



НАНОРАЗМЕРНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ АНСАМБЛИ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Л.Раткин / rathkeen@bk.ru

На заседании Президиума Российской академии наук (РАН) под председательством Президента РАН академика Ю.Осипова рассматривалось образование наноразмерных молекулярных ансамблей (наноассоциатов) в высокоразбавленных водных растворах.

Сообщение академика РАН А.Коновалова (Институт органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского научного центра РАН) было посвящено образованию наноразмерных молекулярных ансамблей в высокоразбавленных водных растворах. Он начал доклад с упоминания публикаций, в которых анализировалась бимодальная зависимость концентрация-биоэффект [1, 2] и активность лекарственных веществ (ЛВ) в сверхнизких дозах [3, 4]. Было отмечено, в частности, что эти эффекты могут отличаться от наблюдаемых при терапевтических дозах ЛВ. Большинство ученых считает, что ряд биообъектов способен реагировать на отдельные молекулы вещества в растворе при ультранизких концентрациях. Эти явления допускались, но системно ранее не исследовались. Между тем, как удалось доказать, в растворах при разных концентрациях растворенного вещества возникают различные состояния, на которые биообъекты реагируют.

Коллективом А.Коновалова было предпринято комплексное исследование водных растворов веществ различной природы в широком интервале концентраций. С использованием различных физико-химических методов исследовано 60 соединений в интервале концентраций от 10^{-2} до 10^{-20} моль/л. Отмечено, что концепция бесконечно разбавленных растворов (КБРР) не является универсальной. Эмпирически установлены два типа соединений:

- с неклассическим поведением – при их разведении изменение свойств растворов в 75% случаев не соответствует КБРР (45 соединений);
- с классическим поведением – при разведении только в 25% случаев изменение свойств растворов соответствует КБРР (15 соединений).

NANOSIZED MOLECULAR ENSEMBLES IN WATER SOLUTIONS

L.Ratkin / rathkeen@bk.ru

The Presidium of the Russian Academy of Sciences (RAS), chaired by Academician Yu. Osipov, President of RAS, discussed at its session formation of nano-sized molecular ensembles (nano-associates) in highly-diluted water solutions.

Report of Academician A.Konovalov of the Russian Academy of Sciences (Institute of Organic and Physical Chemistry named after A.E.Arbutov of Kazan Research Centre of RAS) was devoted to formation of nano-sized molecular ensembles in highly-diluted water solutions. In the beginning of his report he mentioned publications which analyzed a bimodal dependence "concentration-bioeffect" [1,2] and activity of medicinal substances (MS) in ultralow doses [3, 4]. It was noted, in particular, that these effects can differ from the ones observed with therapeutic MS doses.

Most scientists believe that some bioobjects capable to react to separate molecules of a substance in a solution in ultralow concentrations. The fact of existence of such phenomena was previously admitted, but they were not investigated. Meanwhile, as it was proved, in solutions with various concentrations of the dissolved substance different states appear, to which the bioobjects react.

A.Konovalov's group undertook a complex research of the water solutions of substances of various nature in a wide range of concentrations. With the use of varied physical and chemical methods 60 compounds were investigated within the range of concentrations from 10^{-2} up to 10^{-20} mole/l. It is pointed out, that the concept of infinitely diluted solutions (KBRR) was not universal. Two types of compounds were empirically established:

- With a non-classical behavior – during their dilution in 75 % of cases the changes of properties of solutions do not correspond to KBRR (45 compounds);
- With classical behavior – during their dilution only in 25 % of cases the change of properties



Например, неклассическое поведение было обнаружено у калиевой соли фенозана и натурального антиоксиданта - α -токоферола.

При дополнительных исследованиях установлено, что в высокоразбавленных водных растворах с неклассическим поведением формируются наноассоциаты - наноразмерные молекулярные ансамбли. По мнению докладчика, причиной такого поведения растворов является именно образование наноассоциатов: если их нет, в соответствии с КБРР, наблюдается классическое поведение. Также изучались соотношения между физико-химическими свойствами растворов и параметрами наноассоциатов. В частности, их образование не зафиксировано в контрольных экспериментах с воспроизведением последовательного разведения с понижением концентрации раствора.

Эмпирически установлено, что для образования наноассоциатов необходимы электромагнитные поля. Для этого раствор каждой концентрации делился на две части (выдержка перед измерением - 18 ч): в пермалловом контейнере (гипоэлектромагнитные условия), на лабораторном столе (обычные условия).

Переход из неклассического в классическое поведение наблюдался в пермалловом контейнере, поскольку в нем наноассоциаты не образовывались. Взаимосвязь отсутствие электромагнитных полей - отсутствие наноассоциатов - отсутствие неклассического поведения проверена при изучении концентрационной зависимости микровязкости липидной компоненты синапсом головного мозга мышей, фиксируемой при помощи стабильного свободного радикала 16-доксилстеариновой кислоты, у которой нитроксильный фрагмент локализован на глубине 22-26 Å под действием синтетического антиоксиданта - фенозана калия.

Формирование наноассоциатов позволяет уточнить поведение высокоразбавленных водных растворов. Согласно экспертным оценкам, для образования наноассоциатов молекул растворенного вещества при высокой степени разбавления недостаточно.

В авторский коллектив А.Коновалова входят сотрудники Института органической и физической химии им. А.Е.Арбузова Казанского научного центра РАН, Казанского федерального университета, Физико-технического института им. Е.К.Завойского, Института биохимической физики им. Н.М.Эммануэля РАН, Института органической и физической химии им. А.Е.Арбузова РАН, Института новых антибиотиков РАН, Академии тонкой химической



Ю.Осипов
Yu. Osipov



А.Коновалов
A.Konovalov

of the solutions correspond to KBRR (15 compounds).

For example, a non-classical behavior was discovered with potassium salts of phenozan and natural antioxidant - α -tocopherol.

In additional research works it was established, that in highly-diluted water solutions with non-classical behavior nanoassociates were formed - nano-sized molecular ensembles. According to the reporter, the reason behind such a behavior of solutions is formation of nanoassociates: if they are not present, a classical behavior is observed in accordance with KBRR. The studies also covered the correlations between the physical and chemical properties of solutions and parameters of nanoassociates. In particular, their formation was not registered in the control experiments with reproduction of a consecutive dilution with a falling concentration of a solution.

It was empirically established, that formation of nanoassociates requires electromagnetic fields. For this purpose a solution of each concentration was divided into two parts (period of storage before measurement - 18 hours): one - in a permalloy container (hypoelectromagnetic conditions), and another - in a laboratory table (regular conditions).

Transition from a non-classical into a classical behavior was observed in the permalloy container, because nanoassociates were not formed in it. The interrelation "absence of electro-magnetic fields" - "absence of nanoassociates" - "absence of a non-classical behavior" was verified in studying of the concentration dependence of microviscosity of a lipide component by a brain synaptosome of mice, fixed by means of a stable free radical of 16-doxilstearine acid, the nitroaxil fragment of which was localized on the depth of 22-26 Å under the influence of a synthetic antioxidant - phenozan of potassium.



А.Хохлов
A.Khokhlov



С.Алдошин
S.Aldoshin

технологии им. М.В.Ломоносова, МГУ имени М.В.Ломоносова, Казанского государственного технологического университета. Исследования проводились по Программам Президиума РАН "Фундаментальные науки - медицине" и "Происхождение жизни и эволюция геобиологических систем" (подпрограмма 1), программе Отделения химии и наук о материалах РАН "Химия и физикохимия супрамолекулярных систем", по грантам РФФИ.

В состоявшейся дискуссии приняли участие академики РАН А.Хохлов, В.Чарушин, М.Угрюмов, А.Цивадзе, Э.Галимов, вице-президент РАН академик С.Алдошин. Выступавшими отмечены объективность схемы приготовления растворов, формируемых методами последовательных серийных разведений, и применение свежеперегнанного бидистиллата с электропроводностью не выше 2,5 мкСм/см, проверенного на отсутствие наноразмерных образований. Подчеркивалось, что растворы интенсивно перемешивались, и измерения проводились только спустя 18-24 ч после их приготовления, причем эксперименты осуществлялись в стеклянной и полипропиленовой посуде при 25°C, а образцы растворов обеспыливались.

При исследованиях на биомембранах обнаружено влияние биологически активных веществ в сверхмалых дозах. Наблюдалось:

- изменение качества и количества термоиндуцированных структурных переходов в различных липидных частях мембран;
- смена активности мембраносвязанных ферментов;
- изменение структуры липидных областей, находящихся на разном расстоянии от поверхности мембран;
- модификация процессов пероксидного окисления липидов.

Formation of nanoassociates allows to specify the behavior of highly-diluted water solutions. According to expert estimations, for their formation the molecules of the dissolved substance at a high degree of dilution are not enough.

A.Konovalov's group of authors incorporates employees of the Institute of Organic and Physical Chemistry named after A.E.Arbuzov, Kazan Research Centre of RAS, Kazan Federal University, Physical-Technical Institute named after E.K.Zavojsky, Institute of Biochemical Physics named after N.M.Emmanuel of RAS, Institute of Organic and Physical Chemistry named after A.E.Arbuzov of RAS, Institute of New Antibiotics of the Russian Academy of Medical Sciences, Academy of Fine Chemical Technology named after M.V.Lomonosov, Moscow State University named after M.V.Lomonosov, and Kazan State Technological University. Research works were done within the framework of the Programs of the Presidium of RAS "Fundamental sciences for medicine" and "Origin of life and evolution of the geobiological systems" (subprogram 1), Program of the Department of Chemistry and Materials Sciences of RAS "Chemistry and physical chemistry of supramolecular systems", under RFFI grants.

Academics of RAS A.Khokhlov, V.Charushin, M.Ugryumov, A.Tsivadze and E.Galimov, and Vice-president of RAS Academician S.Aldoshin took part in the discussion of the problem. The reporters noted a scheme for preparation of the solutions formed by the objective methods of consecutive serial dilutions, and application of a freshly-distilled bidistillate with electroconductivity not exceeding 2.5 $\mu\text{Cm}/\text{Cm}$, and checked for absence of the nano-sized formations. It was underlined, that the solutions were mixed up vigorously, and measurements were done only 18-24 hours after their preparation, at that the experiments were carried out in glass and polypropylene vessels at 25°C, and the samples of the solutions were dedusted.

During biomembrane research influence of biologically active substances in minute doses was revealed. The following facts were observed:

- Change of the quality and quantity of the thermoinduced structural transitions in various lipide parts of the membranes;
- Activity change of the membrane-bound enzymes;
- Structure change of the lipide areas situated at different distances from the surface of the membranes;
- Modification of the processes of peroxide oxidations of the lipides.



Выступающие отметили, что для исследования воздействия на биологические мембраны были выбраны: форболовые эфиры и модификаторы фосфатидилинозитного цикла регуляции; взаимодействующий через рецептор с аденилатциклазной системой регуляции тиреотропин-релизинг гормон; природный и синтетический фенозан калия.

При анализе влияния синтетического и природного антиоксидантов на микровязкость плазматических и микросомальных мембран *in vitro* установлено, что максимумы на зависимостях совпадают с действующими концентрациями препаратов в экспериментах *in vivo* [5]. Исследованы также:

- влияние тиролиберина на разные области липидного бислоя плазматических и микросомальных мембранных клеток мозга и печени мышей *in vitro*;
- изменение формы липосом под действием фенозана калия;
- зависимость влияния фенозана калия на диаметр липосом и степень упорядоченности поверхностных областей;
- структура плазматических мембран, диаметр наночастиц и удельная электропроводность водно-спиртовых растворов природного α -токоферола;
- структура плазматических мембран и удельная электропроводность водных растворов фенозана калия.

Установлено, в частности, что существует статистически достоверная взаимосвязь между действием фенозана калия на структуру мембраны и электропроводностью его водных растворов. Были также проанализированы результаты комбинированной химиотерапии опухоленосителей с лейкемией P-388 адриамицином и природным антиоксидантом α -токоферолом. Показано, что введение адриамицина увеличивает среднее время жизни опухоленосителей на 44%, причем выживает 5% животных, при комбинированном воздействии с α -токоферолом или его ацетатом эти показатели возрастают до 80 и 30%, соответственно. Дозовая зависимость определяемых величин носит бимодальный характер.

В ходе дискуссии была также упомянута удостоенная диплома Международного салона инноваций и изобретений (Женева) разработка РАН – оптоэлектронный прибор для автоматической регистрации оседания кровяных телец с разрешением прибора по времени от 5 с и в пространстве от 10 мкм, что позволяет снимать показания одновременно с 11 образцов. Были представлены результаты изучения влияния концентраций аминогликозидов

For research of the influence on biological membranes the following substances were selected: phorbol aethers and modifiers of the phosphatidylinosit regulation cycle; interacting through a receptor with an adenylate cyclase regulation system of tireotropin-rilizing hormone; natural and synthetic potassium phenozan.

As a result of analysis of the influence of synthetic and natural antioxidants on microviscosity of the plasmatic and microsomal membranes *in vitro* it was established, that the maxima on dependences coincide with the acting concentrations of the preparations in experiments *in vivo* [5]. Also investigated were:

- Influence of thyrotropin-releasing hormone on different areas of lipide bilayer of plasmatic and microsomal membrane cells of brains and livers of mice *in vitro*;
- Change of the form of liposomes under action of potassium phenozan;
- Dependence of the influence of potassium phenozan on diameter of liposomes and degree of orderliness of the superficial areas;
- Structure of plasmatic membranes, diameter of nanoparticles and specific electroconductivity of aqueous-alcoholic solutions of natural α -tocopherol;
- Structure of plasmatic membranes and specific electroconductivity of water solutions of potassium phenozan.

It is established, in particular, that there was statistically proved interrelation between the action of potassium phenozan on the structure of a membrane and electroconductivity of its water solutions. Also results were analyzed of a combined chemotherapy of tumor-carriers with leukaemia P-388 by adriamicine and natural antioxidant α -tocopherol. It is demonstrated, that introduction of adriamicine prolongs average life time of tumor-carriers by 44 %, and 5 % of animals survive, and in case of a combined influence with α -tocopherol or its acetate these indicators increase up to 80% and 30%, accordingly. The doze dependence of the defined values has a bimodal character.

During discussion also mentioned was the technology developed by RAS and awarded the diploma of the International Salon of Innovations and Inventions (Geneva) – an optoelectronic device for an automatic registration of subsidence of red corpuscles with time resolution from 5 seconds and in space from 10 microns, which allows to take readings simultaneously from 11 samples. Results were presented of studying of the influence of concentrations of aminoglycosides (kanamycin,



(канамицин, неомецин, стрептомицин) на биосенсорный ответ клеток крови и концентрационная зависимость для метилглиоксала и L-лизина.

Биологическое действие разработанного в ветеринарного лекарственного средства (ЛС) "Эльвита-Удивит" и промышленно выпускаемого для иммуномодуляции и усиления неспецифической резистивности животных и птиц благодаря его составу: 5%-ный раствор D-глюкозы, метилглиоксаль (10^{-12} М/л) и L-лизин (10^{-11} М/л). Препарат позволяет эффективно лечить бурситы, артриты, маститы и вирусные лейкозы крупного рогатого скота, опухлевые заболевания у собак и кошек, бронхопневмонии у грызунов и собак, а также другие респираторные и вирусные заболевания у различных животных. Принцип действия ЛС основан на блокировке побочных путей окисления глюкозы, возникающих при вирусных поражениях при создании избытка конечных продуктов гликирования метилглиоксала и лизина в наиболее активных концентрациях.

При обсуждении сообщения участниками мероприятия подчеркивалось:

- открыто ранее неизвестное фундаментальное явление;
- свойства высокоразбавленных водных растворов определяются формированием наноассоциатов, для чего необходима определенная структура растворенного вещества;
- проявление биоэффектов в таких растворах биологически активных веществ является результатом образования наноразмерных молекулярных ансамблей и влияния электромагнитных полей.

На заседании Президиума РАН обсуждался ряд других важных вопросов, в частности, создание в научных учреждениях академии подразделений по связям с общественностью. С докладами по данному вопросу выступили академик РАН А.Торкунов и д.ю.н. С.Шахрай.

Фото: Л.Раткин

ЛИТЕРАТУРА:

1. Mal'tseva E.L. et al. – Biological membranes, 1998, v.15, №2, p.191–198.
2. Palmina N.P. et al. – Biochemistry, 1994, v.59, №2, p.193–200.
3. Hormesis: A Revolution in Biology, Toxicology and Medicine. – New York, Springer Verlag, 2009.
4. Шимановский Н.А., Епинетов М.А., Мельников М.Я. Молекулярная и нанофармакология. – М.: ФИЗМАТЛИТ, 2010.
5. Palmina N.P., Chasovskaya T.E. Chemistry and Physics of Lipids, 2009.

neomycin, streptomycin) on the biosensor response of the blood cells and concentration dependence for methylglyoxal and L-lysine.

The biological action of Elvita-Udivit, veterinary medical product (MP) developed and commercially produced for immune-response modulation and strengthening of non-specific resistance of animals and birds, is based on its composition: 5 % solution of D-glucose, methylglyoxal (10^{-12} M/l) and L-lysine (10^{-11} M/l). The preparation allows us to treat effectively bursitis, arthritis, mastitis and virus leucosis of large horned livestock, tumoral diseases of dogs and cats, bronchopneumonia of rodents and dogs, and also other respiratory and virus diseases of various animals. The operating principle of MP is based on blocking of the collateral paths of oxidation of glucose, arising in virus affections in case of excessive quantity of the end-products of glycation of methylglyoxal and lysine in the most active concentrations.

During the discussion of the report the participants of the event underlined that:

- A previously unknown fundamental phenomenon was discovered;
- The properties of highly-diluted water solutions were determined by formation of nanoassociates for which a certain structure of a dissolved substance was necessary;
- Display of bioeffects in such solutions of biologically active substances was a result of formation of nano-sized molecular ensembles and influence of electromagnetic fields.

The Presidium of RAS also discussed at the session a number of other important questions, in particular, establishment of subdivisions for public relations in the scientific institutions of the Academy. Reports on the given subject were presented by Academician of RAS A.Torkunov and S.Shahraj, D.Sc.

Photo: L.Ratkin

LITERATURE:

1. Mal'tseva E.L. et al. Biological membranes, 1998, v.15, №2, p.191–198.
2. Palmina N.P. et al. Biochemistry, 1994, v.59, №2, p.193–200.
3. Hormesis: A Revolution in Biology, Toxicology and Medicine. – New York, Springer Verlag, 2009.
4. Shimanovsky N.A., Epinetov M.A., Melnikov M.Ya. Molecular and Nanopharmacology. – M: FIZMATLIT, 2010.
5. Palmina N.P., Chasovskaya T.E. Chemistry and Physics of Lipids, 2009.

