

СИНТЕЗ НАНОКРИСТАЛЛИЧЕСКОГО КАРБОНАТА КАЛЬЦИЯ ИЗ ЖЕЛЧИ В ПРИСУТСТВИИ АМИНОКИСЛОТ

О.А. Голованова, И.А. Томашевский

ФГАОУ ВО «Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского»

644077, Россия, Омск, пр. Мира, 55 а

golovanoa2000@mail.ru

DOI: 10.26456/pcascnn/2023.15.962

Аннотация: В данной работе изучено влияние аминокислот в составе желчи на образование разных модификаций карбоната кальция (арагонит, ватерит, кальцит). В работе синтезировано 22 образца карбоната кальция в растворе желчи при варьировании концентраций аминокислот (гистидин, метионин, аргинин и триптофан). Для аминокислот метионина и аргинина доказан их стабилизирующий эффект по отношению к метастабильному арагониту: с ростом их концентрации в желчи происходит увеличение массовой доли арагонита в составе твёрдой фазы. Оптическая микроскопия показала присутствие сферолитов ватерита во всех полученных порошках. Результаты фотонной корреляционной спектроскопии коррелируют с данными рентгенофазового анализа. Показано, что микрочастицы карбоната кальция радиусом менее 10 мкм представлены тремя фракциями. Показано, что синтезы с участием гистидина и триптофана, в которых с ростом концентраций аминокислот наблюдается увеличение доли мелкозернистой фракции и снижение доли крупнозернистой. Таким образом, все исследованные аминокислоты имеют потенциальную возможность использования их в качестве медицинских препаратов для лечения и профилактики нахолеолитиаза.

Ключевые слова: желчные камни, кристаллизация, карбонаты кальция, аминокислоты, добавки, ватерит, радиус, морфология.

1. Введение

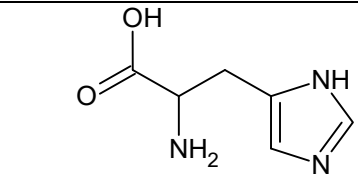
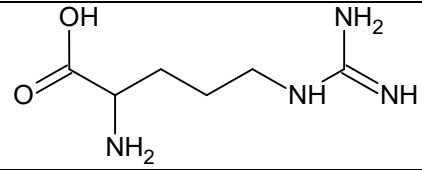
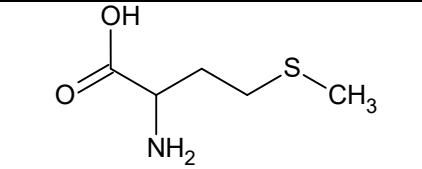
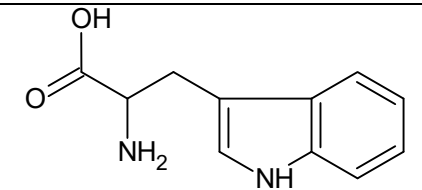
Одним из нежелательных процессов, протекающих в организме человека, является образование желчных камней, приводящее к желчнокаменной болезни (ЖКБ, холелитиазу) [1-3]. При этом важную роль играет состав желчи, концентрации различных её компонентов [4, 5]. Особое значение в процессе формирования желчных камней имеет процесс образования микрокристаллов карбоната кальция, свойства которых (фазовый состав, морфология, размер частиц) тесно связаны с кристаллизацией холестерина из желчи и, как следствие, с ростом холелитов [6-9]. Истинные причины желчнокаменной болезни до сих пор остаются неустановленными, несмотря на уже известные факторы риска развития данного заболевания [10-14]. В данной работе внимание будет уделено аминокислотам (АК) в составе желчи, которые присутствуют в ней в свободном виде, как и во многих других биологических жидкостях тела человека, причем концентрация данных органических веществ может варьироваться как естественным, так и искусственным образом. Известно, что аминокислоты могут оказывать влияние на состав и свойства карбоната кальция при осаждении его из водных растворов, а также

ингибировать его кристаллизацию [15]. Характер влияния аминокислот на формирование карбоната кальция может определить потенциальную возможность использования данных соединений в качестве медицинских препаратов для профилактики и лечения холелитиаза на ранних стадиях.

2. Экспериментальная часть

В исследование использованы 4 аминокислоты, которые представляют интерес с точки зрения их влияния на кристаллизацию и фазообразование карбоната кальция, поэтому их необходимо рассмотреть более подробно (см. Таблицу 1).

Таблица 1. Аминокислоты, исследуемые в работе [15].

Название, сокращение	Структурная формула	<i>M</i> , г/моль	<i>C</i> _{модельная} , ммоль/л
Гистидин, <i>His (H)</i>		155,16	1,23
Аргинин, <i>Arg (R)</i>		174,20	1,32
Метионин, <i>Met (M)</i>		149,21	0,27
Триптофан, <i>Trp (W)</i>		204,23	0,60

Для синтеза карбоната кальция использовались гидрокарбонат натрия и дигидрат хлорида кальция как наиболее подходящие по химическому составу желчи человека. Информация о их концентрациях в соответствии с пересчетом на модельные условия представлена в Таблице 2.

Исследование влияния аминокислот на процесс кристаллизации карбоната кальция проводится путем варьирования модельных концентраций аминокислот при постоянных модельных концентрациях ионов Ca^{2+} и HCO_3^- и *pH* в реакционной смеси. Варьирование концентраций аминокислот осуществляется путем кратного изменения

модельной концентрации в 0,5; 2 и 10 раз (см. Таблицу 3). Синтезы под номерами 2 и 3 отличаются только объемами (количеством продукта) при прочих равных условиях, что необходимо для проверки воспроизводимости результатов экспериментального моделирования.

Таблица 2. Характеристика реагентов (M -молярная масса, г/моль, $C_{\text{модельная}}$ (иона) модельная концентрация в растворе синтеза).

Реагент	Вводимый ион	M , г/моль	$C_{\text{модельная}}$ (иона), моль/л
Гидрокарбонат натрия	HCO_3^-	84,01	0,10
Дигидрат хлорида кальция	Ca^{2+}	147,01	0,12

Таким образом, для каждой аминокислоты будет синтезировано по пять образцов карбоната кальция. Также был проведён синтез двух образцов карбоната кальция в отсутствие аминокислот при прочих равных условиях.

Таблица 3. Общий план синтеза.

Показатель	Стадия				
	1	2	3	4	5
$C(\text{АК})$	$0,5C_{\text{мод}}$	$1C_{\text{мод}}$	$1C_{\text{мод}}$	$2C_{\text{мод}}$	$10C_{\text{мод}}$
$V(\text{синтеза}), \text{мл}$	200	200	100	200	200
Название синтеза	X1	X2	X3	X4	X5

Здесь $C_{\text{мод}}$ – модельная концентрация аминокислоты, X – однобуквенное обозначение аминокислоты, V – объем раствора в мл.

Рентгенофазовый анализ (РФА) полученных образцов проводится на рентгеновском дифрактометре ДРОН-3М (Россия) методом Дебая-Шеррера на излучении $\text{CuK}\alpha$. Получение дифрактограмм осуществляется в интервале углов 2θ от 10° до 60° с шагом $0,2^\circ$. Первичная обработка спектров производится в программе DifWin 1 [16]. Качественный и количественный анализ фазового состава образцов осуществляется в программе Match!3 (Crystal Impact, Германия) [17] на основе открытой кристаллографической базы данных (COD, 2020) [18].

Оптическая микроскопия синтезированных образцов проводится с помощью микроскопа XSZ-107 (Армед, Россия) и оборудования ToprCam (ToprTek, Китай) с фотоматрицей 3,1 Мп. Для проведения исследования пробы тонким слоем наносятся на предметное стекло и изучаются под микроскопом. Микрофотографии получаются с помощью программы ToprView (ToprTek, Китай). Данным методом исследуется морфология полученных частиц.

Метод фотонной корреляционной спектроскопии (ФКС), также известный как метод динамического рассеяния света (ДРС) или квазиупругого рассеяния света (КРС), позволяет определить коэффициент диффузии дисперсных частиц в жидкости путём анализа корреляционной функции флуктуаций интенсивности рассеянного света, а из коэффициента диффузии рассчитывается радиус микро- и наночастиц [19, 20]. Результатом обработки функции является распределение частиц в образце по размерам (число мод распределения соответствует числу фракций для данного образца), площадь пика на графике и средний гидродинамический радиус этих частиц (для каждого из пиков в случае полимодального распределения) [20]. Результаты шести параллельных измерений (по три измерения на две суспензии) для каждого исследуемого образца усредняются, гидродинамические радиусы частиц, и доли каждой фракции представляются в виде доверительных интервалов.

Статистическую обработку полученных данных проводили методом Стьюдента для доверительной вероятности ($P_{\text{довер}} = 95\%$), исходя из предположения об их распределении по нормальному закону с использованием программного продукта SPSS Statistics [21].

3. Результаты и обсуждения

Подробный количественный РФА установил содержание ватерита, арагонита и кальцита в составе карбоната кальция в твёрдой фазе. Можно заметить, что содержание арагонита в полученных порошках варьируется (см. Таблицу 4).

Таблица 4. Фазовый состав образцов (*A* – арагонит, *B* – ватерит, *K* – кальцит, C_{AK} – концентрация аминокислоты).

Среднее содержание фаз карбоната кальция в образцах, %								
Код образца (C_{AK})		(0 C_{AK})	(0,5 C_{AK})	(1 C_{AK})	(1 C_{AK})	(1 C_{AK})	(2 C_{AK})	(10 C_{AK})
Аминокислота (<i>X</i>)	<i>His</i> (<i>H</i>)	85,0 <i>B</i> 12,5 <i>A</i> 2,5 <i>K</i>	80,7 <i>B</i>	92,1 <i>B</i>	87,4 <i>B</i>	89,8 <i>B</i>	89,5 <i>B</i>	88,8 <i>B</i>
			12,5 <i>A</i>	7,5 <i>A</i>	7,5 <i>A</i>	7,5 <i>A</i>	3,0 <i>A</i>	3,7 <i>A</i>
			6,8 <i>K</i>	0,4 <i>K</i>	5,1 <i>K</i>	2,7 <i>K</i>	7,5 <i>K</i>	7,5 <i>K</i>
	<i>Met</i> (<i>M</i>)		82,4 <i>B</i>	79,3 <i>B</i>	80,7 <i>B</i>	80,0 <i>B</i>	83,0 <i>B</i>	73,2 <i>B</i>
			8,5 <i>A</i>	8,7 <i>A</i>	6,6 <i>A</i>	7,7 <i>A</i>	9,2 <i>A</i>	19,1 <i>A</i>
			9,1 <i>K</i>	12,0 <i>K</i>	12,7 <i>K</i>	12,3 <i>K</i>	7,8 <i>K</i>	7,7 <i>K</i>
	<i>Arg</i> (<i>R</i>)		82,4 <i>B</i>	81,3 <i>B</i>	86,5 <i>B</i>	83,9 <i>B</i>	78,1 <i>B</i>	66,0 <i>B</i>
			9,8 <i>A</i>	10,7 <i>A</i>	8,9 <i>A</i>	9,8 <i>A</i>	12,8 <i>A</i>	23,1 <i>A</i>
			7,8 <i>K</i>	8,0 <i>K</i>	4,6 <i>K</i>	6,3 <i>K</i>	9,1 <i>K</i>	10,9 <i>K</i>
	<i>Trp</i> (<i>W</i>)		78,2 <i>B</i>	84,7 <i>B</i>	89,2 <i>B</i>	86,9 <i>B</i>	79,3 <i>B</i>	88,1 <i>B</i>
			11,3 <i>A</i>	11,8 <i>A</i>	8,0 <i>A</i>	9,9 <i>A</i>	15,0 <i>A</i>	9,5 <i>A</i>
			10,5 <i>K</i>	3,5 <i>K</i>	2,8 <i>K</i>	3,2 <i>K</i>	5,7 <i>K</i>	2,4 <i>K</i>

Интерес представляет наличие зависимости (достоверно установлен дрейф результатов при статистической обработке полученных выборок) между содержанием арагонита в твёрдой фазе и концентрацией аминокислоты в желчи для синтезов с *Met* и *Arg*: содержание фазы арагонита увеличивается с ростом концентрации данных аминокислот. Для образцов карбоната кальция с *His* наблюдается обратная зависимость. Для синтезов в желчи с *Trp* таковая зависимость отсутствует.

Все образцы карбоната кальция, синтезированные в работе, представляют собой тонкодисперсные порошки (пудровая текстура) с включениями чуть более крупных частиц агломератов (см. рис. 1 а). Данные агломераты представляют собой частицы, сформированные сросшимися фрагментами сферических кристаллов ватерита, кристаллов моногидрата холестерина и аморфных органических частиц.

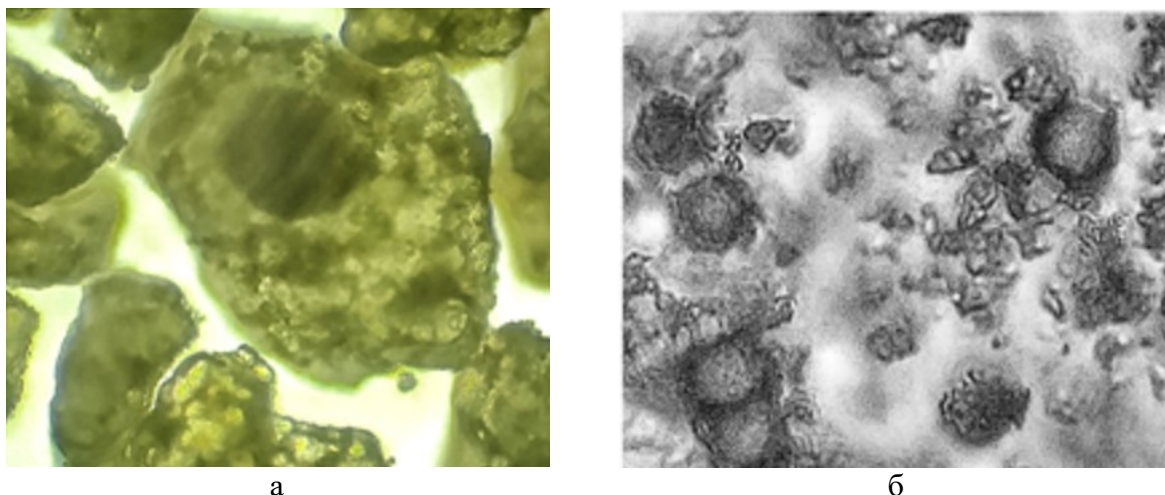


Рис. 1. Микрофотографии образца карбоната кальция, синтезированного в желчи без АК: а – не измельчённые агломераты, б – сферолиты ватерита в измельчённом порошке.

Результаты оптической микроскопии подтверждают результаты всех предыдущих исследований [22, 23]: основу всех образцов составляют сферолитические микрочастицы ватерита (визуально различимы микрокристаллы от 0,5 до 10 мкм). В синтезах с *His* и *Met* отмечается большое количество агломерированных частиц, аморфных включений органической природы, число сферолитов ватерита уменьшается с увеличением концентрации данных аминокислот в желчи. Для образцов, синтезированных с *Arg* и *Trp*, получено наибольшее число сферических частиц ватерита, причём с ростом концентрации этих аминокислот в желчи происходит увеличение числа таких частиц, уменьшение их среднего размера.

Методом ФКС были установлены размеры и доли частиц во фракциях порошка размером менее 10 мкм для всех исследуемых

образцов. Результаты измерений каждого из синтезированных порошков представлены в Таблице 5 в виде доверительных интервалов. Для большинства образцов наблюдается тримодальное распределение частиц по размерам, таким образом, порошки характеризуются наличием трёх фракций: I фракция – частицы радиусом порядка сотых микрометра; II фракция – частицы радиусом порядка десятых микрометра; III фракция – частицы радиусом порядка единиц микрометра.

В ряде образцов распределение микрочастиц по размерам носит бимодальный характер, и первая фракция отсутствует полностью. Рассматривая фракционный состав полученных образцов карбоната кальция, методом однофакторного дисперсионного анализа можно определить наличие зависимостей между концентрацией аминокислот в желчи, размером частиц каждой из фракций и их долей в составе общей фракции с радиусами менее 10 мкм (см. рис. 2).

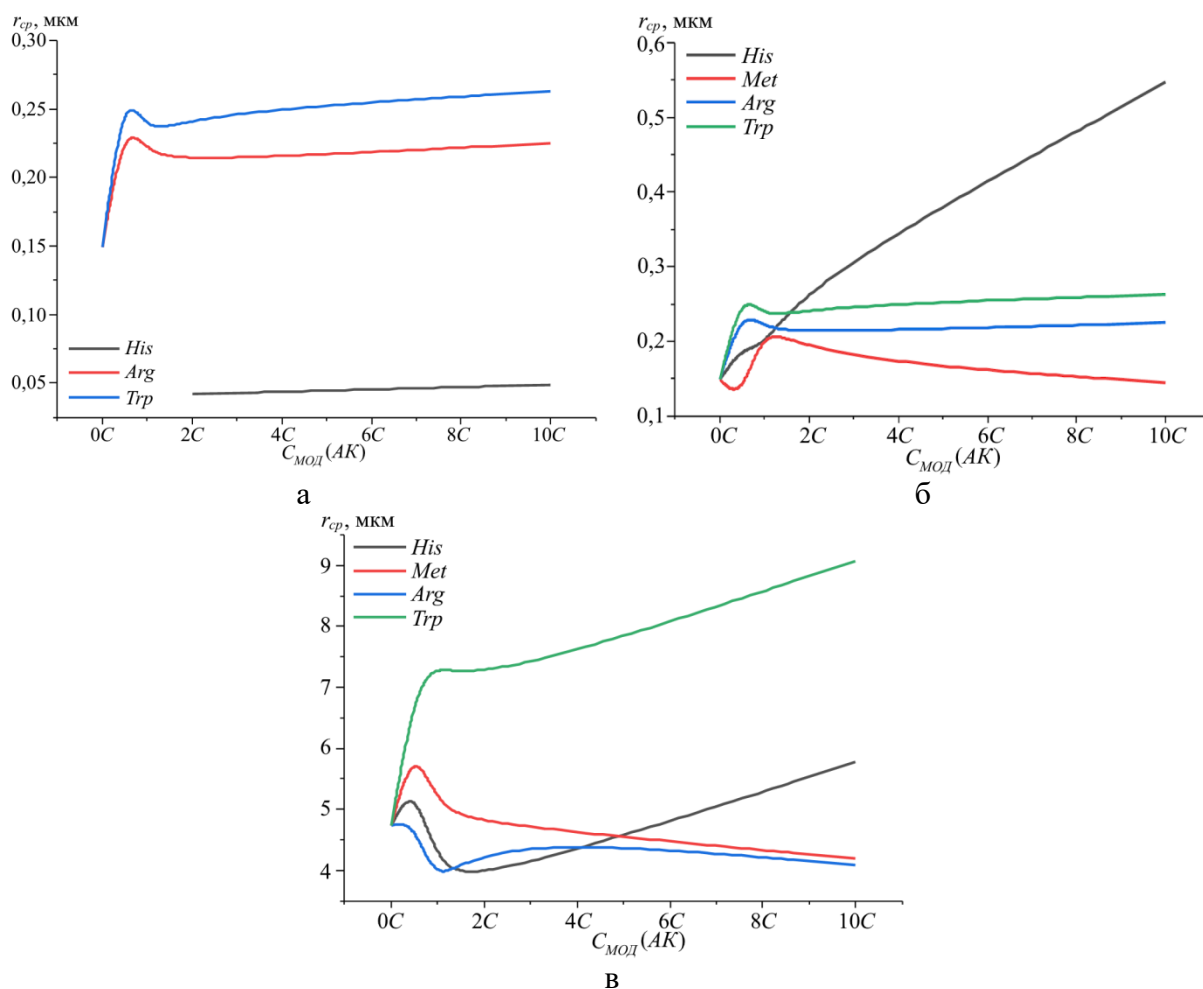


Рис. 2. Зависимость среднего радиуса r_{cp} микрочастиц от концентрации АК: а – I фракция, б – II фракция, в – III фракция.

В синтезе с *His* при увеличении концентрации аминокислоты в желчи

происходит рост размера частиц II и III фракций, понижение их содержания и увеличение доли I фракции (её появление в составе осадков наблюдается при увеличении $C_{\text{мод}}$ гистидина до $2C_{\text{мод}}$ и $10C_{\text{мод}}$).

В линейке образцов, полученных с *Met*, наблюдается появление I фракции только при концентрации метионина $1C_{\text{мод}}$. Размер частиц практически не изменяется (незначительно снижается после скачкообразного увеличения при $1C_{\text{мод}}$) при увеличении концентрации *Met* в желчи, однако содержание II и III фракций варьируется, при $1C_{\text{мод}}$ происходит скачкообразное изменение их содержаний.

Таблица 5. Радиусы микрочастиц r и доли фракций w полученных порошков.

АК	C(АК)	Номер фракции					
		I		II		III	
		r , мкм	w , %	r , мкм	w , %	r , мкм	w , %
Без АК	$0C_{\text{мод}}$	–	–	$0,14\pm 0,02$	$27,8\pm 5,6$	$4,6\pm 0,6$	$72,2\pm 7,9$
		–	–	$0,16\pm 0,02$	$29,8\pm 2,7$	$4,9\pm 0,3$	$70,2\pm 5,1$
		–	–	$0,15\pm 0,01$	$28,8\pm 2,8$	$4,7\pm 0,3$	$71,2\pm 3,8$
H(His)	$0,5C_{\text{мод}}$	–	–	$0,19\pm 0,01$	$47,1\pm 7,6$	$5,5\pm 0,5$	$52,9\pm 3,0$
	$1C_{\text{мод}}$	–	–	$0,19\pm 0,02$	$41,1\pm 5,9$	$4,1\pm 0,5$	$58,9\pm 7,3$
		–	–	$0,19\pm 0,01$	$39,8\pm 6,5$	$3,9\pm 0,4$	$60,2\pm 6,6$
		–	–	$0,19\pm 0,01$	$40,4\pm 3,7$	$4,0\pm 0,2$	$59,6\pm 4,4$
	$2C_{\text{мод}}$	$0,042\pm 0,006$	$8,8\pm 1,1$	$0,28\pm 0,04$	$49,6\pm 6,4$	$3,8\pm 0,7$	$41,6\pm 5,0$
$10C_{\text{мод}}$	$0,049\pm 0,002$	$23,4\pm 1,8$	$0,55\pm 0,05$	$36,9\pm 4,6$	$5,8\pm 0,3$	$39,7\pm 4,1$	
M(Met)	$0,5C_{\text{мод}}$	–	–	$0,12\pm 0,02$	$23,7\pm 2,8$	$6,1\pm 0,8$	$76,3\pm 4,3$
	$1C_{\text{мод}}$	$0,044\pm 0,011$	$12,9\pm 4,5$	$0,24\pm 0,03$	$47,0\pm 2,0$	$5,2\pm 0,8$	$40,1\pm 3,7$
		$0,043\pm 0,007$	$12,8\pm 1,7$	$0,23\pm 0,03$	$50,9\pm 1,2$	$4,8\pm 0,8$	$36,3\pm 1,6$
		$0,044\pm 0,005$	$12,9\pm 2,0$	$0,23\pm 0,02$	$48,9\pm 1,8$	$5,0\pm 0,5$	$38,2\pm 2,0$
	$2C_{\text{мод}}$	–	–	$0,18\pm 0,02$	$35,3\pm 3,8$	$4,8\pm 0,7$	$64,7\pm 4,9$
$10C_{\text{мод}}$	–	–	$0,15\pm 0,01$	$26,1\pm 2,4$	$4,2\pm 0,4$	$73,9\pm 1,8$	
R(Arg)	$0,5C_{\text{мод}}$	$0,055\pm 0,009$	$4,4\pm 0,9$	$0,24\pm 0,03$	$49,8\pm 4,5$	$4,8\pm 0,6$	$45,8\pm 2,9$
	$1C_{\text{мод}}$	$0,039\pm 0,003$	$2,4\pm 0,4$	$0,21\pm 0,01$	$59,7\pm 1,4$	$3,5\pm 0,3$	$37,9\pm 1,9$
		$0,031\pm 0,009$	$3,2\pm 0,8$	$0,22\pm 0,03$	$57,0\pm 3,0$	$3,7\pm 0,4$	$39,8\pm 2,1$
		$0,034\pm 0,006$	$2,3\pm 0,3$	$0,22\pm 0,01$	$58,4\pm 2,3$	$3,6\pm 0,2$	$38,8\pm 1,2$
	$2C_{\text{мод}}$	$0,035\pm 0,007$	$1,8\pm 0,4$	$0,21\pm 0,03$	$40,3\pm 4,1$	$4,6\pm 0,5$	$57,9\pm 2,4$
$10C_{\text{мод}}$	$0,039\pm 0,004$	$6,0\pm 1,5$	$0,23\pm 0,04$	$36,4\pm 4,5$	$4,1\pm 0,4$	$57,7\pm 3,5$	
W(Trp)	$0,5C_{\text{мод}}$	$0,036\pm 0,003$	$8,3\pm 1,1$	$0,27\pm 0,03$	$36,9\pm 3,4$	$7,0\pm 0,4$	$54,8\pm 2,8$
	$1C_{\text{мод}}$	$0,053\pm 0,006$	$2,3\pm 0,7$	$0,22\pm 0,01$	$43,3\pm 3,8$	$7,8\pm 1,3$	$54,4\pm 6,4$
		$0,045\pm 0,005$	$1,8\pm 0,4$	$0,24\pm 0,01$	$46,1\pm 5,2$	$7,0\pm 0,9$	$52,1\pm 3,4$
		$0,049\pm 0,004$	$2,1\pm 0,4$	$0,23\pm 0,01$	$44,7\pm 2,8$	$7,4\pm 0,7$	$53,2\pm 3,1$
	$2C_{\text{мод}}$	$0,042\pm 0,001$	$1,8\pm 0,6$	$0,25\pm 0,03$	$38,6\pm 4,5$	$7,1\pm 1,1$	$59,6\pm 4,9$
$10C_{\text{мод}}$	$0,042\pm 0,004$	$16,2\pm 1,7$	$0,26\pm 0,02$	$46,7\pm 1,7$	$9,1\pm 1,3$	$37,1\pm 2,6$	

Образцы, полученные в присутствии *Arg*, характеризуются полным набором всех трёх фракций (см. Таблицу 5). Радиусы частиц практически не изменяются при увеличении концентрации аминокислоты в желчи, однако средний размер I фракции достоверно отличается от размера

частиц, полученных в отсутствие аминокислот. Для II и III фракций наблюдается скачкообразное изменение их долей при $1C_{\text{мод}}$ аргинина с повышением доли II и снижением доли III фракций при дальнейшем введении АК.

Синтезированные с *Trp* осадки характеризуются I фракцией, достоверно большей по размерам, чем образцы без АК, при этом с ростом концентрации *Trp* размеры I и II фракций практически не изменяются, а размер III фракции возрастает. Доля I и II фракций снижается, а III – увеличивается при повышении концентрации *Trp* в желчи. Такой эффект снижения доли «крупных» частиц и повышения доли «малых» может иметь ингибирующее действие на рост и агрегацию образующихся желчных камней.

4. Заключение

В работе синтезировано 22 образца карбоната кальция в желчи при варьировании концентраций аминокислот *His*, *Met*, *Arg* и *Trp*. РФА установил: основа всех полученных порошков представлена ватеритом. Для аминокислот *Met* и *Arg* доказан их стабилизирующий эффект по отношению к метастабильному арагониту: с ростом их концентрации в желчи происходит увеличение массовой доли арагонита в составе твёрдой фазы. Это может иметь ингибирующий эффект на дальнейший рост и агрегацию желчных камней, так как арагонит отличается от ватерита своей морфологией, дзета-потенциалом и, как следствие, адгезией к холестерину. Результаты ИКФС коррелируют с данными РФА. Оптическая микроскопия показала присутствие сферолитов ватерита во всех полученных порошках. Методом ФКС установлено, что микрочастицы карбоната кальция радиусом менее 10 мкм представлены тремя фракциями. Наибольший интерес представляют синтезы с *His* и *Trp*, в которых с ростом концентраций аминокислот наблюдается увеличение доли мелкогабаритной фракции и снижение доли крупногабаритных. Радиусы частиц всех фракций при этом возрастают.

Таким образом, все исследованные аминокислоты имеют потенциальную возможность использования их в качестве медицинских препаратов для лечения и профилактики нанохолелитиаза. Необходимо исследование их влияния на состав и свойства карбоната кальция в области больших концентраций и при совместном присутствии.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 075-03-2023).

Библиографический список:

1. Голованова, О.А. Корреляционные зависимости между фазовым, элементным и аминокислотным

- составом физиогенных, патогенных ОМА и их синтетических аналогов / О.А. Голованова, С.А. Герк, А.Н. Куриганова, Р.Р. Измайлов // Системы. Методы. Технологии. – 2012. – № 4(16). – С. 131-139.
2. **Portincasa, P.** Management of gallstones and its related complications / P. Portincasa, A. Di Ciaula, O. de Bari et al. // Expert Review of Gastroenterology & Hepatology. – 2015. – V. 10. – I. 1. – P. 93-112. DOI: 10.1586/17474124.2016.1109445.
 3. **Shabanzadeh, D.M.** Determinants for gallstone formation – a new data cohort study and a systematic review with meta-analysis / D.M. Shabanzadeh, L.T. Sørensen, T. Jørgensen // Scandinavian Journal of Gastroenterology. – 2016. – V. 51. – I. 10. – P. 1239-1248. DOI: 10.1080/00365521.2016.1182583.
 4. **Lammert, F.** Gallstone disease: From genes to evidence-based therapy / F. Lammert, J.-F. Miquel // Journal of Hepatology. – 2008. – V. 48. – Suppl. 1. – P. S124-S135. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.012.
 5. **Di Ciaula, A.** An update on the pathogenesis of cholesterol gallstone disease/ A. Di Ciaula, D.Q.-H. Wang, P. Portincasa // Current Opinion in Gastroenterology. – 2018. – V. 34. – I. 2. – P. 71-80. DOI: 10.1097/mog.0000000000000423.
 6. **Свиштунов, А.А.** Желчнокаменная болезнь как клинический маркер метаболического синдрома / А.А. Свиштунов, М.А. Осадчук, Н.В. Киреева, А.М. Осадчук // Ожирение и обмен веществ.– 2018. – Т. 15. – №. 3. – С. 3-8. DOI: 10.14341/omet9553.
 7. **Acalovschi, M.** Are plasma lipid levels related to ABCG5/ABCG8 polymorphisms?: A preliminary study in siblings with gallstones / M. Acalovschi, A. Ciocan, O. Mostean et al. // European Journal of Internal Medicine. – 2006. – V. 17. – I. 7. – P. 490-494. DOI: 10.1016/j.ejim.2006.04.012.
 8. **Wittenburg, H.** FXR and ABCG5/ABCG8 as determinants of cholesterol gallstone formation from quantitative trait locus mapping in mice / H. Wittenburg, M.A. Lyons, R. Li et al. // Gastroenterology. – 2003. – V. 125. – I. 3. – P. 868-881. DOI: 10.1016/s0016-5085(03)01053-9.
 9. **Holcomb, M.** Compositional and morphological features of aragonite precipitated experimentally from seawater and biogenically by corals / M. Holcomb, A.L. Cohen, R.I. Gabitov, J.L. Hutter // Geochimica et Cosmochimica Acta. – 2009. – V. 73. – I. 14. – P. 4166-4179. DOI: 10.1016/j.gca.2009.04.015.
 10. **Tai C.Y.** Particle morphology, habit, and size control of CaCO₃ using reverse microemulsion technique/ C.Y. Tai, C.-K. Chen // Chemical Engineering Science. – 2008. – V. 63. – I. 14. – P. 3632-3642. DOI: 10.1016/j.ces.2008.04.022.
 11. **Ouhenia, S.** Synthesis of calcium carbonate polymorphs in the presence of polyacrylic acid / S. Ouhenia, D. Chateigner, M.A. Belkhir et al. // Journal of Crystal Growth. – 2008. – V. 310. – I. 11. – P. 2832-2841. DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2008.02.006.
 12. **Скибицкая, Н.А.** Наноразмерные надмолекулярные структуры биогенного карбонатного пороодообразующего вещества органогенных месторождений углеводов / Н.А. Скибицкая, О.П. Яковлева, В.А. Кузьмин // Георесурсы, геоэнергетика, геополитика. – 2010. – № 1 (1). – 17 с.
 13. **Declat, A.** Calcium carbonate precipitation: a review of the carbonate crystallization process and applications in bioinspired / A. Declat, E. Reyes, O.M. Suárez // Reviews on Advanced Materials Science. – 2016. – V. 44. – № 1. – P. 87-107.
 14. **Shabanzadeh, D.M.** Metabolic biomarkers and gallstone disease - a population-based study / D.M. Shabanzadeh, T. Skaaby, L.T. Sørensen et al. // Scandinavian Journal of Gastroenterology. – 2017. – V. 52. – I. 11. – P. 1270-1277. DOI: 10.1080/00365521.2017.1365166.
 15. **Golovanova, O.A.** Synthesis of calcium carbonate in the presence of bile, albumen, and amino acids / O.A. Golovanova, S.S. Leonchuk // Russian Journal of Inorganic Chemistry. – 2020. – V.65. – I. 4. – P. 472-479. DOI: 10.1134/S0036023620040063.
 16. **Шеин, Е.А.** Устройство и принцип работы рентгеновского дифрактометра общего назначения. Фазовый анализ: методические указания к лабораторной работе / Е.А. Шеин. – Оренбург: ОГУ, 2013. – 26 с.
 17. Crystallographica – a software toolkit for crystallography // Journal of Applied Crystallography. – 1997. – V. 30. – P. 418-419. DOI: 10.1107/S0021889897003026. – Режим доступа: <https://connect.oxcryo.com/software/cglegacy/>. – 15.06.2023.
 18. **Gražulis, S.** Crystallography open database – an open-access collection of crystal structures / S. Gražulis, D. Chateigner, R.T. Downs et al. // Journal of Applied Crystallography. – 2009. – V. 42. – P. 726-729. DOI: 10.1107/S0021889809016690.
 19. **Марахова, А.** Определение размеров наночастиц в коллоидных растворах методом динамического рассеяния света / А. Марахова, В. Жилкина, Е. Бlynская и др. // Наноиндустрия. – 2016. – №1(63). – С. 88-93. DOI:10.22184/1993-8578.2016.63.1.88.93.
 20. Дисперсный состав жидких сред. Определение размеров частиц по динамическому рассеянию света: ГОСТ Р 8.774-2011. – Введ. 01.01.2013. – М.: Стандартинформ, 2019. – 8 с.
 21. IBM SPSS Statistics. – Режим доступа: www.url: https://www.ibm.com/ru-ru/products/spss-statistics.

– 15.06.2023.

22. Голованова, О.А. Кристаллогенез в организме человека / О.А. Голованова. – Омск: Изд-во Омского государственного университета, 2022. – 349 с.

23. Golovanova, O.A. Thermodynamics and kinetics of calcium oxalate crystallization in the presence of amino acids / O.A. Golovanova, V.V. Korol'kov // *Crystallography reports*. – 2017. – V. 62. – I. 5 – P. 787-796. DOI: 10.1134/S1063774517050078.

References:

1. Golovanova O.A., Gerk S.A., Kuriganova A.N., Izmajlov R.R. Korrelyatsionnye zavisimosti mezhdru fazovym, elementnym i aminokislotnym sostavom fiziogenykh, patogenykh OMA i ikh sinteticheskikh analogov [Correlations between the phase, elemental and amino acid composition of physiogenic, pathogenic OMA and their synthetic analogues], *Sistemy. Metody. Tekhnologii [Systems. Methods. Technology]*, 2012, no. 4 (16), pp. 131-139. (In Russian).
2. Portincasa P., Di Ciaula A., de Bari O. et al. Management of gallstones and its related complications, *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 2015, vol. 10, issue 1, pp. 93-112. DOI: 10.1586/17474124.2016.1109445.
3. Shabanzadeh D.M., Sørensen L.T., Jørgensen T. Determinants for gallstone formation – a new data cohort study and a systematic review with meta-analysis, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2016, vol. 51, issue 10, pp. 1239-1248. DOI: 10.1080/00365521.2016.1182583.
4. Lammert F., Miquel J.-F. Gallstone disease: From genes to evidence-based therapy, *Journal of Hepatology*, 2008, vol. 48, suppl. 1, pp. S124-S135. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.012.
5. Di Ciaula A., Wang D.Q.-H., Portincasa P. An update on the pathogenesis of cholesterol gallstone disease/ A. Di Ciaula, D.Q.-H. Wang, P. Portincasa, *Current Opinion in Gastroenterology*, 2018, vol. 34, issue 2, pp. 71-80. DOI: 10.1097/mog.0000000000000423.
6. Svistunov A.A., Osadchuk M.A., Kireeva N.V., Osadchuk A.M. Zhelchnokamennaya bolezn' kak klinicheskij marker metabolicheskogo sindroma [Gallstone disease as a clinical marker of metabolic syndrome], *Ozhirenie i obmen veshchestv [Obesity and metabolism]*, 2018, vol. 15, no. 3, pp. 3-8. DOI: 10.14341/omet9553. (In Russian).
7. Acalovschi M., Ciocan A., Mostean O. et al. Are plasma lipid levels related to ABCG5/ABCG8 polymorphisms?: A preliminary study in siblings with gallstones, *European Journal of Internal Medicine*, 2006, vol. 17, issue 7, pp. 490-494. DOI: 10.1016/j.ejim.2006.04.012.
8. Wittenburg H., Lyons M.A., Li R. et al. FXR and ABCG5/ABCG8 as determinants of cholesterol gallstone formation from quantitative trait locus mapping in mice, *Gastroenterology*, 2003, vol. 125, issue 3, pp. 868-881. DOI: 10.1016/s0016-5085(03)01053-9.
9. Holcomb M., Cohen A.L., Gabitov R.I., Hutter J.L. Compositional and morphological features of aragonite precipitated experimentally from seawater and biogenically by corals, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, vol. 73, issue 14, pp. 4166-4179. DOI: 10.1016/j.gca.2009.04.015.
10. Tai C.Y., Chen C.-K. Particle morphology, habit, and size control of CaCO₃ using reverse microemulsion technique, *Chemical Engineering Science*, 2008, vol. 63, issue 14, pp. 3632-3642. DOI: 10.1016/j.ces.2008.04.022.
11. Ouhenia S., Chateigner D., Belkhir M.A. et al. Synthesis of calcium carbonate polymorphs in the presence of polyacrylic acid, *Journal of Crystal Growth*, 2008, vol. 310, issue 11, pp. 2832-2841. DOI: 10.1016/j.jcrysgro.2008.02.006.
12. Skibitskaya N.A., Yakovleva O.P., Kuz'min V.A. Nanorazmernye nadmolekulyarnye struktury biogenogo karbonatnogo porodoobrazuyushchego veshchestva organogenykh mestorozhdenij uglevodorodov [Nanosized supramolecular structures of biogenic carbonate rock-forming substance of organogenic hydrocarbon deposits], *Georesursy, geoenergetika, geopolitika [Georesources, geoenergy, geopolitics]*, 2010. no. 1 (1), 17 p. (In Russian).
13. Declat A., Reyes E., Suárez O.M. Calcium carbonate precipitation: a review of the carbonate crystallization process and applications in bioinspired, *Reviews on Advanced Materials Science*, 2016, vol. 44, no. 1, pp. 87-107.
14. Shabanzadeh D.M., Skaaby T., Sørensen L.T. et al. Metabolic biomarkers and gallstone disease - a population-based study, *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 2017, vol. 52, issue 11, pp. 1270-1277. DOI: 10.1080/00365521.2017.1365166.
15. Golovanova O.A., Leonchuk S.S. Synthesis of calcium carbonate in the presence of bile, albumen, and amino acids, *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, 2020, vol. 65, issue 4, pp. 472-479. DOI: 10.1134/S0036023620040063.

16. Shein E.A. *Ustrojstvo i printsip raboty rentgenovskogo diffraktometra obshchego naznacheniya. Fazovyy analiz: metodicheskie ukazaniya k laboratornoj rabote* [The device and principle of operation of a general-purpose X-ray diffractometer. Phase analysis: guidelines for laboratory work]. Orenburg, OSU Publ., 2013, 26 p. (In Russian).
17. Crystallographica – a software toolkit for crystallography, *Journal of Applied Crystallography*, 1997, vol. 30, pp. 418-419. DOI: 10.1107/S0021889897003026. Available at: www.url:https://connect.oxcryo.com/software/cglegacy/ (accessed 15.06.2023).
18. Gražulis S., Chateigner D., Downs R.T. et al. Crystallography open database – an open-access collection of crystal structures, *Journal of Applied Crystallography*, 2009, vol. 42, pp. 726-729. DOI: 10.1107/S0021889809016690.
19. Marakhova A., Zhilkina V., Blynskaya E. et al. Opredelenie razmerov nanochastits v kolloidnykh rastvorakh metodom dinamicheskogo rasseyaniya sveta [Determination of nanoparticle size in colloidal solutions by dynamic light scattering], *Nanoindustriya [Nanoindustry]*, 2016, no. 1 (63), pp. 88-93. (In Russian).
20. GOST R 8.774-2011. Dispersnyj sostav zhidkikh sred. Opredelenie razmerov chastic po dinamicheskomu rasseyaniyu sveta [Russian State Standard 8.774-2011 Disperse composition of liquid media. Determination of particle size by dynamic light scattering]. Moscow: Standartinform Publ., 2019, 8 p. (In Russian).
21. IBM SPSS Statistics. Available at: www.url:https://www.ibm.com/ru-ru/products/spss-statistics (accessed 15.06.2023).
22. Golovanova O.A. *Kristallogenez v organizme cheloveka* [Crystallogenes in the human body]. Omsk, Omsk State University F.M. Dostoevsky Publ., 2022, 349 p. (In Russian).
23. Golovanova O.A., Korol'kov V.V. Thermodynamics and kinetics of calcium oxalate crystallization in the presence of amino acids, *Crystallography Reports*, 2017, vol. 62, issue 5, pp. 787-796. DOI: 10.1134/S1063774517050078.

Original paper

SYNTHESIS OF NANOCRYSTAL CALCIUM CARBONATE FROM BILE IN THE PRESENCE OF AMINO ACIDS

O.A. Golovanova, I.A. Tomashevsky
Dostoevsky Omsk State University, Russia

DOI: 10.26456/pcascnn/2023.15.962

Abstract: In this paper, we studied the effect of amino acids in the composition of bile, the formation of various modifications of calcium carbonate (aragonite, vaterite, calcite). In this work, 22 samples of calcium carbonate in bile were synthesized by varying the concentrations of amino acids (histidine, methionine, arginine and tryptophan). For the amino acids methionine and arginine, their stabilizing effect with respect to metastable aragonite has been proven: with an increase in their concentration in bile, an increase in the mass fraction of aragonite in the composition of the solid phase occurs. Optical microscopy showed the presence of vaterite spherulites in all obtained powders. The results of photon correlation spectroscopy correlate with the data of X-ray phase analysis. It is shown that calcium carbonate microparticles with a radius of less than 10 μm are represented by three fractions. It has been shown that syntheses involving histidine and tryptophan, in which, with increasing amino acid concentrations, an increase in the proportion of the small-sized fraction and a decrease in the proportion of the large-sized ones are observed. Thus, all studied amino acids have the potential to be used as medicines for the treatment and prevention of nanocholelithiasis.

Keywords: *gallstones, crystallization, calcium carbonates, amino acids, additives, vaterite, radius, morphology.*

Голованова Ольга Александровна – д.г.-м.н., профессор, заведующая кафедрой неорганической химии ФГАОУ ВО «Омский государственный университет имени Ф.М. Достоевского»

Томашевский Иван Александрович – к.х.н., младший научный сотрудник кафедры неорганической химии ФГАОУ ВО «Омский государственный университет им. Ф.М. Достоевского»

Olga A. Golovanova – Dr. Sc., Professor, Head of the Department of Inorganic Chemistry, Dostoevsky Omsk State University

Ivan A. Tomashevsky – Ph.D., Researcher, Inorganic Chemistry Department, Dostoevsky Omsk State University

Поступила в редакцию/received: 23.07.2023; после рецензирования/reviced: 30.08.2023; принята/accepted: 05.09.2023.