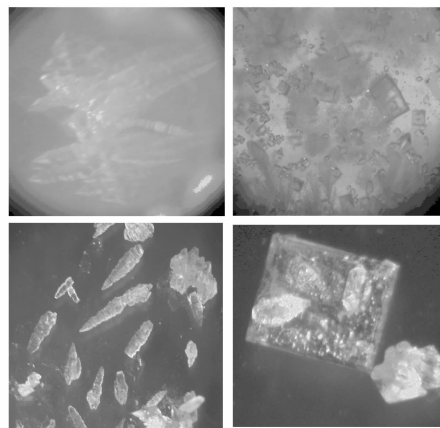


Fig. 5 Transparent crystal obtained during biom mineralization process of ATP-DC- Co^{2+} system

2.3 红外光谱分析^[12, 13]

2.3.1 Co^{2+} - DC^- 凝胶体系的红外光谱分析

图 3 空白样(不含 ATP 的 Co^{2+} - DC^- 凝胶体系)生成浅粉、粉色的两种花状分形, 其分形沉淀物的 FTIR 与合成的 Co-DC 皆有不同(见图 6), 合成的 Co-DC 的 ν_{COO^-} 吸收峰位于 $1\ 557\text{ cm}^{-1}$, 在凝胶体系中的浅粉色分形中位移至 $1\ 579\text{ cm}^{-1}$, 峰形变宽, 同时在 $1\ 705\text{ cm}^{-1}$ 出现 ν_{COOH} 的弱吸收峰; 在粉色分形中分裂为 $1\ 553$ 和 $1\ 522\text{ cm}^{-1}$ 两个尖锐的吸收峰。 ν_{COO^-} 的吸收峰在合成的 Co-DC 位于 $1\ 450$ 和 $1\ 412\text{ cm}^{-1}$, 在凝胶体系浅粉色分形沉淀物中为 $1\ 448$ 和 $1\ 413$

cm^{-1} , 两个分裂峰的相对强度发生显著变化; 在粉色分形沉淀中转化为尖锐的独立峰位于 $1\ 413\ \text{cm}^{-1}$, 出现 $1\ 474$ 和 $1\ 464\ \text{cm}^{-1}$ 新的吸收峰。 $\delta_{\text{C-H}}$ 的吸收峰在合成 Co-DC 中位于 $1\ 378\ \text{cm}^{-1}$ 肩峰; 在凝胶体系的浅粉、粉色分形沉淀中为尖锐的独立峰, 粉色沉淀中同时出现 $1\ 363\ \text{cm}^{-1}$ 吸收峰。合成的 Co-DC 及凝胶中浅粉色沉淀中位于 $1\ 303\ \text{cm}^{-1}$ 的宽的弱吸收峰, 在粉色沉淀中位移至 $1\ 298\ \text{cm}^{-1}$, 峰形尖锐, 相对强度显著提高, 同时分裂出位于 $1\ 331\ \text{cm}^{-1}$ 新的吸收峰。C—O—C 的吸收峰在合成的 Co-DC 中位于 $1\ 040\ \text{cm}^{-1}$, 在凝胶体系的浅粉色沉淀中分裂为 $1\ 068$ 和 $1\ 043\ \text{cm}^{-1}$ 两个吸收峰, 在凝胶体系的粉色沉淀中分裂为 $1\ 093$, $1\ 065$ 和 $1\ 045\ \text{cm}^{-1}$ 一组峰。

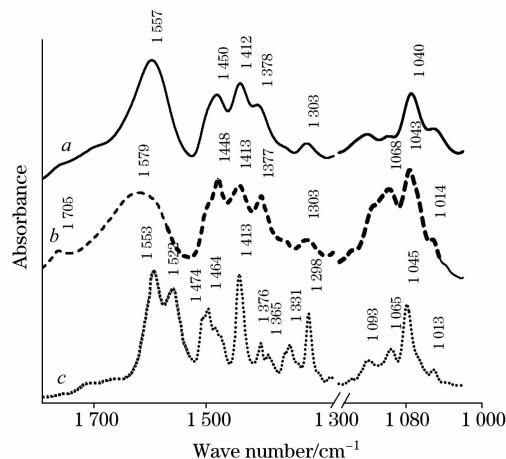


Fig. 6 FTIR spectra of fractal precipitate in Co^{2+} - DC^{-} gel system

- a*: Co-DC precipitate in aqueous solution;
b: Thin pink precipitate in Co^{2+} - DC^{-} gel system;
c: Pink precipitate in Co^{2+} - DC^{-} gel system

由 FTIR 分析可见: Co^{2+} - DC^{-} 凝胶体系中生成的两种分形沉淀, 其结构特征与合成的 Co-DC 相比更复杂, 从 FT-IR 谱图可以发现, 有序沉淀物中出现与合成的 Co-DC 相关的吸收峰, 但峰形特征更复杂, 同时均有新的吸收峰出现, 峰位及峰形皆有变化。

2.3.2 下层、中层加入 ATP 的 Co^{2+} - DC^{-} 凝胶体系分形的红外光谱分析

图 7 中 *d*, *e* 分别为下层加入 ATP 的 Co^{2+} - DC^{-} 凝胶体系得到的白色、浅粉色颗粒分形沉淀物的红外光谱图; *f* 为中层加入 ATP 体系的枝状分形的红外光谱图。 ν_{COO^-} 吸收峰在 *d* 中位于 $1\ 637$ 和 $1\ 560\ \text{cm}^{-1}$; 在 *e* 中位于 $1\ 559\ \text{cm}^{-1}$, 在 *e* 中还出现 ν_{COOH} 的吸收峰 ($1\ 705\ \text{cm}^{-1}$); 在 *f* 中位移至 $1\ 552\ \text{cm}^{-1}$ 。 δ_{COO^-} 的吸收峰在 *d*, *e*, *f* 中分别位于 $1\ 448$, $1\ 414\ \text{cm}^{-1}$; $1\ 447$, $1\ 414\ \text{cm}^{-1}$; $1\ 451$, $1\ 418\ \text{cm}^{-1}$, 两个相关分裂峰的相对强度发生显著变化。在 *d*, *e*, *f* 中均出现与 ATP 相关的吸收峰: P=O 的吸收峰在 *d*, *e* 中分别位于 $1\ 301$, $1\ 190$, $1\ 155\ \text{cm}^{-1}$; $1\ 299$, $1\ 256\ \text{cm}^{-1}$ 。C—O—C 吸收峰在 *d*, *e*, *f* 中分别位于 $1\ 071$, $1\ 043\ \text{cm}^{-1}$; $1\ 090$, $1\ 041\ \text{cm}^{-1}$; $1\ 089$, $1\ 044\ \text{cm}^{-1}$; 两个分裂峰的相对强度显著变化。在 *e*,

f 中分别产生 $1\ 013$ 和 $1\ 014\ \text{cm}^{-1}$ 吸收峰。

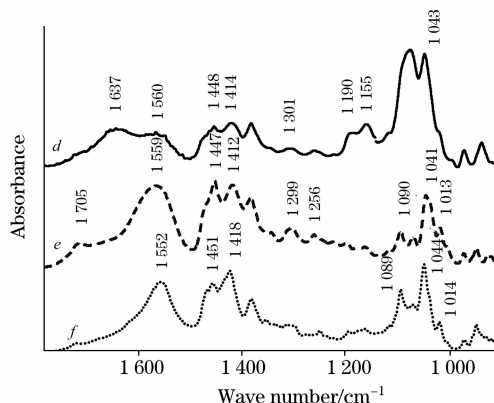


Fig. 7 FTIR spectra of precipitate in ATP-Co^{2+} - DC^{-} gel system

d: Thin pink grain precipitate in system with added ATP in low layer; *e*: White grain precipitate in system with added ATP in low layer; *f*: Thin pink grain precipitate in system with added ATP in middle layer

以上分析发现, 下层、中层加入 ATP 的凝胶体系产生的颗粒分形, 结构特征为以 Co^{2+} 与 DC^{-} 配位为主的 ATP 和 DC 共同参与的复杂配合物。

2.3.3 中下层均加入 ATP 的 Co^{2+} - DC^{-} 凝胶体系分形/周期环的红外光谱分析

图 8 的 *g*, *h* 分别为中下层均加入 ATP 的 Co^{2+} - DC^{-} 凝胶体系环下颗粒分形及周期环上沉淀物的红外光谱图, 两种有序沉淀的谱图差异显著, 分别与合成的 Co^{2+} - DC^{-} (图 8*a*) 及 ATP (图 8*i*) 的谱图比较发现, 颗粒分形沉淀的谱图特征与合成的 Co-DC (图 8*a*) 谱图特征相近, 但出现 $1\ 255\ \text{cm}^{-1}$ 等与 P=O 相关的吸收峰, 沉淀物为以 Co^{2+} 与 DC^{-} 配位为主的 ATP 和 DC 共同参与的复杂配合物。

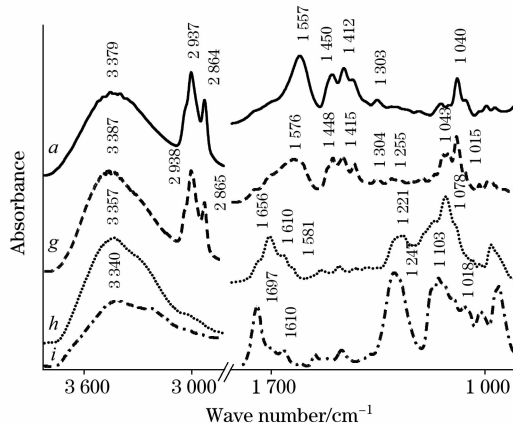


Fig. 8 FTIR spectra of precipitate in ATP-Co^{2+} - DC^{-} gel system

a: CoDC precipitate in aqueous solution; *g*: Thin pink fractal precipitate in system with added ATP in middle and low layer; *h*: Liesegang ring precipitate in system with added ATP in middle and low layer; *i*: ATP

周期沉淀物的谱图 *h* 出现与 ATP 相关的系列吸收峰, ATP 中的嘧啶环的吸收峰($1\ 697, 1\ 610\ \text{cm}^{-1}$) 在周期沉淀物中位移至 $1\ 656\ \text{cm}^{-1}$; $\text{P}=\text{O}$ 吸收峰($1\ 247\ \text{cm}^{-1}$) 位移至 $1\ 221\ \text{cm}^{-1}$, 相对强度显著降低; $\text{C}-\text{O}-\text{C}$, $\text{P}-\text{O}-\text{H}$ 的吸收峰($1\ 103, 1\ 018\ \text{cm}^{-1}$) 在周期沉淀物中位移至 $1\ 078\ \text{cm}^{-1}$, 峰形显著不同。周期沉淀为 ATP 分别以嘧啶环、 $\text{P}=\text{O}$ 等配位点与 Co^{2+} 为主的 ATP、DC 共同参与的复杂配合物。

2.3.4 含 ATP 的 Co^{2+} -DC⁻ 凝胶体系生成新物质的红外光谱分析

图 9 给出各种方式加入 ATP 的 Co^{2+} -DC⁻ 凝胶体系周期环间生成的晶体及周围白色沉淀的红外光谱图: *o*-脱氧胆酸的红外光谱图; *j*, *k* 分别为下层加入 ATP 的体系壁上白色沉淀及晶体的红外光谱图; *l* 为中层加入 ATP 的体系晶体周围白色沉淀物的红外谱图; *m*, *n* 分别为中下层加入 ATP 的白色沉淀及晶体的红外光谱图。这些物质的红外光谱图与脱氧胆酸谱图完全吻合, 可以确定在 ATP 作用下, 析出晶体及白色沉淀两种不同形态的脱氧胆酸。与 AMP 相比, ATP 的作用更为显著, 这是由于 ATP 较 AMP 在结构中多了 2 个磷酸根, $\text{P}=\text{O}$ 在金属离子矿化过程中参与配位, 析出游离的脱氧胆酸。

3 结 论

通过以上研究可以得出结论: ATP 对 Co^{2+} -脱氧胆酸凝胶体系形成的图案模式较 AMP 的影响显著, 体系的图案从分形模式转化为周期沉淀, ATP、脱氧胆酸、 Co^{2+} 存在复杂的相互作用, 生成透明晶体及白色沉淀新物质; 红外光谱结

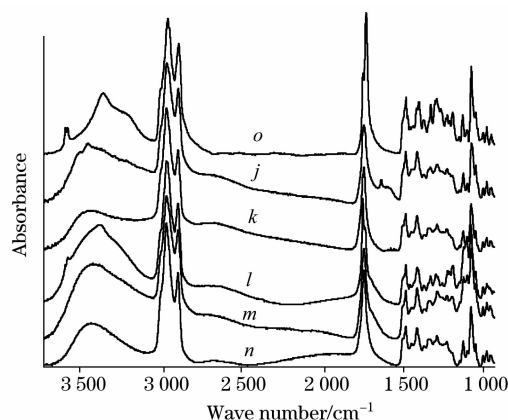


Fig. 9 FTIR spectra of white precipitate and transparent crystal in $\text{ATP}-\text{Co}^{2+}-\text{DC}^{-}$ gel system

o: Deoxycholic acid; *j*: White precipitate in system with added ATP in low layer; *k*: Crystal in system with added ATP in middle layer; *l*: White precipitate around crystal in system with added ATP in middle layer; *m*: White precipitate in system with added ATP in low and middle layer; *n*: Crystal in system with added ATP in low and middle layer

果显示为脱氧胆酸, 周期沉淀物为 ATP, DC 共同与 Co^{2+} 配位的结果, $\text{ATP}-\text{Co}^{2+}-\text{DC}^{-}$ 凝胶体系分形/周期沉淀形态更为复杂, 既有纯的脱氧胆酸生成, 又有分别以 DC^{-} , ATP 配位为主的 DC^{-} , ATP 共同参与配位的多种复杂配合物。此结果说明核苷酸作为重要的生命物质在结石形成过程中起到重要作用, 结石的形成具有复杂的、非线性化学特性。

参 考 文 献

- [1] HUANG Zhi-qiang(黄志强). Gall-Stone(胆结石). Beijing: Tsinghua University Press(北京: 清华大学出版社), 2002.
- [2] OUYANG Jian-ming(欧阳键明). Groundmass regulation and Control of Biomineralization and Bionic Application(生物矿化的基质调控及其仿生应用). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2006. 3.
- [3] Wu J G, Xu D F, Liu F, et al. American Gastroenterological Association Conference, 1990, 98(5): A256.
- [4] LI Xiao-feng, Soloway R D, WU Jin-guang(李晓峰, Soloway R D, 吴瑾光). Science in China(B)(中国科学, B辑), 1996, 26(1): 52.
- [5] Li X F, Soloway R D, Wu J G, et al. Clin. Res., 1997, 41(2): A158.
- [6] XIE Da-tao, XU Yi-zhuang, WU Jin-guang, et al(谢大弢, 徐怡庄, 吴瑾光, 等). Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis(北京大学学报·自然科学版), 1997, 33(2): 137.
- [7] HUI Jian-bin, LIU Hui-zhou, WU Jin-guang(惠建斌, 刘会洲, 吴瑾光). Acta Biophysica Sinica(生物物理学报), 1997, 13(4): 647.
- [8] LIU Zhen-hua, LU Jian-keng, WU Jin-guang, et al(刘振华, 陆俭铿, 吴瑾光, 等). Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis(北京大学学报·自然科学版), 1998, 34(4): 415.
- [9] SUN Ying, YANG Zhan-lan, WU Jin-guang, et al(孙颖, 杨展澜, 吴瑾光, 等). Science in China (B)(中国科学, B辑), 2001, 31(5): 385.
- [10] XIE Da-tao, YANG Li-min, WU Jin-guang, et al(谢大弢, 杨丽敏, 吴瑾光, 等). Acta Physico-Chimica Sinica(物理化学学报), 2005, 21(2): 205.
- [11] Yin Wen-xuan, Soloway R D, Wu J G, et al. Gastroenterology, 2005, 128(4): A262.
- [12] WU Jin-guang(吴瑾光). Modern Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Technology and Applications(近代傅里叶变换红外光谱技术及应用). Beijing: Scientific and Technical References Press of China(北京: 科学技术文献出版社), 1994.
- [13] WENG Shi-fu(翁诗甫). FTIR Spectrograph(傅里叶变换红外光谱仪). Beijing: Chemical Industry Press(北京: 化学工业出版社), 2005. 3.

Periodic and Fractal Precipitation in ATP-Co²⁺-Deoxycholate Gel System

YIN Wen-xuan^{1,2}, LIU Yu-feng², ZHAO Ying³, BAI Song-yan¹, ZHU Wei-wei¹, WENG Shi-fu², GAO Qing-yu¹, WU Jin-guang^{2*}

1. College of Chemical Engineering, China University of Mining Technology and Engineering, Xuzhou 221008, China

2. College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

3. Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China

Abstract In the simulation experiments *in vitro* of the formation of gallstone, adenosine-triphosphate(ATP)-Co²⁺-deoxycholic acid(DC) gel system was chosen to study the periodic precipitation progress. The effect of ATP on the Co²⁺-DC gel system was also determined, and the structure of the periodic precipitation formed was characterized by FTIR. The results show that the patterns formed in the systems with ATP are different, ATP affected the rate and structure of precipitation through its variable participation in the metal coordination complexes as judged by the phosphate P=O bands and the deoxycholate COO⁻ symmetric and asymmetric vibration bands as measured by FTIR. These spectroscopic differences were correlated with color and pattern differences in the precipitates. ATP has a more remarkable function than AMP to the modes of patterns, meanwhile the system patterns transform from fractal to periodic precipitation. There is a complex interaction among ATP, sodium deoxycholic acid and Co²⁺ with a transparent crystal produced. The crystal is deoxycholic acid and the periodic precipitation is composed of ATP and DC covalent to Co²⁺. These results indicate that stone formation and remodeling is a dynamic, nonlinear progress. Much of the precipitate, as judged by local differences in composition, is not in equilibrium with the general gel environment. The authors conclude that the formation of gallstone features complex and nonlinear chemical character, in which nucleotides as living material play a very important role.

Keywords Gallstone; Fractal; Liesegang ring; ATP; FTIR

(Received Nov. 6, 2008; accepted Feb. 8, 2009)

* Corresponding author