

KHẢO SÁT THÀNH PHẦN CALCIUM OXALATE TRONG SỎI NIỆU BẰNG QUANG PHỔ FT-RAMAN VÀ TÍNH TOÁN LƯỢNG TỬ AB INITIO

Huỳnh Thành Đạt, Nguyễn Thế Quyền

Khoa Vật Lý, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQG Tp. HCM

(Bài nhận ngày 16 tháng 8 năm 2003)

TÓM TẮT: Trong công trình này chúng tôi sẽ giới thiệu việc tính toán các tần số dao động của calcium oxalate – thành phần phổ biến nhất của sỏi niệu người. Trên cơ sở tính toán lượng tử ab initio SCF với hệ hàm cơ sở 3-21G được thực hiện trên bộ phần mềm Gaussian 98, chúng tôi đã quy kết được các tần số dao động xuất hiện trên phổ Raman của phân tử này. Ở đây, ảnh hưởng của hydrate lên cấu trúc của phân tử cũng được khảo sát và giải thích.

I. MỞ ĐẦU

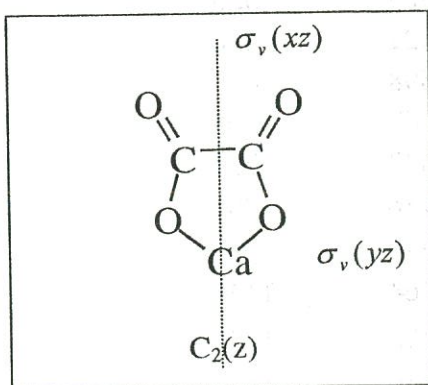
Thành phần hóa học của sỏi niệu là một yếu tố rất quan trọng để chẩn đoán sự phát sinh bệnh cũng như định hướng cho các phương pháp điều trị và phòng tránh tái nhiễm sỏi. Có nhiều phương pháp phân tích sỏi như hồng ngoại, phổ Raman, phổ nhiễu xạ tia X ... Trong các phương pháp đó, FT-Raman là một phương pháp phân tích đơn giản, không hủy mẫu, có thể phân tích dựa trên thành phần sỏi niệu qua chiếu xạ laser.

Sỏi niệu có thể chỉ gồm một thành phần hoặc gồm nhiều thành phần cấu tạo. calcium oxalate là thành phần thường gặp trong sỏi niệu (60-80% trong các trường hợp). Có 2 loại calcium oxalate trong sỏi, đó là calcium oxalate monohydrate (Whewellite – COM) và calcium oxalate dihydrate (Weddellit – COD).

II. TÍNH TOÁN

II.1. Phân loại dao động thường bằng lý thuyết nhóm

Phân tử calcium oxalate (Hình 1) là phân tử phẳng, có một trục bậc hai và hai mặt phẳng σ_v , vì vậy thuộc vào nhóm đối xứng điểm C_{2v} . Số dao động thường có thể được tính toán thông qua công thức Herzberg [2]. Đối với nhóm C_{2v} , hệ các công thức này là:



Hình 1. Phân tử calcium oxalate

$$A_1 : 3m + 2m_{xz} + 2m_{yz} + m_0 - 1$$

$$A_2 : 3m + m_{xz} + m_{yz} - 1$$

$$B_1 : 3m + 2m_{xz} + m_{yz} + m_0 - 2$$

$$B_2 : 3m + m_{xz} + 2m_{yz} + m_0 - 2$$

$$N = 4m + 2m_{xz} + 2m_{yz} + m_0 \quad (N \text{ là số nguyên}$$

tử trong phân tử), trong đó :

m : số bộ hạt nhân không nằm trên bất cứ yếu tố đối xứng nào.

m_0 : số bộ hạt nhân nằm trên tất cả các yếu tố đối xứng

m_{xz}, m_{yz} : số bộ hạt nhân lần lượt nằm trên mặt phẳng $\sigma_v(xz)$ và $\sigma_v(yz)$.

Với trường hợp calcium oxalate (hình 1), ta có $m = 0$; $m_0 = 1$; $m_{xz} = 0$; $m_{yz} = 3$. Kết quả nhận được sẽ là 15 dao động cơ bản, bao gồm 6 dao động A_1 , 2 dao động A_2 , 2 dao động B_1

và 5 dao động B₂. Như vậy, kết hợp với bảng đặc biểu của nhóm C_{2v} [2], 15 mode dao động chuẩn tắc của calcium oxalate được biểu diễn :

$$\Gamma_{\text{vib}}(\text{C}_{2v}) = 6A_1(\text{IR,R}) + 2A_2(\text{R}) + 2B_1(\text{IR,R}) + 5B_2(\text{IR,R})$$

Biểu diễn trên nghĩa là có 15 dao động cơ bản hoạt động trong Raman (R) trong đó chỉ có 13 dao động cơ bản hoạt động trong hồng ngoại (IR). Cấu hình tối ưu và tần số dao động sẽ được xác định dựa vào các tính toán lượng tử *ab initio* với hệ hàm cơ sở 3-21G trên bộ phần mềm Gaussian 98.

Bảng 1 là bảng định hướng chuẩn của calcium oxalate với cấu hình phân tử đã được tối ưu hóa, thu được từ tính toán lượng tử *ab initio*. Có thể thấy rằng, tất cả tọa độ Z của các nguyên tử đều bằng không, chứng tỏ phân tử có cấu trúc phẳng.

Bảng 1. Định hướng chuẩn (Standard orientation)

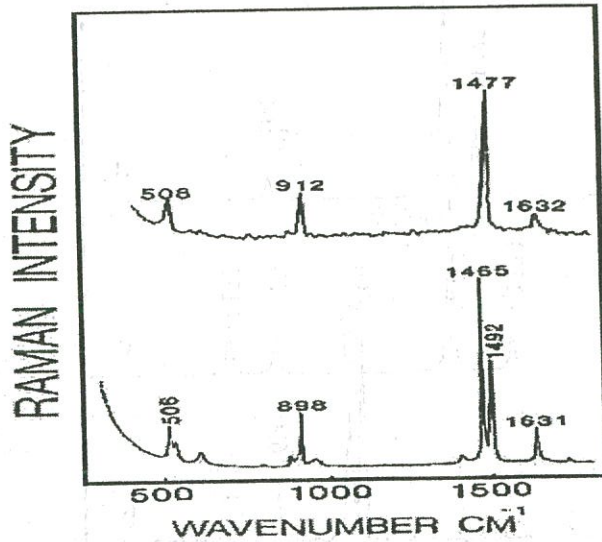
Center Number	Atomic Number	Atomic Type	Coordinates (Angstroms)		
			X	Y	Z
1	6	0	0.000000	0.997882	0.000000
2	6	0	0.963049	-0.261420	0.000000
3	8	0	0.442500	2.130669	0.000000
4	8	0	-1.279581	0.648463	0.000000
5	20	0	-1.878455	-1.436432	0.000000
6	8	0	2.172198	-0.131169	0.000000
7	8	0	0.290665	-1.404770	0.000000

Bảng 2. Phổ tính toán và thực nghiệm (cm⁻¹) của calcium oxalate

Mode dao động	Phân loại	Đối xứng	Thực nghiệm *	Tính toán
1		A ₂	141	105
2		B ₁	198	117
3		A ₁	208	287
4		B ₂	247	340
5		A ₁	505	355
6		B ₁	522	496
7		A ₁	598	499
8		B ₂	867	508
9		B ₂	897	759
10		A ₁	936	808
11		A ₂	1396	834
12	$\nu_a(\text{O}_2\text{-C})_2$	B ₂	1464	1148
13	$\nu_s(\text{O}_2\text{-C})_2$	A ₁	1490	1241
14	$\nu_a(\text{C=O})$	B ₂	1630	1716
15	$\nu_s(\text{C=O})$	A ₁	1726	1735

* Calcium oxalate monohydrate

Trong tự nhiên, calcium oxalate chỉ tồn tại ở dạng ngậm nước. Cột thứ ba trong bảng 2 là số sóng thực nghiệm đo được của calcium oxalate monohydrate.



Hình 2. Phổ thực nghiệm của calcium oxalate monohydrate (dưới) và calcium oxalate dihydrate (trên) [6].

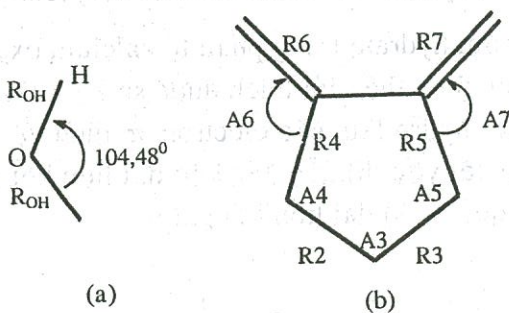
Ta thấy số đỉnh phổ xuất hiện trong phổ Raman của calcium oxalate phù hợp với kết quả tính toán của lý thuyết nhóm (15 đỉnh). Các loại đối xứng quy kết cũng chính xác là 6 A₁; 2 A₂; 2 B₁ và 5 B₂. Hai mode dao động 1 và 11 (thuộc loại dao động đối xứng A₂) có cường độ hồng ngoại tính toán bằng không đúng như dự đoán. Hai mode dao động 14 (1630 cm⁻¹-dao động phản đối xứng) và mode 15 (1726cm⁻¹, dao động đối xứng) được mô tả thuộc về hai nhóm carbonyl (C=O) đúng như quy kết của Norman và cs. [8], nhưng có giá trị cách nhau khá lớn (96 cm⁻¹).

Hình 2 là phổ thực nghiệm của phân tử calcium oxalate monohydrate và dihydrate [6]. Có thể nhận thấy các mode dao động ở vùng 1400-1700 cm⁻¹ của hai phổ có sự chuyển dịch so với nhau. Đặc biệt, hai đỉnh 1465 cm⁻¹ (mode 12) và 1492 cm⁻¹ (mode 13) của calcium oxalate monohydrate sẽ suy biến thành một đỉnh 1477 (cm⁻¹) của calcium oxalate dihydrate.

Sự suy biến cho ta biết rằng hai đỉnh 1460, 1490 cm⁻¹ (mode dao động 12 và 13) là những mode nhạy với gốc hydrat.

II.2. Ảnh hưởng của gốc hydrate trong phân tử calcium oxalate monohydrate và dihydrate

Hình 3 trình bày các thông số cấu hình đã được tối ưu hoá của phân tử nước và Calcium Oxalate.



Hình 3. Cấu hình tối ưu của (a): Phân tử nước, (b): calcium oxalate

Phân tử nước :

$$R_{O-H} = 0,96 \text{ \AA}, < H-O-H = 104,48^{\circ}$$

Phân tử Calcium Oxalate:

$$R_6 = R_7 = R_{C=O} = 1,20748 \text{ \AA}$$

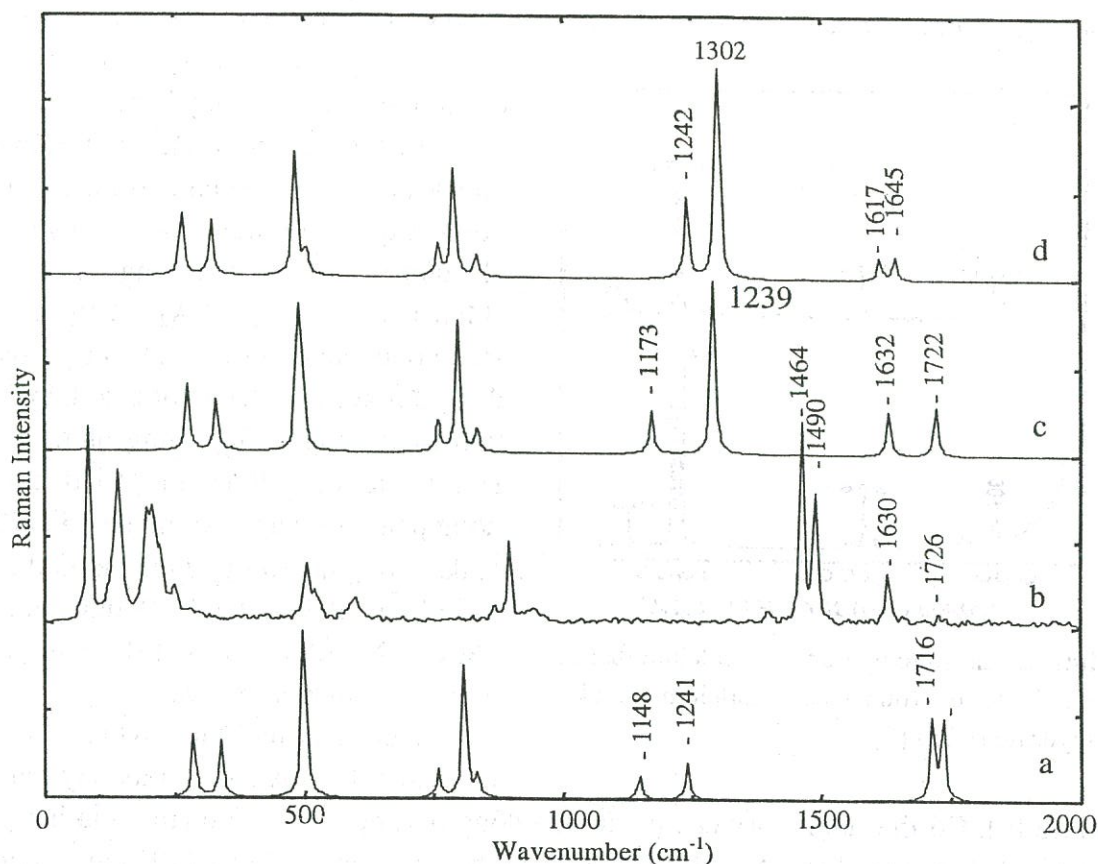
$$R_4 = R_5 = R_{C-O} = 1,31204 \text{ \AA}$$

$$R_3 = R_2 = R_{O-Ca} = 2,12205 \text{ \AA}$$

$$A_6 = A_7 = < O-C=O = 126,606^{\circ}$$

$$A_4 = A_5 = < C-O-Ca = 121,293^{\circ}$$

Các tác giả đã tiến hành tính toán cho các cấu trúc mới của calcium oxalate nhận được bằng cách thay đổi lần lượt các độ dài liên kết cũng như các góc liên kết của gốc oxalate. Từ các thay đổi đó chúng tôi đã nhận được cấu hình phù hợp của calcium oxalate có thể giải thích được sự ảnh hưởng của nhóm hydrate lên phổ phân tử.



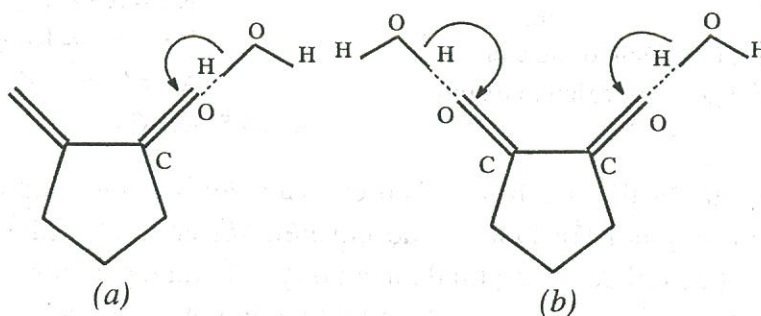
Hình 4. Phổ mô phỏng của cấu hình được chọn

Bảng 3 mô tả sự dịch chuyển phổ và hình 4 là phổ mô phỏng của (a): calcium oxalate, (b): phổ thực nghiệm calcium oxalate monohydrate (để so sánh), (c): calcium oxalate monohydrate, (d): calcium oxalate dihydrate của của cấu hình được chọn :

R4 giảm 0,06 Å, R6 tăng 0,05 Å, đối với phân tử calcium oxalate monohydrate.

R4, R5 giảm 0,06 Å; R6, R7 tăng 0,05 Å, đối với phân tử calcium oxalate dihydrate.

Hình 5 mô tả vị trí tác động dự đoán của nhóm hydrate trong phân tử calcium oxalate (monohydrate và dihydrate). Cấu hình đưa ra ở hình 5 có thể giải thích được sự kéo dài liên kết C=O (R6, R7) và giảm độ dài nối C-O: liên kết hydro làm các electron π dịch về phía nguyên tử carbon, liên kết C=O ít bị phân cực (liên kết yếu đi) dẫn đến kéo dài liên kết này. Ngược lại, liên kết C-O bị phân cực hơn trước, kết quả là độ dài liên kết giảm.



Hình 5. Vị trí tác động dự đoán của gốc hydrate trong
(a): Calcium Oxalate monohydrate; (b): Calcium Oxalate dihydrate

Bảng 3. Tần số các đỉnh phổ (cm^{-1}) tính toán cho phân tử calcium oxalate

Mode dao động	Calcium Oxalate	Calcium Oxalate monohydrate	Calcium Oxalate dihydrate
1	105	75	76
2	117	117	90
3	287	278	268
4	340	332	324
5	355	361	364
6	496	491	485
7	499	502	503
8	508	505	508
9	759	760	761
10	808	799	791
11	834	835	835
12	1148	1173	1262
13	1241	1293	1302
14	1716	1632	1617
15	1735	1722	1645

Cấu hình trên cũng giải thích được sự dịch chuyển ra xa nhau của hai đỉnh phổ thuộc các mode dao động 14 và 15 (lần lượt là dao động đối xứng và phản đối xứng) trong trường hợp phân tử ngậm một nước. Theo Norman và cs., khoảng cách giữa hai đỉnh phổ thuộc về dao động nội của nhóm carbonyl trong oxalate mang giá trị chỉ từ 20 – 25 cm^{-1} .

Tính toán cho phân tử calcium oxalate cho giá trị khá phù hợp, nhưng giá trị thực nghiệm đo được trên calcium oxalate monohydrate lại rất lớn (96 cm^{-1}). Từ các tính toán cho ra cấu hình như đã trình bày, ta có thể dự đoán rằng nhóm hydrate đã tác động vào nhóm C=O làm cho dao động phản

đối xứng trở nên khó khăn hơn, số sóng của đỉnh phổ tương ứng giảm đi. Giá trị 100 cm^{-1} của cấu hình được chọn khá gần với giá trị thực nghiệm.

Tính toán *ab initio* cũng chỉ trong trường hợp phân tử ngậm hai nước, đỉnh phổ tương ứng với dao động đối xứng của nhóm carbonyl (mode 15) lại tiếp tục giảm. Hai đỉnh phổ đặc trưng của nhóm carbonyl bây giờ lại dịch lại gần nhau nhưng ở vùng phổ có số sóng thấp.

II.3. Ảnh hưởng của môi trường tự nhiên

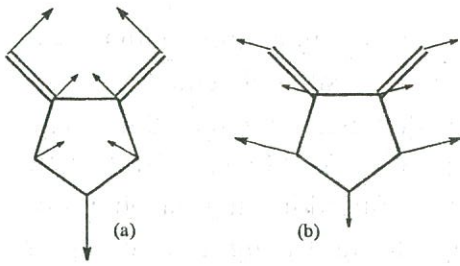
Để khảo sát sự ảnh hưởng của môi trường, T.D. Nguyen Hong và cs. đã khảo sát sơ bộ phổ của sỏi có thành phần calcium oxalate trong điều kiện thật của cơ thể (*in vivo condition*): những sỏi trong nước tiểu.

Nước tiểu bình thường chứa khoảng 4% sản phẩm phế thải của cơ thể, phần còn lại là dung dịch với chất tan chủ yếu là urea, sản phẩm cuối của quá trình trao đổi protein. Ngoài ra còn có những sản phẩm chứa nitơ như creatine, creatinène và hippuric acid với thành phần rất nhỏ [4].

Chúng tôi đã khảo sát ảnh hưởng của nước tiểu (xem gần đúng là urea, hằng số điện môi $\epsilon=3,5$) lên phổ của phân tử calcium oxalate (monohydrate và dihydrate) bằng cách sử dụng mô hình Onsager trường phản ứng tự hợp SCRF=Dipole [3]. Trong mô hình Onsager, chất hòa tan được giả thiết là chứa đầy trong một hốc hình cầu cố định có bán kính a_0 ở trong dung môi.

Tính toán *ab initio* với từ khóa SCF = Tight Volume, ta nhận được bán kính của phân tử calcium oxalate ở cấu hình ngậm nước $a_0=3.16 \text{ \AA}$ và 3.35 \AA lần lượt cho calcium oxalate monohydrate, calcium oxalate dihydrate. Khảo sát cho thấy dung môi urine làm các đỉnh phổ dịch chuyển rất ít (từ 1-2 cm^{-1}) và khó có thể nhận biết được sự chuyển dịch này. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu thực nghiệm của T.D. Nguyen Hong và cs. [5].

II.4. Đỉnh phổ đặc trưng của calcium oxalate



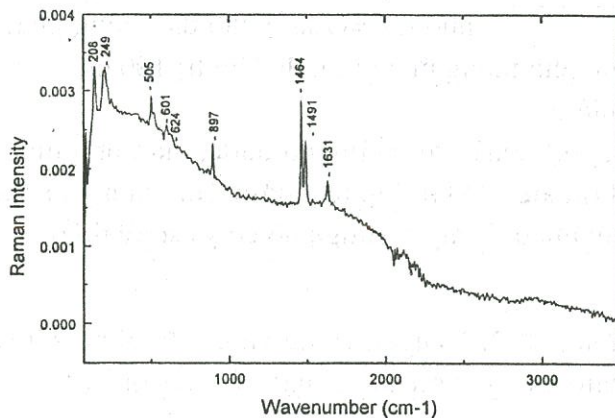
Hình 6. Hai mode dao động của phân tử calcium oxalate
(a) : mode 5 và (b) : mode 7

Dựa trên kết quả tính toán, chúng tôi đề nghị sử dụng hai mode dao động 5 và 7 (lần lượt là hai đỉnh phổ 505 và 598 cm^{-1}) để nhận dạng thành phần calcium oxalate trong sỏi. Dựa trên các tọa độ Z của tất cả các nguyên tử ở hai mode này đều bằng không, có thể kết luận ngay rằng ở hai mode dao động này, các nguyên tử chỉ dao động trong mặt phẳng phân tử (mặt phẳng XY). Dựa trên các tọa độ X,Y của các nguyên tử, có thể thiết lập hai mô hình cho hai mode dao động này như trong hình 6. Mũi tên chỉ phương dao động của nguyên tử trong phân tử, tất nhiên nó cũng sẽ dao động

theo chiều ngược lại qua vị trí cân bằng.

Qua hình 6, ta có nhận xét rằng hai mode dao động trên chỉ làm thay đổi góc liên kết O-Ca-O và từ đó làm thay đổi độ dài liên kết C-C. Các nguyên tử còn lại cũng có dao động nhưng chỉ là dao động do ảnh hưởng (kéo theo) và là chuyển động tịnh tiến. Số sóng hai mode dao động này ít thay đổi dưới tác động của gốc hydrat và nằm trong vùng tách biệt. Điều này cho thấy chọn hai mode này làm mode đặc trưng là tối ưu nhất.

III. THỰC NGHIỆM



Hình 7. Phổ FT-Raman của mẫu sỏi T10

Để áp dụng các tính toán, chúng tôi đã khảo sát 14 mẫu sỏi lấy ở Huế và Hồ Chí Minh. Các mẫu khảo sát đều ở dạng bột (tránh cấu trúc không đồng nhất của sỏi), được ghi phổ FT-Raman trên quang phổ kế EQUINOX55 Bruker kết nối với bộ phận FT-Raman FRA-106/S của phòng Phân tích Trung tâm – Đại học Khoa học Tự nhiên. Điều kiện chạy phổ với tất cả các mẫu: nguồn sáng kích thích là laser liên tục cận hồng ngoại Nd :YAG hoạt động ở bước sóng 1064 nm, công suất 70mW, số lần quét là 150 (scan), vùng phổ 150-3500 cm^{-1} . Tất cả các mẫu đều chứa calcium oxalate. Hình 7 là phổ ghi nhận được của mẫu T10. Hai đỉnh 505 và 590 cm^{-1} xuất hiện trên tất cả các phổ và thuộc vào vùng rất dễ nhận biết. Vùng phổ 1460 đến 1495 cm^{-1} có thể được dùng để phân biệt hai thành phần ngậm nước của calcium oxalate nói trên [5,6].

IV. KẾT LUẬN

Tính toán của chúng tôi dựa trên giả thiết cấu tạo phân tử của calcium oxalate cho kết quả khá tốt so với số liệu thực nghiệm. Hai đỉnh phổ đặc trưng cũng đã được xác định và chính điều này sẽ giúp việc nhận dạng thành phần này nhanh chóng và chính xác hơn.

Tỉ lệ xuất hiện của thành phần calcium oxalate trong các khảo sát trước đây là rất lớn (60-80%), hy vọng các tính toán trên sẽ là tiền đề lý thuyết cho các khảo sát sau này.

Để tính toán chính xác hơn, cần phải xét cấu trúc calcium oxalate ở dạng tinh thể. Lúc đó, số đỉnh phổ dao động sẽ phải tính toán theo lý thuyết *nhóm không gian* (space groupe) và tác động của gốc hydrat sẽ phải xem là tương tác ion trong mạng tinh thể. Kết quả nêu trên sẽ được sử dụng là bước đầu cho các tính toán nâng cao sau này.

CALCIUM OXALATE ANALYSIS OF HUMAN URINARY CALCULI BY FT-RAMAN SPECTROSCOPY AND THE AB INITIO CALCULATIONS

Huynh Thanh Dat, Nguyen The Quyen

Department of Physics, University of Natural Sciences,
Vietnam National University Ho Chi Minh City

ABSTRACT: *In this paper, we present the calculations for vibrational frequencies of calcium oxalate – the most common composition of human urinary calculi. Based on the ab initio SCF calculations using 3-21G basic set performed with the Gaussian 98 program, the frequencies have been assigned where calcium oxalate is considered as a molecule. The influence of hydrate on its structure is also given. The structure of the molecule in this case has been demonstrated and discussed.*

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. John R. Ferraro, Kazuo Nakamoto, *Introductory Raman Spectroscopy*, Academic Press, Inc. 1994.
- [2]. Nguyễn Văn Đến, Huỳnh Thành Đạt, Dương Ái Phương, *Ứng dụng lý thuyết nhóm trong quang phổ phân tử*, ĐHKHTN TP.HCM 1998.
- [3]. James B. Foresman, Aileen Frisch, *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods*, Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA, 1996.
- [4]. Federich A. Bettelheim, Jerry March, *Introduction to Organic & Biochemistry*, Saunders College Publishing, 1990.
- [5]. T. D. Nguyen Hong *et al.*, *Identification of Unary Calculi by Raman Laser Fiber Optics Spectroscopy*, Clinical Chemistry, Vol. 38, No. 2, 1992.
- [6]. Venkata Ramana Kodati *et al.*, *Analysis of Unary Calculi of Mixed and Unusual composition: Raman spectroscopy investigation*, Applied Spectroscopy, Vol. 47, No. 3, 1993.
- [7]. Dauton M., Reveillaud R.J., *Principales méthodes d'étude de la composition et de la structure des calculs urinaires*, La Presse Médicale, 1987.
- [8]. Norman B. Colthup *et al.*, *Introduction to Infrared and Raman spectroscopy*, Academic Press, 1990.