

# НАНОАССОЦИАТЫ — ТЕРРИТОРИЯ НЕПОЗНАННОГО

---

Академик Александр КОНОВАЛОВ,  
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова  
Казанского научного центра РАН

---

**Российскими учеными показано, что биологические эффекты, проявляемые высокоразбавленными водными растворами, обусловлены образованием наноразмерных молекулярных ансамблей (наноассоциатов) под влиянием двух эффекторов: растворенного вещества и внешнего электромагнитного поля. Открытие этого явления ставит сложные задачи перед физиками, биологами, химиками и требует дальнейших исследований.**

«Факты, не объяснимые существующими теориями, наиболее дороги для науки, от их разработки следует по преимуществу ожидать ее развития в ближайшем будущем». Мысль, высказанная выдающимся химиком-органиком, действительным членом Петербургской АН Александром Бутлеровым в 1879 г., справедлива и в начале XXI в. Увы, не все ученые следуют этому положению. Уверенность в том, что наши сегодняшние знания всеобъемлющи и достаточны для понимания наблюдаемых явлений природы, приводит к тому, что скорее отрицаются сами факты, чем осуществляется поиск вызывающих их причин. А причины могут крыться в неведомых ранее явлениях. Именно к таким относится обнаруженное нами в ходе исследования, о котором и пойдет речь в данной статье.

Что же послужило его предпосылкой? Сегодня известны тысячи(!) примеров работ, проведенных в различных лабораториях мира и относящихся ко всем уровням биологической организации материи (биомакромолекулы → клетки → органы → организмы → популяции), в которых показано: водные растворы биологически активных веществ (БАВ) способны проявлять биоэффекты (речь идет о каком-то фиксируемом отклике биологической системы) при различных концентрациях таких веществ. От «обычных» уровней разбавлений —  $10^{-3}$ – $10^{-7}$  М (полученные при этом результаты возражений у специалистов не вызывают) до области высоких —  $10^{-12}$ – $10^{-20}$  М (здесь тут возникают вопросы и сомнения). Между указанными уровнями — «мертвая зона», где биоэффекты отсутствуют (здесь следует отметить, что растворы

**Тензиометр Sigma 720 ET (KSV Instruments) — прибор для определения поверхностного натяжения.**

для соответствующих наблюдений готовят методом последовательных разбавлений — поэтому и применяется термин «высокоразбавленные растворы», приводимые же значения концентраций — расчетные). В России такие работы ведутся на протяжении последних 30 лет в лаборатории доктора биологических наук Елены Бурлаковой (Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН)\*.

Почему же возникают вопросы и сомнения относительно эффектов в области высоких разбавлений? Для этого есть основания. Согласно существующим воззрениям таких эффектов не должно быть. Они как бы «вне закона». Действительно, соотношение между числами молекул растворенного вещества и воды уже при концентрации  $10^{-8}$  М равно один к миллиарду, а при концентрации  $10^{-18}$  М — один к миллиарду миллиардов! При этих условиях о каком биоэффекте может идти речь?! Такие растворы должны обладать свойствами растворителя, в данном случае — воды. На этом построена концепция бесконечно разбавленных растворов: при разбавлении, т.е. уменьшении концентрации присутствующего вещества, их свойства стремятся (и достаточно быстро) к свойствам растворителя. Поэтому большинство исследователей ответственность за такие эффекты в двойной системе «раствор — биообъект» возлагают на последний. Считается, что он каким-то образом (но каким — неизвестно, все на уровне предположений) реагирует на очень низкие концентрации или отдельные молекулы БАВ.

Ну, а если предположить, что ответственность за явление все же несут растворы? Может быть, в них возникают различные состояния, различные молекулярные ансамбли при различных концентрациях (степени разбавления) растворенного вещества, и биообъекты реагируют именно на эти состояния? Иначе как объяснить существование «мертвой зоны»?

Может быть, истинная причина того, что явление не находило объяснения, крылась в недостаточности уровня наших знаний? Результаты работ, проведенных в Институте органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН автором данной статьи совместно с доктором химических наук Ириной Рыжкиной и кандидатами химических наук Ляйсан Муртазиной и Юлией Киселевой, показали: это действительно так. Впервые было предпринято достаточно масштабное, систематичное, комплексное исследование водных растворов веществ разной химической природы в широком интервале концентраций набором различных физико-химических методов.

\*См. В. Пчелякова. Добро и зло сверхмалых доз. — Наука в России, 1995, № 1 (прим. ред.).

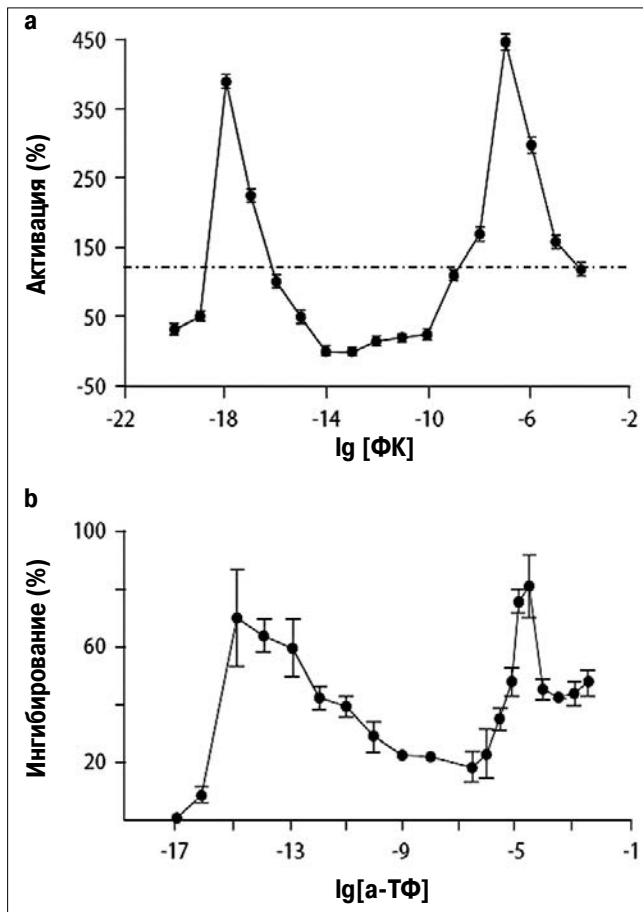


В итоге к настоящему времени изучено около 100 соединений в растворах с концентрациями от  $10^{-2}$  до  $10^{-20}$  М (начальная концентрация получена «по навеске», т.е. по взвешенному образцу анализируемого вещества, все последующие — путем последовательного разбавления растворов). В нашем списке — антиоксиданты, регуляторы роста растений, нейромедиаторы, витамины, транквилизаторы, гормоны, различные лекарства, а также вещества, биологические свойства которых неизвестны. С химической точки зрения в упомянутом перечне представлены соединения различного строения: от простых молекул (например, глицин — простейшая аминокислота) до сложных макроциклических соединений типа порфиринов\* или каликсаренов\*\*.

Каковы используемые нами методы и приборная база? Все общепринятое. Правда, техника — новейшая. Никаких сверхмалых данных. Все — далеко за пределами ошибок эксперимента, при соблюдении воспроизводимости результатов. Необычен лишь объект изучения: водные растворы со сверхнизкими концентрациями вещества. Исследовали, как прави-

\*Порфирины — природные макрогетероциклические пигменты; к ним относят гемоглобины, хлорофиллы, цитохромы и др. (прим. ред.).

\*\*Каликсарены — макроциклические соединения на основе фенолов, считающиеся с позиций супрамолекулярной химии веществами с почти неограниченными возможностями (прим. авт.).



**Зависимость степени активации протеинкиназы С от концентрации фенозана (калиевая соль), добавленной к гладкомышечным клеткам аорты крыс, растущим в культуре (а); изменение ингибирования активности протеинкиназы С в зависимости от концентрации  $\alpha$ -токоферола (б).**

экранирующем его содержимое от действия внешних электромагнитных полей. В частности, индукция геомагнитного поля снижалась более чем в тысячу раз, что является хорошим показателем экранирования.

Каковы же результаты изучения физико-химических свойств растворов? Анализ совокупности полученных данных привел нас к выводу, что концепция бесконечно-разбавленных растворов не универсальна. Растворы одних веществ ей соответствуют, других — нет. Поведение первых (порядка 25% из числа изученных соединений) было названо авторами «классическим», вторых (75%) — «неклассическим».

«Классическое» поведение — это достаточно быстрое достижение свойств растворителя при последовательном разбавлении растворов и никакого дальнейшего изменения их свойств. Было показано, что как поверхностное натяжение, так и удельная электропроводность при концентрациях  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  М достигали значений воды и при дальнейших разбавлениях не изменялись (поверхностное натяжение и удельная электропроводность бидистиллированной воды, применявшейся в экспериментах, составляли соответственно 71–72 мН/м и 1,5–2,0 мкСм/см). Эти показатели характерны для растворов приблизительно 25% изученных соединений. А для оставшихся 75%?

Здесь выявилась неожиданность. Оказывается, свойства растворов изменяются при разбавлении, причем нелинейно. Так, к примеру, для растворов фенозана калия (антиоксидант, синтезированный в Институте химической физики им. Н.Н. Семенова РАН) было показано, что в данном случае поверхностное натяжение при некоторых разбавлениях (концентрациях ниже  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  М) неожиданно снижается на 10–20 мН/м. Удельная электропроводность вдруг достигает 40 мкСм/см и претерпевает дальнейшие изменения. Причем все это за пределами ошибок эксперимента. Сопоставление изменений биоэффектов и физико-химических свойств растворов с разбавлением привело к выводу, что между ними имеется соответствие, т.е. и те, и другие являются результатом «неклассического поведения». У них общие причины. Какие?

Ответ получили с помощью метода динамического светорассеяния. И вывод такой: в высокоразбавленных водных растворах соединений с «неклассическим поведением» образуются наноразмерные молекулярные ансамбли, названные нами наноассоциатами. Их размеры, достигающие в ряде случаев 400 нм, изменяются с разбавлением нелинейно и немонотонно, скорее скачкообразно, в итоге получается картина,

ло, удельную электропроводность( $\chi$ ), поверхностное натяжение( $\sigma$ ), pH, в отдельных случаях — диэлектрическую проницаемость, оптическую активность. Все это — свойства растворов. Существенно применение метода динамического светорассеяния (DLS — Dynamic Light Scattering), позволяющего определять размеры нанообъектов, присутствующих в растворах. Без него результаты всех остальных методов повисли бы в воздухе. Следует отметить, что применяемый в работе прибор Zetasizer Nano ZS фирмы Malvern Instruments (Великобритания) для измерения так называемого среднего гидродинамического диаметра нанообъекта (D) дает также возможность определять дзета-потенциал (он характеризует взаимодействие движущегося нанообъекта со средой). Таким образом, в нашем распоряжении были, с одной стороны, параметры растворов, с другой — параметры нанообъектов.

И еще. Опыты проводились как в «обычных» (на лабораторном столе), так и в «гипоэлектромагнитных» условиях. В последних случаях растворы после их приготовления в соответствии с разработанной процедурой выдерживали перед измерением 24 ч, но не на лабораторном столе, а в трехслойном пермаллоевом (на основе сплава железа и никеля) контейнере,

**Концентрационная зависимость  
поверхностного натяжения (1)  
и удельной электропроводности (2)  
разбавленных растворов  
фенозана калия, 25°C.**

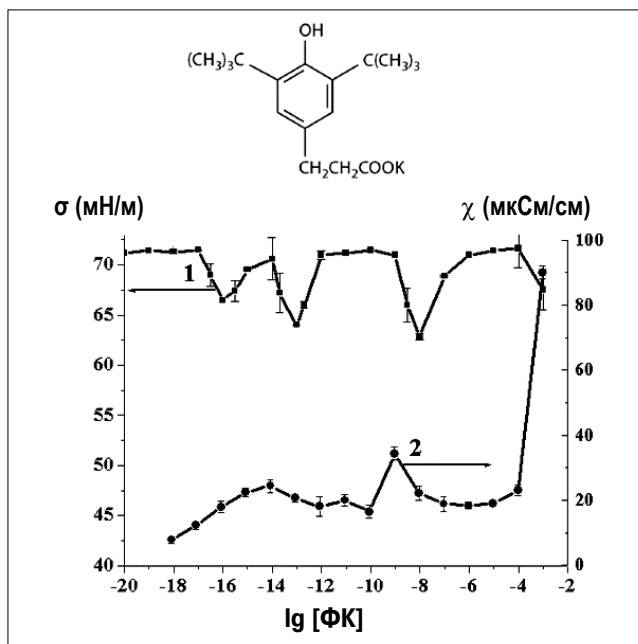
напоминающая зазубренную пилу. Примером здесь вновь могут служить растворы фенозана калия, для которых, как будет показано ниже, такие изменения имеют свое определенное значение. Были определены и дзета-потенциалы — они тоже изменяются нелинейно. Отметим, что в области высоких разбавлений их значения отрицательны.

Сопоставление параметров наноассоциатов, т.е. их размеров и значений дзета-потенциалов, и свойств растворов при изменении степени разбавления показывает: между всеми величинами есть соответствие. Это указывает на закономерный, а не случайный характер такой динамики при определяющей роли параметров наноассоциатов. Значит, именно наноассоциаты «диктуют поведение» разбавленных растворов.

В разбавленных растворах соединений с «классическим» поведением наноассоциаты не образуются. Следовательно, нет наноассоциатов — «классическое» поведение, есть — «неклассическое».

Судя по всему, для образования наноассоциатов необходима определенная структура растворенного вещества. Какая? Сегодня это не установлено. Однако существенно то, что такое вещество требуется обязательно. В «холостых» экспериментах (т.е. без растворенного вещества), в которых была воспроизведена система последовательных разбавлений (воду разбавляли водой), образование наноассоциатов не зафиксировано. Раз нет растворенного вещества — нет и эффекта. Следовательно, оно — эффектор образования наноассоциатов, но, как выяснилось, — только один из них.

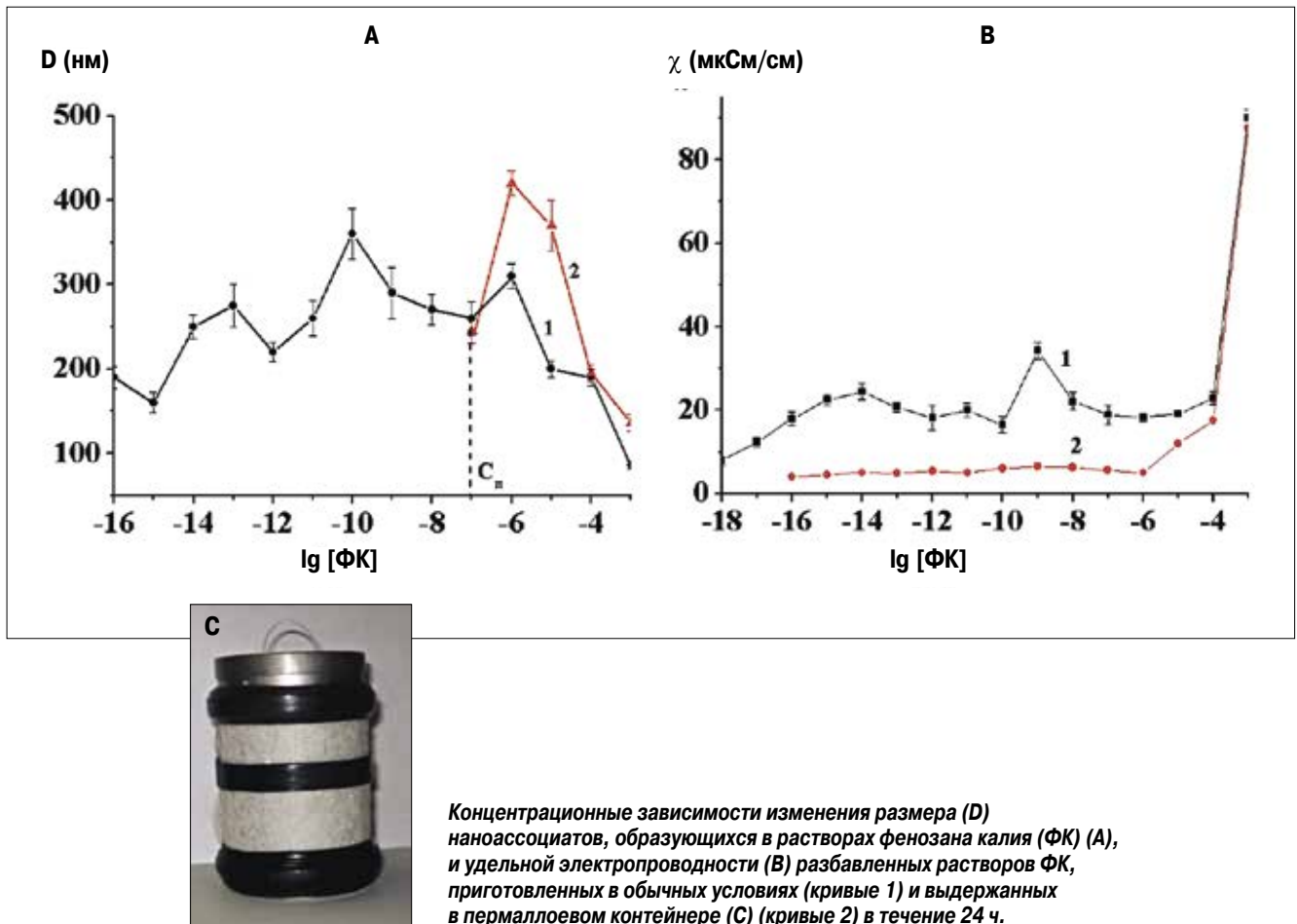
Другим эффектором образования оказались внешние электромагнитные поля. Это было установлено с помощью пермаллового контейнера, в котором, как уже сказано, внутренняя полость экранирована от внешних электромагнитных полей. Эксперименты проводили следующим образом. Приготовленный раствор делили на две части (и так при каждой концентрации). Один образец оставляли, как обычно, на лабораторном столе. Другой помещали в контейнер. Результаты оказались разные. Если на столе данные по размерам наноассоциатов для растворов фенозана калия, например, получены вплоть до  $10^{-16}$  М, то в пермалловом боксе только до  $10^{-7}$  М. Никаких наноассоциатов в пермалловом контейнере в области высокоразбавленных растворов нет! Значит, для их образования требовалось внешнее электромагнитное поле. И потому очень интересно сопоставление этих данных с показателями физико-химических свойств



растворов. Так, в растворах фенозана калия, выдержанных в пермалловом боксе, произошли принципиальные изменения удельной электропроводности. Начиная с  $10^{-6}$  М она соответствует электропроводности воды и только воды. Это подтверждает, с одной стороны, чуть выше сделанный вывод: никаких наноассоциатов в пермалловом боксе в области высокоразбавленных растворов нет. С другой стороны, безусловно указывает на то, что полученные результаты не являются следствием какой-то методической ошибки. Это закономерность. Мы использовали разные методы, дающие информацию о предметах исследования: параметрах нанообъектов, находящихся в растворе, и физико-химических свойствах растворов. Сходимость результатов говорит о связи изучаемых явлений. Вот почему в определенном «доказательном» смысле — это один из ключевых экспериментов.

Можно сказать: в растворах, выдержанных в пермалловом контейнере, наблюдается трансформация «неклассического» поведения в «классическое», так как при отсутствии электромагнитного поля наноассоциаты не образуются. Таким образом, нет электромагнитных полей — нет наноассоциатов — нет «неклассического» поведения.

В целом рассмотрение всей совокупности данных по сопоставлению результатов «лабораторный стол» и «пермалловый контейнер» для веществ с «неклассическим» поведением приводит к заключению, что во всех случаях существует некая пограничная концентрация, несколько отличающаяся для различных соединений, но находящаяся в интервале  $10^{-5}$ — $10^{-8}$  М. За ней следует область, где в серии «пермалло-



евый контейнер» nanoассоциаты не образуются. Но ведь это как раз та область, где в обычных условиях проявляются «сомнительные» биоэффекты! И у нас возникло предположение: если в условиях экранирования от внешних электромагнитных полей отсутствуют nanoассоциаты, то, наверное, не должно быть и таких биоэффектов.

Сотрудники Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН доктора биологических наук Елена Мальцева, Надежда Пальмина и кандидат химических наук Валерий Каспаров проверили это предположение. Они исследовали изменение вязкости липидной компоненты соответствующих мембран под влиянием растворов фенозана калия в условиях «лабораторный стол» и «пермалловый контейнер», а затем сопоставили полученные результаты. Оказалось, что в первом случае эффекты проявляются при трех концентрациях:  $10^{-6}$ ,  $10^{-12}$ ,  $10^{-15}$  М, во втором же эффект сохранился в области  $10^{-6}$  М, а два других исчезли.

Сравнение этих результатов с данными экспериментов по определению размеров nanoобъектов в растворах фенозана калия в «обычных» и гипoeлек-

тромагнитных условиях позволяет отметить интересные обстоятельства. Биоэффекту при  $10^{-6}$  М на шкале размеров отвечает максимум. Как биоэффект, так и соответствующие ему nanoобъекты в условиях «пермалловый контейнер» сохраняются. Биоэффектам при  $10^{-12}$ ,  $10^{-15}$  М на шкале размеров отвечают минимумы. И те и другие в условиях «пермалловый контейнер» исчезают. Отсюда первый вывод: природа эффектов при  $10^{-6}$  М, с одной стороны, и при  $10^{-12}$ ,  $10^{-15}$  М с другой — различна.

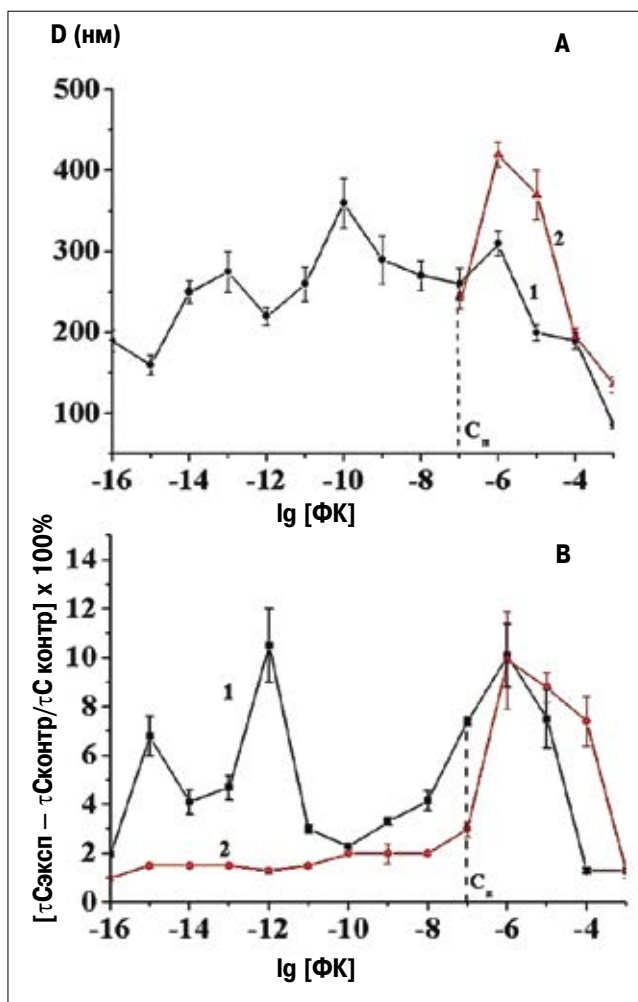
Второй вывод, ради которого и был осуществлен указанный эксперимент: в отсутствие электромагнитного поля в высокоразбавленных водных растворах nanoассоциаты не образуются, и, как следствие, отсутствуют биоэффекты. Это — еще один ключевой «доказательный» эксперимент. Отсюда и вывод: нет электромагнитного поля — нет nanoассоциатов — нет биоэффектов.

Интересный и «доказательный» опыт был проведен с участием кандидата технических наук Дмитрия Коновалова (Казанский физико-технический институт им. Е.К. Завойского РАН) на примере раствора бромида цетилтриметиламмония (БЦТА). В обычных усло-



Кандидат химических наук Ляйсан Муртазина (за компьютером), кандидат химических наук Юлия Киселева и доктор химических наук Ирина Рыжкина.

Концентрационные зависимости изменения размера ( $D$ ) наноассоциатов, образующихся в растворах ФК (А), и микровязкости липидного бислоя синапсом (В) при воздействии разбавленных растворов ФК, приготовленных в обычных условиях (кривые 1) и выдержанных в пермалловом контейнере (кривые 2) в течение 24 ч.



виях в растворе при концентрации БЦТА  $10^{-9}$  М образуются наноассоциаты размером порядка 240 нм. В отсутствие электромагнитного поля это не происходит. Однако если внутри контейнера генерировать поле 7 Hz, то в растворе возникают наноассоциаты приблизительно того же размера, что и в обычных условиях.

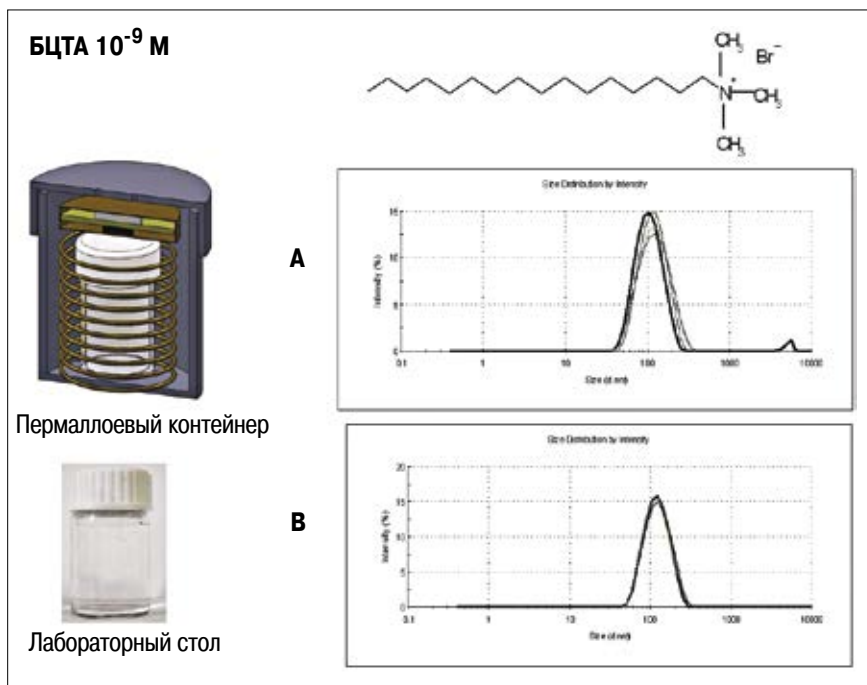
Итак, образование наноассоциатов — ключ к пониманию поведения высокоразбавленных водных растворов. Причем проявление биоэффектов в высокоразбавленных водных растворах БАВ в обычных условиях — закономерно: это результат образования наноразмерных молекулярных ансамблей под влиянием разбавленного вещества и электромагнитных полей.

Возникает вопрос: можно ли на основе полученных результатов предсказать вероятность проявления биоэффектов в высокоразбавленных водных растворах БАВ в обычных условиях? Очевидно, кое-какие уже можно, опираясь на предварительное физико-химическое изучение таких растворов. Если они ведут себя «классически», то биоэффектов не будет. Если же «неклассически», можно наметить области, где

эффекты ожидаемы. И такие предсказания были сделаны для более чем десяти случаев.

А что нам известно о наноассоциатах? Каков их состав? Оценки показывают: количества молекул растворенного вещества при рассматриваемых концентрациях недостаточно, чтобы образовались наноассоциаты наблюдаемых размеров. Необходимо учитывать, что чувствительность упоминавшегося прибора Zetasizer Nano ZS при определении размеров нанообъектов в растворе требует их наличия в количестве не менее тысячи в миллилитре. Следовательно, основную часть наноассоциатов в высокоразбавленных растворах составляют молекулы воды. При этом надо иметь в виду, что нанообъекту размером в 100 нм соответствуют около 7 млн молекул воды.

Какова природа наноассоциатов? Этого мы пока не знаем точно, хотя предположения существуют. Каковы силы, способные удерживать вместе миллионы молекул? Ведь учитывая кубическую зависимость числа молекул воды в наноассоциате от его диаметра, соотношение будет приблизительно таково: 100 нм



Распределение частиц по размерам в разбавленном растворе БЦТА, выдержанном на лабораторном столе (A) и в пермалловом контейнере (B), содержащем генератор электромагнитного поля.

Концентрационные зависимости изменения размера (D) наноассоциатов, образующихся в растворах БЦТА, приготовленных в обычных условиях (кривые 1) и выдержанных в пермалловом контейнере (кривые 2) в течение 24 ч.

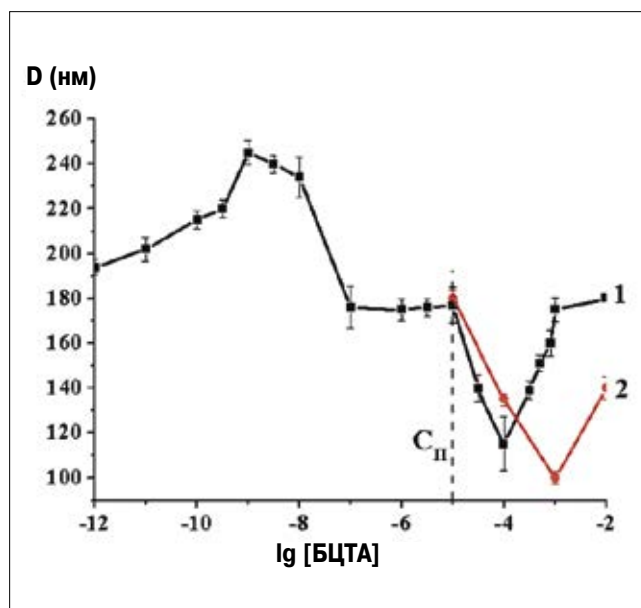
~ 7 млн, 200 нм ~ 50 млн, 300 нм ~ 200 млн, 400 нм ~ 500 млн молекул воды.

В конце концов, каково состояние материи, которое реализуется под влиянием растворенных веществ и электромагнитных полей, по крайней мере в высоко-разбавленных водных растворах? Вопросы, вопросы...

Таким образом, нами открыто неизвестное ранее фундаментальное явление: образование в высоко-разбавленных водных растворах под влиянием растворенного вещества и внешних электромагнитных полей наноразмерных молекулярных ансамблей — наноассоциатов. Именно их образование определяет всю совокупность свойств (и физико-химических, и биологических) этих растворов. Но естественно возникают новые проблемы. С учетом уже сказанного вот некоторые из них. Что и почему происходит с наноассоциатами при последовательном разведении растворов? Каков механизм влияния высоко-разбавленных растворов на биообъекты? Что именно влияет: непосредственно наноассоциаты или раствор, ими структурированный? Существуют ли наноассоциаты в биообъектах? Если да, то какова их роль и механизм действия? Какова взаимосвязь между структурой молекул и образованием наноассоциатов?

Представляется, что полученные результаты — только пролог исследований. Впереди — поле деятельности и для физиков, и для биофизиков, и для биологов, и, конечно, для химиков.

В заключение мысль, высказанная более полувека назад американским биохимиком, одним из основоположников биоэнергетики Альбертом Сент-Дьердьи (нобелевский лауреат 1937 г.): «По-видимо-



му, в нашем теперешнем складе мышления отсутствует что-то очень важное, целое измерение, без которого нельзя найти подход к этим проблемам (проблемам жизни). Вода не только mater (прародительница), но и matrix (матрица) жизни, и биология, возможно, не преуспела до сих пор в понимании наиболее очевидных функций из-за того, что она сосредоточила внимание на веществе в виде частиц, отделяя их от двух матриц — воды и электромагнитного поля».

Иллюстрации предоставлены автором